

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE MOHAMED BOUDIAF - M'SILA

FACULTE DES SCIENCES

DEPARTEMENT DE MICROBIOLOGIE & BIOCHIMIE



DOMAINE : SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE

FILIERE : SCIENCES BIOLOGIQUES

OPTION : BIOCHIMIE APPLIQUÉE

N°:

Mémoire présenté pour l'obtention

Du diplôme de Master Académique

Par : Guemra Lina Loudjeyne

Khezzari Khaoula et Benzemmouri Kheira

Intitulé

**Étude de l'activité antioxydante et
antibactérienne de propolis récoltée à la région
de Bordj-Bou-Arreridj**

Soutenu devant le jury composé de :

Dr. Samia Bouaziz

Université Mohamed Boudiaf M'sila

Présidente

Dr. Abderrahim Benslama

Université Mohamed Boudiaf M'sila

Rapporteur

Dr. Seifeddine Drif

Université Mohamed Boudiaf M'sila

Examineur

Année Universitaire : 2022/2023

Remerciement

Après avoir rendu grâce à dieu de tout puissant et le miséricordieux, nous tenons à remercier vivement tous ceux qui de près ou de loin ont participé à la rédaction de ce document.

Nous tenons à remercier mon encadrant Ben slama Abderrahim pour tout le temps qu'il a consacré et pour les précieuses informations qu'elles m'ont prodiguées avec intérêt et compréhension.

Nous adressons aussi à nos vifs remerciements aux membres de jury pour avoir bien voulu, examiner et juger ce travail. Nos remerciements vont à tout le personnel que nous avons contacté durant notre parcours scolaire au sein de l'université. Nous ne laisserons pas cette occasion passer, sans remercier tous les enseignants et le personnel administratif et particulièrement ceux du Département Microbiologie & Biochimie pour leur aide et leurs précieux conseils et pour l'intérêt qu'ils portent à ma formation.

À tous nos camarades de promotions pour la solidarité et la collaboration durant ces années de formation.

Enfin, nos remerciements à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin au bon déroulement de ce projet.

Merci à tous

Dédicace

Avec l'expression de ma reconnaissance, je dédie ce modeste travail à ceux qui quels que soient les termes embrassés, je n'arriverais jamais à leur exprimer mon amour sincère.

*À l'homme, mon précieux offre du dieu, qui doit ma vie, ma réussite et tout mon respect : Mon chère père **Abdelouahab Guemra**.*

*À la femme, qui a souffert sans me laisse souffrir, qui n'a jamais dit non à mes exigences et qui n'a épargné aucun effort pour me rendre heureuse : mon adorable mère **Luisa Bounab**.*

*À mes sœurs (**Yousra et Sidra**) & mes frères (**Amine et Youssef**), à mes oncles chacun avec son nom. Qui n'ont pas cessé de me conseiller, encourager et soutenir tout au long de mes études. que dieu les protèges et leurs offre la chance et le bonheur. Que dieu leur donne une longue et joyeuse vie.*

*À la mémoire de mes grands-parents **Boumab Mohamed-Bounab Ouargou Et Guemra Abdelkader « El Hadj »**.*

Lina Loudjeyne

Guemra

Dédicace

Avec l'expression de ma reconnaissance , Après avoir rendu grâce à dieu de tout puissant qui est le miséricordieux , de m'avoir donné le courage, la force, la santé et la persistance et de m'avoir permis de finaliser ce travail dans des meilleures conditions. J'ai le plaisir de dédier ce modeste travail ;

À mes chers parents LHMOURI et Mama FATMA

À mes grands-parents, que Dieu leur fasse miséricorde

À ma chère sœur Hanan

À mes frères Youcef, Mahfoud et Ahmed YESPIN

À toute ma famille

À tout ma amis et collègues

Pour quelqu'un qui aime la science

kheira

Bengemmouri

Dédicace

Je dédie ce modeste travail à mes plus chers êtres au monde

*Tout d'abord et spécialement à ma chère mère **Zekhrafa** pour son chaleureux*

encouragement, sa tendresse, sa douceur, sa disponibilité et ses sacrifices

durant toute ma vie.

*À mon chère père **Saad**, pour son soutien son aide et sa compréhension.*

*À ma tendre, gentille et adorable sœur **Sabiha**.*

*À mes chers frères **Idriss, Abd Errachid et Abd Errazzek**, ma fierté
dans cette vie.*

*À mes chères amies **Amna, Amina, Donia, Zahra**, je les remercie
pour le sourire qu'elles ont su toujours dessiner sur mon visage.*

*À mes trinômes **Lina, Kheira** je me remercie pour le courage qu'elle m'a donné
et tous les moments qu'on a passé ensemble.*

*À tous les techniciennes du labo pour leur aide et leur patience À tous ceux qui
ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail .*

Khaoula

Sommaire

ملخص.....	i
Abstract.....	ii
Résumé	iii
Liste des abréviations	iv
Liste des figures.....	v
Liste des tableaux	vi
Introduction.....	1
I. Chapitre I. Généralité sur la propolis	2
I.1. Définition	2
I.2. La composition de la propolis	2
I.3. L'aspects de l'utilisation traditionnelle de la propolis	4
I.4. Les propriétés thérapeutiques de la propolis	5
II. Chapitre II. Le stress oxydatif	7
II.1. Définition	7
II.2. Origine du stress oxydatif	7
II.3. Les radicaux libres	8
II.3.1. Définition	8
II.3.2. Espèces réactives liées au stress oxydatifs.....	8
II.4. Système de défense antioxydants.....	10
II.4.1. Défenses enzymatiques	10
II.4.2. Défenses non enzymatiques	10
III. Chapitre III. Les polyphénols	12
III. 1. Généralité.....	12
III.2. Classification des polyphénols	12
III.3. Activité antioxydante des polyphénols	14
III.4. Activité antibactérienne des polyphénols	15

IV. Chapitre IV. Les infections bactériennes.....	16
IV.1. Généralité	16
IV.2. Classification des bactéries.....	16
IV.2.1.Les bactéries de gram négative.....	17
IV.2.2. Les bactéries de gram positives	17
IV.3. La résistance bactérienne aux antibiotiques	18
V. Matériels & Méthodes	20
Matériel végétal	20
Matériels & produits	20
Matériels biologiques.....	20
V.1. Dosage des polyphénols totaux.....	20
V.2. Dosage des flavonoïdes totaux	21
V.3. Étude de l'activité antioxydante	21
V.4. Étude de l'activité antibactérienne.....	22
Résultats & Discussion	23
VI.1. Dosage des polyphénols totaux	23
VI.2. Dosage des flavonoïdes totaux	23
VI.3. Activité antioxydante de la propolis.....	26
VI.4. Évaluation de l'activité antibactérienne	28
Conclusion & Perspective.....	35
Références bibliographiques.....	36

ملخص

البروبوليس " العكبر " مادة صمغية ينتجها النحل، والتي تتكون من مجموعة واسعة من المواد الطبيعية، تشمل دورها في الطب الشعبي الذي له دور في مكافحة الأمراض المختلفة. الغرض من هذا العمل هو دراسة النشاط المضاد للأوكسدة و نشاط مضاد البكتيريا للبروبوليس الجزائري الموجود بمنطقة برج بوعرييج. بحيث تم التقدير الكمي لكل من متعدد الفينول و لفلافونويدات باستخدام طريقة folin-ciocalteu و ثلاثي كلوريد الألومنيوم على التوالي. النتائج المتحصل عليها أظهرت أن عينة هذا النوع من البروبوليس بغناها بمتعدد الفينول والفلافونويدات بقيم تراوحت ما بين 0.06 ± 168.96 ملغرام مكافئ حمض الغاليك / غرام مستخلص و 0.26 ± 62.89 ملغرام مكافئ كيرسيتين / غرام مستخلص على التوالي. وايضا تم تقييم النشاط المضاد للأوكسدة بالاعتماد على اختبار DPPH للقذف الجذري باستخدام تركيز 2 ملغ/مل من البروبوليس، بحيث قدر $EC_{50} = (1.59 \pm 24.22)$ ملغ/مل. من جهة أخرى، أبدى اختبار النشاط المضاد للبكتيريا على خمس سلالات بكتيرية غرام + و غرام - باستعمال طريقتي انتشار الاقراص و الحفر تأثيرا مثبطا على كل من *Staphylococcus aureus*, *E. cloacae* , حيث كانت CMI التراكيز الدنيا المثبطة هي 50 ملغ /مل. في الختام، يعتمد نشاط البروبوليس بشكل كبير على العوامل الموسمية والإقليمية. لذلك لا ينبغي إهماله أو بالأحرى مكوناته الفينولية الرئيسية لذا يجب تقييمه في التجارب السريرية لتوضيح تطبيقاته المحتملة بشكل أفضل في مختلف مجالات الطب.

الكلمات المفتاحية : البروبوليس، النشاط المضاد للأوكسدة، النشاط المضاد للبكتيريا، البوليفينولات،

الفلافونويدات.

Abstract

Propolis is a resinous substance harvested by bees, which has recently attracted attention as an integrative medicine due to its diverse therapeutic and/or medicinal properties. In order to estimate their therapeutic properties for which, including antioxidant and antibacterial activity of the Algerian species located in the Bordj-Bou-Arreridj region. Through quantitative and qualitative analysis of their polyphenol and flavonoid content by the folin-ciocalteu and aluminum trichloride methods respectively. The results are $(168.96 \pm 0.06 \text{ mg EAG /gE})$ and $(62.89 \pm 0.26 \text{ mg EQ/g E})$ respectively. The antioxidant activity of propolis is indicated by its ability to neutralize the DPPH radical species, which can be estimated by $(\text{EC}_{50} = 24.22 \pm 1.59 \text{ mg/ml})$, while that of the BHT positive control is $\text{EC}_{50}(178.38 \pm 0.01) \text{ mg/ml}$. Next, the evaluation of antibacterial activity was carried out on five ATCC strains (gram+ ,gram-); which can be estimated using the solid-state diffusion method using wells and discs, propolis showed a significant inhibitory effect on some bacterial strains. The minimum inhibitory concentration (MIC) for *Staphylococcus aureus*, *E. cloacae* was 50mg/ml as important. As conclusion, the activity of propolis is highly dependent on seasonal and regional factors. Propolis and its main phenolic ingredients should not be neglected and should be evaluated in clinical trials to better elucidate their potential application in various fields of medicine.

Key words : Propolis, Antioxidant activity, Antibacterial activity, Polyphenols, flavonoids.

Résumé

La propolis est une substance résineuse récoltée par les abeilles, qui a récemment attiré l'attention en tant que médecine intégrative en raison de ses diverses propriétés thérapeutiques et/ou médicinales. Afin d'estimer leurs propriétés thérapeutiques pour laquelle, y compris l'activité antioxydante et antibactérienne de l'espèce Algérienne située à la région de Bordj-Bou-Argeridj. Grâce aux analyses quantitatives et qualitatives de leur teneur en polyphénols et en flavonoïdes par la méthode de folin-ciocalteu et de chlorure d'aluminium respectivement. Les résultats sont (168.96 ± 0.06 mg EAG /gE) et (62.89 ± 0.26 mg EQ/g E) respectivement. Ainsi que, l'évaluation de l'activité antioxydante de propolis sera indiquée par la capacité de neutraliser l'espèce radicalaire DPPH; qui peut être estimée par ; ($EC_{50} = 24.22 \pm 1.59$) mg/ml, alors que celle du contrôle positif BHT est $EC_{50}(178.38 \pm 0.01)$ mg/ml. Ensuite, l'évaluation de l'activité antibactérienne a été réalisée sur cinq souches ATCC (gram⁺, gram⁻) ; qui peut être estimée grâce à la méthode de diffusion sur milieu solide en utilisant les puits et les disques, la propolis a manifesté un effet inhibiteur important sur quelques souches bactériennes. Les concentrations minimales inhibitrices (CMI) pour *Staphylococcus aureus*, *E. cloacae* qui sont de 50 mg/ml. En conclusion, l'activité de la propolis dépend fortement de facteurs saisonniers et régionaux, La propolis et ses principaux ingrédients phénoliques ne doivent pas être négligés et doivent être évalués dans le cadre d'essais cliniques afin de mieux élucider leur application potentielle dans divers domaines de la médecine.

Mots Clés : Propolis, Activité Antioxydante, Activité Antibactérienne, Polyphénols, Flavonoïdes.

Liste des abréviations

ADN	: Acide désoxyribonucléique.
ATCC	: Collection de cultures de type américain.
ATP	: Adénosine-Triphosphate.
BHT	: Butyl-hydroxytoluène.
CMI	: Concentration minimale inhibitrice.
DMSO	: Diméthylsulfoxyde.
DPPH	: Diphényl-picryl-hydrazyle .
EAG	: Équivalent acide gallique.
EC₅₀	: La concentration efficace médiane
EQ	: Équivalent quercitrine.
GPx	: La glutathion peroxydase.
Met-OH	: Méthanol.
RNS	: Espèces réactives azotiques.
ROS	: Espèces réactifs de l'oxygène.
SOD	: La superoxyde dismutase.

Liste des figures

Figure 1. Propolis de différente couleur pour différentes espèces	3
Figure 2. Diagramme du camembert représente une proportion de la composition chimique de la propolis	4
Figure 3. les activités biologiques de la propolis	6
Figure 4. La balance d'équilibre entre les systèmes pro et antioxydants	8
Figure 5. Différentes classes de polyphénols et leurs structures chimiques de certains de leurs principaux composés	13
Figure 6. Comparaison de la structure de la paroi cellulaire bactérienne	18
Figure.7. Schéma général des mécanismes de résistance aux antibiotiques et leur mode action bactérien défini par la résistance à certaines types d'antibiotiques	19
Figure 8. Mécanisme réactionnel implique lors du test de DPPH [•] , dans une réaction de réduction par l'intervention d'un antioxydant AH	21
Figure 9 . Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.	23
Figure 10. La courbe d'étalonnage de la Quercétine	24
Figure 11. Activité antiradicalaire de la propolis par rapport le BHT.	27
Figure 12. Effet du DMSO sur les bactéries étudiés.....	29
Figure 13. Zones d'inhibition du pouvoir antibactérien de propolis sur la croissance bactérienne en millimètres de diamètres.....	31
Figure 14. Zones d'inhibition de certains antibiotiques en millimètres de diamètres	33

Liste des tableaux

Tableau 1. Analyse quantitative de la solution de propolis	24
Tableau 2. Diamètres des zones d'inhibitions en mm en présence de l'activité antibactérienne de propolis.	30

Introduction

Introduction

Aujourd'hui, le monde est témoin d'une recrudescence de large gamme des maladies ou altération que ce soit liées au sein de notre organisme impliquant dans la physiologie, qui se traduit sous le nom d'un stress oxydatif. Qu'il se fait impliquer dans des dommages oxydatifs causés à une molécule cible. Ce dernier reste la principale cause d'apparition des telles maladies chroniques, ainsi que le vieillissement précoce (**Sotler et al., 2019**). En outre, il y a également des maladies aiguës qui surviennent soudainement et ont une durée relativement courte. Qui peuvent être causées par l'intervention d'un agent pathogène (bactérie, virus...), impliqué dans l'apparition des symptômes telles que la fièvre, la toux et des douleurs corporelles (**Rohr et al., 2019**). Donc il est essentiel de reconnaître la cause d'une infection pour pouvoir la traiter plus rapidement (**Hu et al., 2017**). En effet, les bactéries sont considérées comme l'une des principales causes d'infections graves et dangereuses chez l'homme et l'animal. Qui peut affecter une variété d'organes et de tissus (**Xiao & Cai, 2020**).

Ainsi, le développement de la médecine traditionnelle basée sur la biothérapie qui reste encore le premier réservoir de nouveaux médicaments, qui peut indiquer comme une source essentielle pour découvrir de nouvelles molécules nécessaires à la mise au point de futurs médicaments. Cela tient principalement au fait que la faune et la flore représentent une source majoritaire de la biodisponibilité de molécules bioactives dont un intérêt mis à profit dans l'industrie alimentaire, de la santé et de la pharmacie. Parmi ces composés, on distingue une variété de composés polyphénoliques, notamment : les acides phénoliques, les flavonoïdes et les anthocyanes, ainsi que de l'acide ascorbique, des hydrates de carbone, des macro- et microminéraux (**Negrean et al., 2023**). Ces composés sont connus pour leurs effets bénéfiques potentiels sur la santé humaine en raison de limiter l'altération oxydative et encore de réduire le risque d'émergence des maladies infectieuses (**Jones et al., 2008**).

Cependant, La propolis a constitué une source riche en telles substances bioactives, les plus connues, c'est : les polyphénols et les flavonoïdes. C'est l'un des rares produits naturels qui est resté populaire à long terme. Par ailleurs, la propolis Algérienne est l'une des substances synthétiques (récoltée par les abeilles), qui peut attirer l'attention en tant que la médecine intégrative en raison de ses diverses propriétés thérapeutiques (**Braakhuis, 2019**).

L'objectif principal de ce travail a été d'évaluer les activités antioxydante et antibactérienne *in vitro* de propolis Algérienne située à la région de Bordj-Bou-Argeridj.

Partie Bibliographique

Chapitre I. Généralité sur

La propolis

I. Chapitre I. Généralité sur la propolis

I.1. Définition

La propolis, aussi appelée « colle d'abeille », est l'arme chimique la plus importante des abeilles domestiques. Il s'agit d'un matériau résineux brunâtre recueilli par les apiculteurs florale (**Bhargava et al., 2021**). Qui est utilisé comme matière de construction pour les ruches. La propolis a été identifiée et utilisée par les êtres humains depuis les temps anciens (depuis 300 avant JC) comme un médicament traditionnel (**Lotfy, 2006 ;Sung et al., 2017**). Historiquement reconnue, pour les premières fois par les Égyptiens qui ont bénéficié des propriétés anti putréfactives afin de préserver leurs corps à la décomposition (**Martinotti & Ranzato, 2015; Zabaïou et al., 2017**). Ainsi, elle a été reconnue pour ses propriétés médicinales par les médecins grecs et romains, la propolis a d'abord été utilisée comme désinfectant buccal (**Martinotti & Ranzato, 2015**). Actuellement, plusieurs laboratoires de recherche ont étudié les constituants bioactifs de la propolis, qui peuvent être comporte un large éventail de leurs bioactivités (y compris les antioxydants, antibactériens, antifongiques, anti-inflammatoires, hépato protecteurs et anticancéreux) et leurs mécanismes d'action comme nutritionnels, prestations cosmétiques et pharmaceutiques (**Bhargava et al., 2021**).

I.2. La composition de la propolis

Dans le passé, la qualité de la propolis était déterminée en fonction des variétés locales d'abeilles, des sources botaniques et des conditions climatiques (figure 1). Au cours des dernières années, les technologies analytiques, à savoir la chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC), la chromatographie en couche mince (CCM), la chromatographie en phase gazeuse (CG), la résonance magnétique nucléaire (RMN), la spectrométrie de masse (SM) et la chromatographie en phase gazeuse-spectrométrie de masse (CG-SM), ont été largement utilisés pour définir les chimiotypes de propolis. Grâce à ces technologies analytiques hautement raffinées, les constituants de la propolis comme les sucres, les hydrocarbures et les minéraux ont également été identifiés et régulièrement utilisés pour leur profilage et leur image de marque. (**Bhargava et al., 2021**).

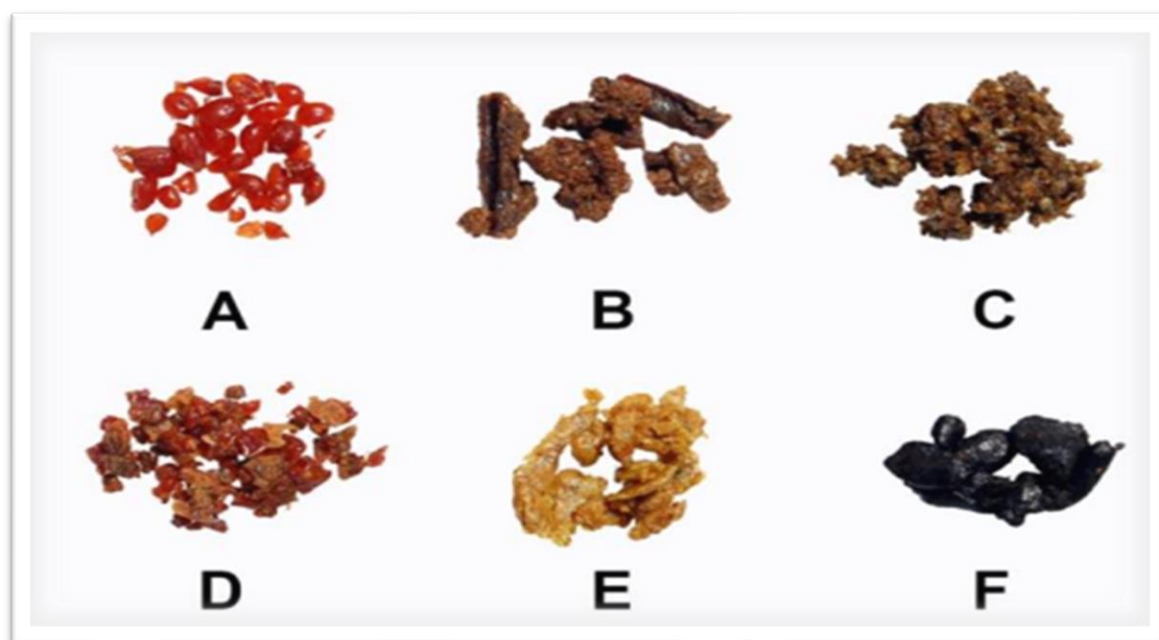


Figure 1. Propolis de différente couleur pour différentes espèces. (Papachristoforou *et al.*, 2019)

Plus de 180 composés, principalement des polyphénols, ont été identifiés comme constituants de variétés de propolis provenant de différentes régions géographiques. La teneur en polyphénols est souvent utilisée comme un critère pour évaluer la qualité de la propolis-figure-2. Les principaux polyphénols sont les flavonoïdes, les acides phénoliques, les esters, les aldéhydes phénoliques et les cétones. Les autres composés de la propolis comprennent les huiles volatiles et les acides aromatiques (5 à 10 %), les cires (30 à 40 %), les résines, les baumes et les grains de pollen qui constituent la principale source d'éléments essentiels comme le magnésium, le nickel, le calcium, le fer et le zinc. Il est également enrichi en biométabolites (acides aminés, sucres, acides nucléiques et lipides), en minéraux (Mg, Ca, I, K, Na, Cu, Zn, Mn et Fe), en hydrocarbures (alcane, alcène, alcadiène, monoesters, diesters, esters aromatiques, etc.) et en vitamines (B1, B2, B6, C et E) qui sont essentielles pour diverses structures et fonctions dans les systèmes vivants. Des enzymes comme la déshydrogénase succinique, le glucose-6-phosphate, l'adénosine triphosphate et le phosphate acide ont été détectés dans divers types de propolis. Les compositions chimiques des variétés de propolis de différentes niches géographiques et botaniques montrent une variabilité frappante, posant des défis supplémentaires dans l'application de la propolis dans la santé/cosmétique/pharmaceutique et industrielle (Moskwa *et al.*, 2020; Tran *et al.*, 2020).

- La résine
- Huile essentielle
- Autres composés organiques
- pollen
- La cire

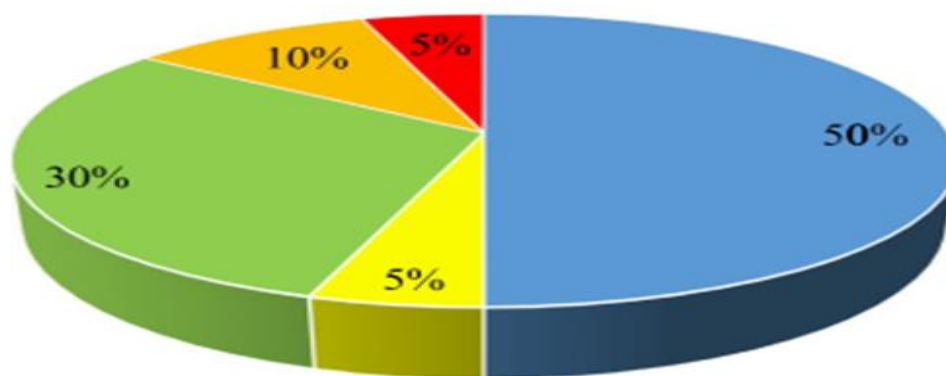


Figure 2. Diagramme du camembert représente une proportion de la composition chimique de la propolis (Przybyłek & Karpin'ski 2019).

I.3. L'aspects de l'utilisation traditionnelle de la propolis

L'utilisation populaire de la propolis au fil du temps, elle n'est pas considérée comme un agent thérapeutique en médecine conventionnelle, car une bonne normalisation de la composition chimique et de l'activité biologique fait encore défaut. Ainsi, la caractérisation de différents types de propolis selon son origine végétale et son profil chimique est obligatoire. Cette information permet d'extrapoler l'activité et le mécanisme d'action possibles de la nouvelle propolis à l'étude et fournit des indices substantiels pour le développement de nouveaux médicaments (Silva-Carvalho *et al.*, 2015). La propolis a également été recommandée en médecine populaire pour le traitement des troubles purulents, car il a été démontré qu'elle améliore la guérison des plaies et soulage de nombreux types d'inconfort.

En outre, la médecine alternative et complémentaire a utilisé différentes préparations à base de propolis comme les sprays, les onguents et les poudres (principalement des teintures et des extraits éthyliques) pour le traitement des rhumes, de la grippe, de l'asthme bronchique et d'autres maladies humaines (**Matuszewska et al., 2021**) comme les troubles gastriques (**Ahangari et al., 2018**). Ainsi, Dans la médecine actuelle, La propolis est largement utilisée grâce à ses propriétés antiseptiques, il est utilisé en dermatologie pour traiter les infections Staphylococciques et fongiques. Les infections cutanées purulentes, l'hydradénite, l'intertrigo, la chéilose et la grive, entre autres, sont traitées à la propolis, qui est une préparation très efficace dans le traitement des brûlures de la peau (**Olczyk et al., 2014**).

I.4. Les propriétés thérapeutiques de la propolis

L'apparence et les propriétés physiques de la propolis varient également selon sa situation géographique et sa végétation. Il est généralement vert foncé ou brunâtre (figure-1-) , dur à basse température et mou à haute température et fond à 60 à 70° C; Certains types ont une température de fusion proche de 100°C. Pour un usage commercial, les extraits de propolis sont souvent préparés avec des solvants appropriés, comme l'éthanol, le méthanol, le chloroforme, l'éther et l'acétone, dont l'extrait éthanolique a été populaire en raison de son niveau élevé de bioactivités. Plusieurs types de produits de propolis, y compris dentifrices, pastilles, rince-bouche, crèmes gels, sirop pour la toux, vin , gâteau, poudre, savon, gommages à mâcher, comprimés, bonbons, shampooings. Comme indiqué dans la section précédente, les différents types de propolis se distinguent par leurs constituants chimiques et leurs bioactivités, ce qui détermine leurs applications thérapeutiques, notamment antibactériennes, antioxydantes, anti-inflammatoires, antifongiques, antivirales, cardioprotectrices, hépatoprotectrices, neuroprotectrices et anticancéreuses (**Bhargava et al., 2021**) ; On les estime quelques propriétés ;

D'une part, Les composés naturels et les extraits dérivés de la propolis (économiques et facilement disponibles) se sont avérés efficaces et utiles non seulement pour traiter, mais aussi pour prévenir les infections microbiennes. Notamment Les infections fongiques qui sont souvent causées par des champignons microscopiques présents dans l'air, le sol, l'eau et les plantes. Une étude expérimentale consiste que l'efficacité thérapeutique de la propolis peuvent affecter la croissance de tels types de champignons (**Chua et al., 2014**). Ainsi, les infections bactériennes des cultures et des produits alimentaires ont également attiré l'attention de plusieurs organisations de santé. Il a été démontré que la propolis a des composés actifs donnent un effet antibactérien (**da Cunha et al., 2020; Rivero-Cruz et al., 2020**). En touchant la perméabilité et le potentiel de la membrane de la bactérie et d'autre

dans la stimulation du système immunitaire (**de Souza Silva et al., 2021**). Ensuite, des effets thérapeutiques comparables lorsque la propolis et le sulfathiazole sont utilisés, mais la colle d'abeille est plus sécuritaire et a moins d'effets indésirables.

D'autre part, la propolis est non seulement antimicrobienne, mais elle augmente aussi la cicatrisation et réduit la douleur. La chrysine, qui est un flavonoïde, fournit un effet analgésique. La propolis stimule l'accumulation de glycosaminoglycane nécessaire à la granulation, à la croissance des tissus et à la fermeture des plaies. La propolis comme agent apithérapeutique est plus efficace que la sulfadiazine d'argent. L'utilisation d'onguent à la propolis pour traiter les brûlures en tant que produit apithérapeutique topique pourrait contribuer à la réépithélisation (**Olczyk et al., 2013**). La propolis appliquée localement a diminué l'inflammation persistante dans les plaies diabétiques en normalisant l'élastase neutrophile et neutrophile. L'acide caféique est responsable de l'effet anti-inflammatoire de la propolis (**Al-Waili et al., 2015**). La génistéine de la propolis a accéléré la cicatrisation et stimulé l'angiogenèse des plaies chez des souris atteintes de diabète de type 1 (**Tie et al., 2013**).

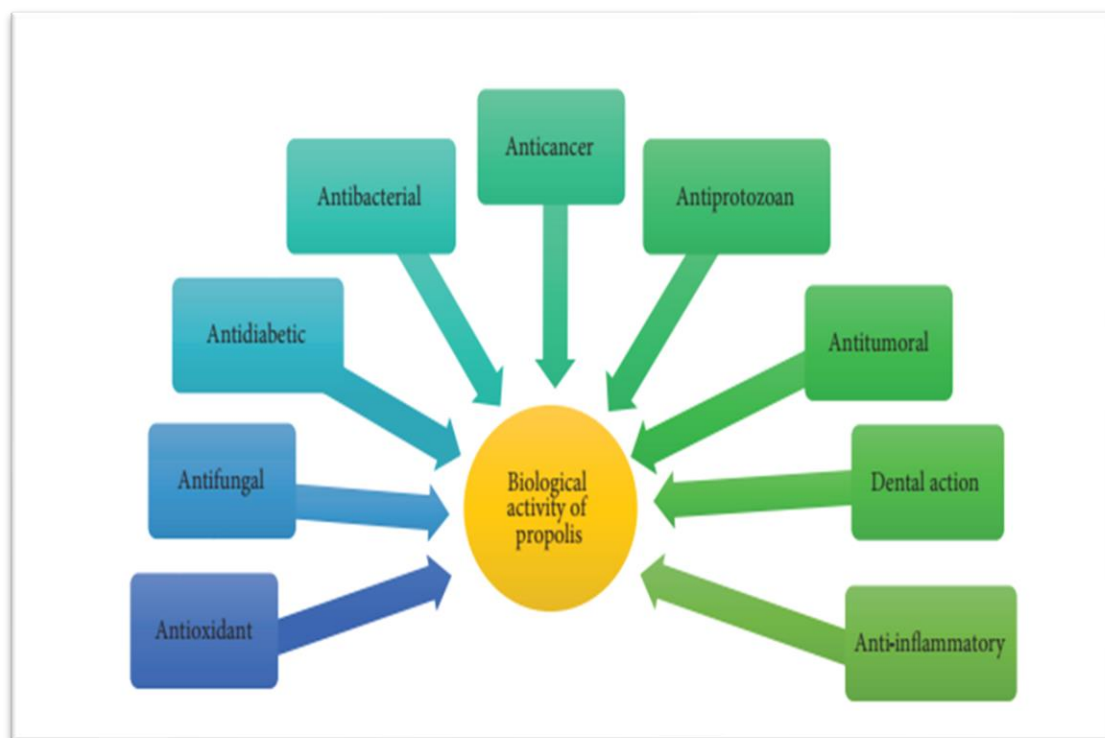


Figure 3. les activités biologiques de la propolis(**Pasupuleti et al., 2017**).

Chapitre II.

Le Stress Oxydatif

II. Chapitre II. Le stress oxydatif

II.1. Définition

Le stress oxydatif est une forme d'agression des cellules/tissus causée principalement par augmentation des radicaux libres cellulaires au niveaux des antioxydants cellulaires et se caractérise par un déséquilibre entre la production d'espèces réactive de l'oxygène (ROS) et la défense antioxydante endogène. Il est conduit à la peroxydation des lipides, à la nitration des protéines, des dommages au niveau de l'ADN et/ou l'apoptose **(Mishra & Jha, 2019)**.

Au moins une des trois conditions suivantes indique la présence d'un état de stress oxydatif **(Mercan, 2010)** :

- Excès des espèces réactives de O₂, N₂ ou Cl₂ .
- Défenses insuffisantes (endogènes et exogènes) .
- Mécanismes de réparation insuffisants.

II.2. Origine du stress oxydatif

Les cellules sont continuellement exposées aux radicaux libre (ROS) générés au cours du métabolisme physiologique de l'oxygène et impliqués dans de nombreuses altération qui sera impliquée au sein de la physiologie **(Estévez, 2015)**. Qu'il peut avoir diverses origines : un déficit nutritionnel en antioxydant, une surproduction endogène d'origine inflammatoire, une exposition environnementale à des facteurs pro-oxydants (tabac, alcool, stupéfiants, métaux toxiques, amiante, pesticides, rayonnement UV, ozone...)**(Favier, 2003)**, ou bien une dégradation insuffisante de ces radicaux par le système antioxydant en tant que mécanisme de défense interne. En condition physiologique, comme par exemple au cours d'un exercice réalisé de façon modérée, l'équilibre entre la production des ROS et les systèmes de défenses antioxydantes permet le maintien d'une fonction organique optimale. Des recherches récentes suggèrent que le stress oxydant intervient dans la physiopathologie ou dans la genèse de certaines entités pathologiques et pourrait être partiellement associé à un déficit d'apports d'éléments antioxydants. Par ailleurs, le sport au cours d'une période d'exercice intense ou la nutrition non régulière peuvent l'influencer au sein du métabolisme **(Daenen et al., 2019)**. La figure ci-dessous qui la montre.

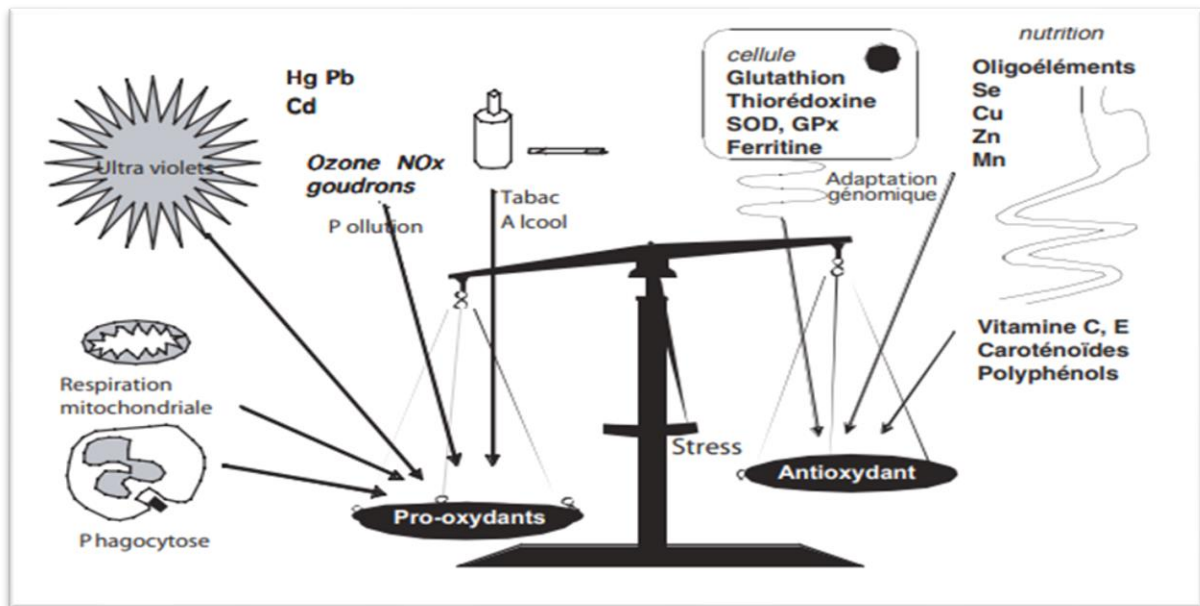


Figure 4. La balance d'équilibre entre les systèmes pro et antioxydants. (Favier, 2006).

II.3. Les radicaux libres

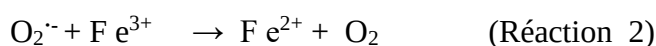
II.3.1. Définition

Les radicaux libres sont les agents oxydants qui possèdent un ou plusieurs électrons non appariés sur leur couche externe, ce qui les confère un haut degré de réactivité et instabilité vis-à-vis des substrats biologiques. Ils peuvent être divisés en deux classes : les espèces réactives de l'oxygène (ROS) et les espèces réactives de l'azote (RON). Les (ROS) étant les radicaux libres les plus couramment rencontrés dans l'organisme (Miller *et al.*, 1993). Actuellement, ces radicaux sont les plus fréquents comprennent des espèces comme le radical hydroxyle ($\text{HO}^\bullet$), le superoxyde ($\text{O}_2^{\bullet -}$) et l'oxyde nitrique (NO) ainsi que d'autres molécules non radicalaires qui dépourvus d'électrons appariés supplémentaires, peuvent conduire à la formation de radicaux libres. C'est le cas par exemple pour le peroxynitrite ($\text{ONOO}^\bullet$), le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), l'acide hypochloreux (HOCl) et l'oxygène singulet (O_2) (Lykkesfeldt & Svendsen, 2007).

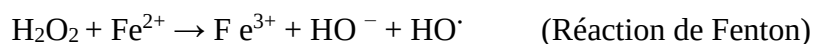
II.3.2. Espèces réactives liées au stress oxydatifs

Le radical libre le plus fréquent dans les situations physiologiques est l'anion superoxyde ($\text{O}_2^{\bullet -}$), qui est presque toujours produit lorsqu'une molécule d'oxygène se connecte à un électron dans la chaîne respiratoire mitochondriale (Cadenas & Davies, 2000). Cette chaîne

permet le transport d'électrons en combinant l'oxydation de coenzymes transporteurs d'hydrogène ou d'électrons avec la phosphorylation de l'ADP en ATP (**Haleng et al., 2007**). Les enzymes de ce dernier jouent le rôle d'un transporteur des électrons, mais elles ne sont pas totalement efficaces car 1 à 5% de ces électrons s'échappent et en transformant en anion superoxyde (**Aurousseau, 2002**). De nombreuses enzymes, dont les oxydases, les peroxydases, les lipoxygénases et les déshydrogénases, ainsi que le transport d'électrons dépendant du NADPH *via* le cytochrome p450 dans le réticulum endoplasmique, sont d'autres producteurs *in vivo* de ROS (**Kehrer, 2000**). Il peut être catalysé par la superoxyde dismutase pour produire du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) et de l'oxygène (O₂) (la réaction-1) ou réagir avec l'ion ferrique (Fe³⁺) pour produire de l'ion ferreux (Fe²⁺) et de l'oxygène (O₂) (la réaction-2) (**Sordillo & Mavangira, 2014**).



Contrairement au superoxyde, le peroxyde étant stable et non chargé, il peut traverser les membranes cellulaires et fonctionner dans plusieurs compartiments cellulaires. Sa capacité à se réduire en radical hydroxyle (HO[•]), qui nécessite la transformation du fer de sa forme ferreuse en forme ferrique (réaction de Fenton), est principalement responsable de sa toxicité. En outre, la réaction de Haber-Weiss, qui se produit lorsque la réaction de Fenton et la réaction-2 sont combinées, en démontrant que le superoxyde et le peroxyde d'hydrogène peuvent se lier pour générer des radicaux hydroxyles en présence de catalyseurs à base d'ions métalliques tels que le fer ou le cuivre. En citant les acides gras polyinsaturés (AGPI), l'ADN nucléaire et/ou mitochondrial, l'ARN et les protéines peuvent tous être peroxydés par le radical hydroxyle en raison de sa grande réactivité et de sa capacité à interagir avec différents types de molécules. Une espèce radicale appelée oxyde nitrique (NO) est formée à partir de la L-arginine par l'enzyme oxyde nitrique synthase. Sa réaction (Réaction-3) avec l'anion superoxyde forme le peroxynitrite (ONOO⁻), qui peut être réagir avec les lipides, les protéines et l'ADN pour altérer le processus enzymatique et en transduisant ses signaux, afin d'endommager l'ADN (**Béguel, 2012**).



II.4. Système de défense antioxydants

L'organisme développe un mécanisme de défense antioxydant pour détoxifier la génération de radicaux libres et neutraliser les oxydants en réponse à une augmentation des ROS intracellulaires. En d'autres termes, les antioxydants peuvent être défini au sens large comme toute substance qui retarde, prévient ou supprime les dommages oxydatifs subis par une molécule cible. Ces systèmes de défense sont soit enzymatiques, soit non enzymatiques (Halliwell & Gutteridge, 2015).

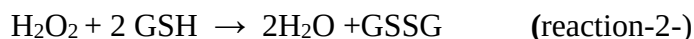
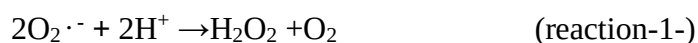
II.4.1. Défenses enzymatiques

Il existe Trois enzymes principales travaillent ensemble dans notre corps pour lutter contre la production excessive de ROS. Ces trois enzymes ont été mentionnées ci-dessous, par (Afonso *et al.*, 2007; Baudin, 2020; Nandi *et al.*, 2019) :

La superoxyde dismutase (SOD)(reaction-1-), un catalyseur biologique de la réaction de dismutation de l'anion superoxyde en peroxyde d'hydrogène, en régulant la production de superoxyde. Elles peuvent catalyser également le processus d'oxydoréduction parce qu'elles sont des métalloenzymes, ce qui signifie qu'elles ont un ou plusieurs ions métalliques liés à leur structure protéique.

La glutathion peroxydase (GPx), (reaction-2-), ayant le rôle impliquer dans la réduction du glutathion (GSH) en un peroxyde d'hydrogène en libérant l'eau. Au cours de cette réaction, on se retrouve avec un dimère de glutathion oxydé, lié par une liaison disulfide (GSSG).

La catalase permet de la dismutation de deux molécules de peroxyde d'hydrogène qui peut libérer deux molécules d'eau et une molécule de dioxygène (Réaction 3).



II.4.2. Défenses non enzymatiques

L'alimentation est la principale source de plusieurs réducteurs endogènes et exogènes, qui agissent tous pour protéger l'organisme contre les radicaux libres. On distingue deux types d'antioxydants non enzymatiques : les hydrophiles et les lipophiles. Les oligo-éléments comme le sélénium (SE), le cuivre (Cu), le zinc (Zn) et le manganèse (Mn) sont des cofacteurs en agissant dans telles réactions enzymatiques antioxydantes, notamment la GPx, ainsi que de la famille d'isoenzymes SOD respectivement. Ce sont connus sous le nom de chélateurs

métalliques, qui jouent un rôle important dans chélation des métaux nécessaires afin de former des radicaux hydroxyles lors de la réaction de Haber-Weiss et Fenton. Il s'agit notamment de la lactoferrine, de l'albumine, de la céruloplasmine, de la ferritine et de la transferrine (**Turk et al., 2011**). Parmi les antioxydants qui trouvent normalement dans l'organisme en quantité suspendue et peuvent être apporter par l'alimentation sous deux formes possibles (**De Moffarts et al., 2005**) :

D'une part, les vitamines liposolubles telles que l'ubiquinol, les tocophérols (Vit. E), les rétinoïdes (Vit. A), les flavonoïdes, la bilirubine et la mélatonine sont particulièrement impliquées dans la préservation des lipides en contrecarrant les réactions en chaîne lors de la peroxydation des lipides.

D'autre part, les antioxydants hydrophiles ayant un rôle protecteur afin de limiter l'oxydation des lipides, des protéines et de l'ADN. Le glutathion présente dans le cytoplasme sous forme réduite et servant de substrat à la GPx, à l'acide ascorbique (Vit C), à l'acide urique, aux dérivés thiolés, aux protéoglycanes et à l'acide hyaluronique, est notamment affecté par ce phénomène.

Chapitre III.

Les polyphénols

III. Chapitre III. Les polyphénols

III. 1. Généralité

Les composés phénoliques sont des composés phytochimiques qui peuvent se définir sous le nom des métabolites secondaires végétaux. ce sont des molécules peuvent interagir indirectement à la vie des plantes, contrairement aux métabolismes primaires qui sont impliqués dans les grandes voies du métabolisme de base, mais ils sont essentiels dans l'interaction de la plante avec son environnement **(Chira et al., 2008)**. Les phénols ou polyphénols alimentaires comportent tous les groupes de produits naturels les plus répandus dans le règne végétal **(Harborne & Williams, 2000)**. Ils sont couramment trouvés dans les fruits, les légumes, les céréales complètes et d'autres types d'aliments. Des études supplémentaires montrent que les différents sous-groupes de polyphénols peuvent être présenter des différences significatives en termes de stabilité, la biodisponibilité et les fonctions physiologiques liées à la santé humaine, dont la modulation des voies de signalisation cellulaire **(Tsao, 2010)**.

Les phénoliques sont définis comme des composés qui possèdent un anneau aromatique avec au moins un groupe hydroxyle, et leur structure peut varier d'une molécule simple à un polymère complexe avec un poids moléculaire élevé Ils sont des antioxydants puissants qui comportent : les vitamines, les enzymes antioxydantes en tant que la défense contre le stress oxydatif causé par l'excès d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) **(Durazzo et al., 2019)**.

III.2. Classification des polyphénols

Plus de 8000 structures phénoliques sont actuellement connues, et parmi elles plus de 4000 flavonoïdes ont été identifiées **(Cheynier, 2005)**. La biodiversité d'une large gamme des polyphénols sont distribuées dans les plantes, qui peut conduire de différentes manières. Elles peuvent classer ces composés naturels en trois grandes familles principales : aux flavonoïdes, aux acides phénoliques et aux stilbènes **(Durazzo et al., 2019)**. la figure suivante les résume :

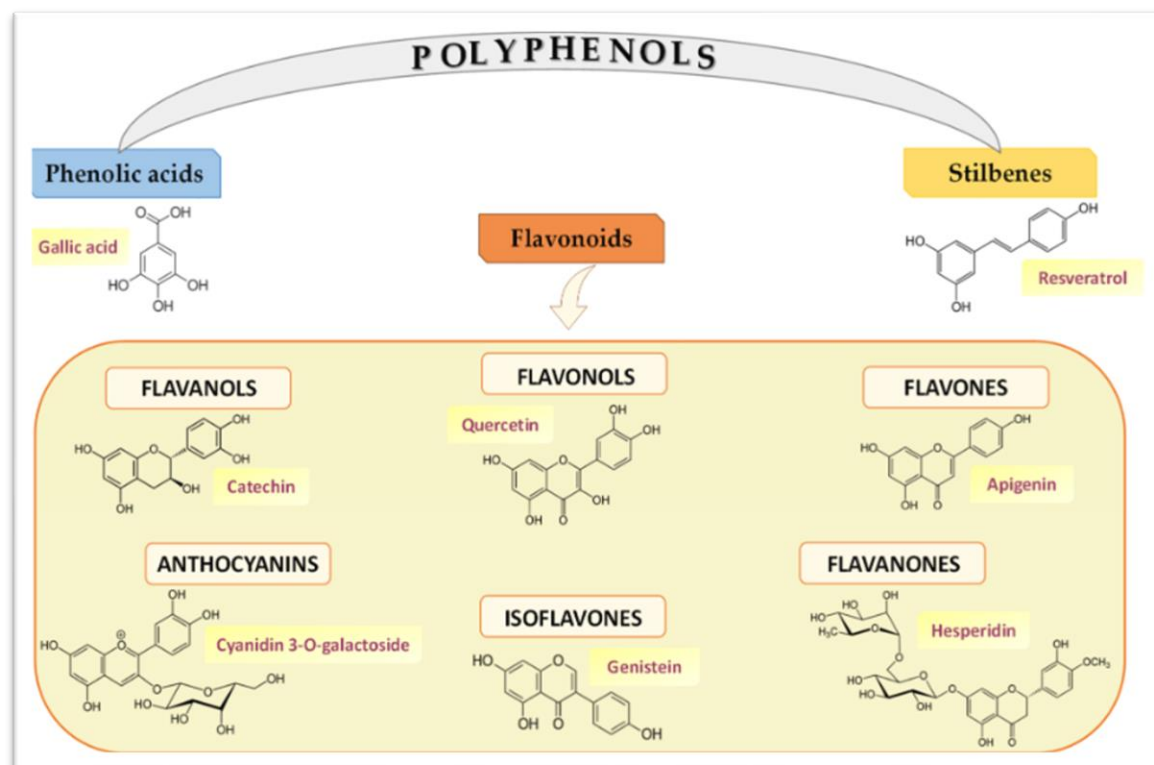


Figure 5. Différentes classes de polyphénols et leurs structures chimiques de certains de leurs principaux composés (Lippolis *et al.*, 2023).

Les polyphénols sont la classe qui représente la totalité des composés existant sous forme de glycosides avec différentes unités de sucre et des sucres acylés à différentes positions du squelette des polyphénols qui peut être composée d'un noyau benzénique sur lequel vient s'attacher une chaîne aliphatique à un carbone (Tsao, 2010). Les acides phénoliques sont des composés polyphénoliques non flavonoïdes qui peuvent être divisés en deux types principaux, les dérivés de l'acide benzoïque et de l'acide cinnamique, basés sur des squelettes en C1-C6 et C3-C6. Ces acides phénoliques ne peuvent être libérés ou hydrolysés que par une hydrolyse acide ou alcaline, ou par des enzymes (Kim *et al.*, 2006).

Les flavonoïdes ont un squelette structural général en C6-C3-C6 dans lesquels les deux unités C6 sont de nature phénolique. Les flavonoïdes peuvent être divisés en différents sous-groupes tels que les flavones, flavonols, anthocyanidines, isoflavones, flavonones, catéchines. Ils sont également impliqués dans le processus de fixation de l'azote et dans la croissance des plantes lors de la réaction avec les hormones de croissance des plantes, principalement avec les auxines et les cytokinines (Chandrasekara & Shahidi, 2010).

Les xanthones, les stilbènes, ainsi que les lignanes et les tanins font partie des composés phénoliques non flavonoïdes. Il s'agit de composés dont la structure comporte au moins deux

anneaux aromatiques, alors que seuls les tanins en ont davantage à des attaques fongiques, bactériennes ou virales, ce qui a été démontré pour le transresveratrol (**Durazzo et al., 2019**).

III.3. Activité antioxydante des polyphénols

Les mécanismes de l'action antioxydante des polyphénols peuvent inclure le piégeage direct des radicaux libres réactifs, dont la chélation des ions en traces métalliques impliqués dans la formation des radicaux libres, ainsi que l'inhibition enzymatique. Et également dont la régénération liés à la membrane tels que l' α -tocophérol (**Belščak-Cvitanović et al., 2018**). Deux mécanismes principaux d'antioxydants ont été proposés ; La première est basée sur la capacité antioxydante à travers des groupements fonctionnels qui a donné un atome d'hydrogène à un radical libre $R\cdot$, tel que les radicaux perhydroxyl $LOO\cdot$ générés lors de l'autoxydation des lipides (LH). Dans ce cas, les polyphénols agissent comme des antioxydants qui brisent la chaîne. À travers de transfert un atome d'hydrogène, l'antioxydant phénolique ($ArOH$) devient lui-même un radical libre. Le second mécanisme à partir de transfert d'un seul électron de $ArOH$ à un radical libre $R\cdot$ avec la formation d'un cation radical stable $ArOH^{\cdot+}$ (**Quideau et al., 2011**). Ces réactions peuvent avoir lieu lors du piégeage des espèces réactives de l'oxygène ($ROS=O_2^{\cdot-}$, $HO\cdot$, $RO\cdot$, $ROO\cdot$ etc...). La surproduction lors d'un stress oxydatif, dehors de réponses inflammatoires à la suite d'une infection microbienne, d'une exposition à des polluants ou à des radiations. Les polyphénols pourraient bien exercer en première partie de leur activité antioxydante dans le tractus gastro-intestinal (**Belščak-Cvitanović et al., 2018**). Ils agissent directement dans les réactions en chaîne de la peroxydation des lipides (briseurs de chaîne) mais ils n'agissent pas seuls. Malgré ça sont resté toujours comme des coantioxydants en participant à la régénération des vitamines essentielles (**Guo et al., 2009**).

Dans les systèmes complexes comportant une phase lipidique et une phase aqueuse (émulsions alimentaires, membranes, etc.), il convient de souligner que la répartition de l'antioxydant entre les deux phases est un facteur crucial pour l'expression de l'activité antioxydante globale. En général, les polyphénols hydrophiles semblent essentiellement inhiber l'initiation dans la phase aqueuse, tandis que les antioxydants lipophiles ou amphiphiles tels que l' α -tocophérol (vitamine E, noté α -Toc-OH) agissent dans la phase lipidique en piégeant les radicaux peroxydes dérivés des lipides. Cela indique que la régénération des antioxydants amphiphiles à l'interface eau-lipide est un autre mécanisme antioxydant pour les polyphénols (**Mukai et al., 2005**).

III.4. Activité antibactérienne des polyphénols

Les polyphénols avaient des effets antibactériens contre les agents pathogènes d'origine alimentaire, qui se défini par un site de collecte spécifique, par exemple :

Les protéines sont des composés structuraux importants des cellules bactériennes et fonctionnent comme des enzymes pour réguler l'homéostasie cellulaire. Les polyphénols ont des composés polyhydroxylés constitués de groupes hydroxyles et d'un anneau benzénique hydrophobe, qui peuvent interagir avec les protéines par l'intermédiaire de groupes amino et carboxyle ou d'interactions hydrophobes, ce qui augmente les interactions hydrophiles en diminuant de manière significative l'hydrophobicité de la surface des protéines membranaires afin de faciliter la pénétration dehors la bicouche de phospholipides de la membrane plasmique bactérienne (**Zhang et al., 2021**). Ainsi, la distance entre les chaînes d'acides gras phospholipidiques s'allonge et réduit les interactions de van der Waals entre elles. En conséquence, la membrane perd leur fonctionnement structural et elle devient perméable et liquide. Lorsqu'elle devient perméable, les ions comme le potassium ou les phosphates, l'ATP, les macromolécules comme le ribose ou le glutamate de sodium, les nucléotides ou les protéines peuvent s'en échapper (**Pernin, 2018**). En effet, cette perméabilité membranaire peut entraîner la dissipation des gradients ioniques, y compris le gradient de pH, ce qui diminue la force motrice nécessaire à la génération d'ATP. La dissipation du gradient ionique entraîne généralement l'aboutissement et finalement la mort cellulaire (**Ultee et al., 2002**).

Chapitre IV.

Les infections bactériennes

IV. Chapitre IV. Les infections bactériennes

IV.1. Généralité

Les maladies infectieuses sont des maladies courantes dans le monde entier. Un récent rapport de l'Organisation mondiale de la santé indique que les maladies infectieuses sont désormais la principale cause de mortalité des enfants et des jeunes adultes dans le monde. Récemment, il a été rapporté que les maladies infectieuses sont responsables de plus de 17 millions de décès dans le monde chaque année, la plupart d'entre eux étant associés à des infections bactériennes. Il existe différents types d'infections bactériennes, chacun ayant ses propres symptômes et traitements. Les infections les plus courantes sont les infections cutanées, les infections des voies urinaires, les infections respiratoires et les infections gastro-intestinales. La lutte contre les maladies infectieuses reste donc une tâche importante dans le monde. La capacité à contrôler ces infections bactériennes dépend largement de la capacité à détecter ces agents étiologiques dans le laboratoire de microbiologie clinique (Millar *et al.*, 2007).

Alors que les bactéries sont des micro-organismes, procaryotiques dont le diamètre est compris entre 0,5 et 2 nm, bien que certaines proviennent de colonies filamenteuses ou de formes différentes. Elles peuvent être pathogène qui prendre des dégâts lorsqu'elles interviennent dans un organisme hôte « généralement l'être humain ». Les cellules bactériennes peuvent avoir la forme "bacille", "Cocci" sphérique, de "vibrios" en forme de virgule ou de "spirales" hélicoïdales, mais d'autres morphotypes existent. Ces caractéristiques expliquent deux autres propriétés importantes des bactéries : d'une part, les bactéries ne peuvent absorber que des composés de faible poids moléculaire de leur environnement via la membrane cellulaire et cette absorption est due soit par un transport actif « exigeant en énergie », ou bien par une diffusion facilitée. La capacité de phagocytose ou de pinocytose est un privilège des cellules eucaryotes. D'autre part, leur transformation intervient l'absorption d'ADN simple brin par les bactéries, qui sera présentée par une exception ayant des implications évolutives, ensuite leur reproduction sera présentée également par une division cellulaire « à travers la réplication de l'ADN » (Fenchel *et al.*, 2012).

IV.2. Classification des bactéries

L'application de colorants aux études histologiques ou cytologiques afin de caractériser la localisation d'un composant d'une cellule dans un frottis ou une section de tissu est une méthode ancienne. La cytochimie cherche à interpréter la biochimie de la cellule en termes de morphologie. Plusieurs procédures de coloration utiles ont été mises au point, mais leur nature et leur spécificité ne sont pas encore très claires. L'une d'entre elles est la coloration de

Gram, mise au point en 1884 par Christian Gram. Cette méthode de coloration a été largement utilisée en raison de sa simplicité et de sa rapidité dans la classification provisoire des bactéries en deux groupes, les gram-positifs et les gram-négatifs. En tant que réaction histochimique, les difficultés de standardisation de la technique et d'interprétation des résultats sont toutefois évidentes (**Biswas et al., 1970**). La coloration de Gram conserve son utilité pour la plupart des bactéries et reste une méthode importante en microbiologie. Il est certain qu'elle reste un principal outil taxonomique pour différencier les deux types fondamentaux de cellules bactériennes, et le résultat est toujours une caractéristique requise lors de la description d'une nouvelle espèce (**Behera, 2013**).

IV.2.1. Les bactéries de gram négative

Les bactéries Gram-négatives sont totalement différencie que celles les bactéries Gram positives. Ses bactéries ne conservent rien la coloration initiale au cristal violet (pourpre) et colorées en rouge par la fuchsine de carbol (ou safranine). Cette espèce possède une fine couche de peptidoglycane et une bicouche lipidique et protéique sus-jacente, appelée membrane externe, qui peut être perturbée par la décoloration. En dehors de ce sacculus peptidoglycane est un bicouches phospholipido-protéique, appelé la membrane extérieure (ME) ; composé de phospholipides, principalement phosphatidyléthanamine, phosphatidylglycérol et diphosphatidylglycérol. Les protéines de la membrane extérieure (OMPS) tels que les porines, qui forment de petits canaux aqueux à travers la bicouche lipidique ; et un lipide unique appelé lipopolysaccharide (LPS), qui est la composante endotoxique des bactéries Gram-négatives. Les phospholipides sont principalement alignés le long de la face interne du (ME) , tandis que le LPS est sur la face externe. Parce que l'(ME) est une bicouche phospholipidique relativement souple, et parce que le peptidoglycane est mince, la paroi Gram-négative n'est pas aussi forte que la variété Gram positive (**Beveridge, 2001**). Parmi les espèces bactériennes ont rappelé : (*Escherichia coli*).

IV.2.2. Les bactéries de gram positives

La réaction de la méthode de coloration de gram est basée sur la composition chimique et structurale des parois cellulaires des deux variétés de bactéries. Les bactéries Gram-positives ont une paroi épaisse et relativement imperméable qui résiste à la décoloration. Qui se compose de peptidoglycane et de polymères secondaires. Ces bactéries ayant la capacité qui peut être conserver la coloration initiale au cristal violet. Il faut bien reconnaître qu'il existe des bactéries Gram-variables et qu'il s'agit de cellules Gram-positives qui ont des problèmes d'identification. Ces cellules présentant des problèmes de renouvellement de la paroi cellulaire

ou de septation de la paroi cellulaire. À l'heure actuelle, la coloration de Gram reste une sonde insaisissable pour différencier avec précision les archées. Parmi les espèces bactériennes en citant ; (*Staphylococcus aureus*) (Edwards & Massey, 2011; Gardete & Tomasz, 2014 ;Swolana & Wojtyczka, 2022).

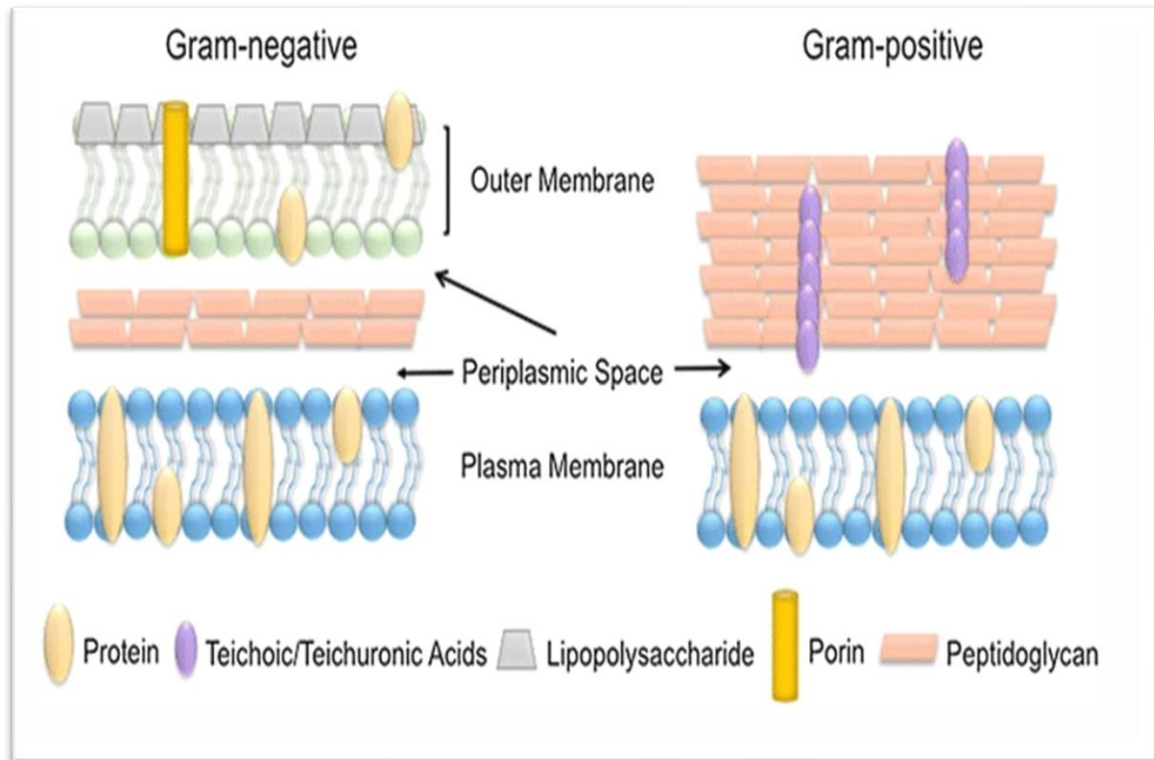


Figure 6. Comparaison de la structure de la paroi cellulaire bactérienne (Slavin *et al.*, 2017).

IV.3. La résistance bactérienne aux antibiotiques

Les antibiotiques sont des découvertes thérapeutiques importantes pour la santé humaine. Leur utilisation a longtemps réduit la mortalité et la morbidité globale. En revanche, Ces molécules ont également permis de pallier les complications de certaines situations, notamment la transplantation d'organes (Bouyahya *et al.*, 2018). La résistance bactérienne aux ces molécules est un problème économique de santé croissant. Qui peut être innée ou acquise et a été dirigée aux certaines classes d'agents antimicrobiens. La résistance acquise découle de :

- (i) mutations dans les gènes cellulaires (mutation chromosomique) conduisant à une résistance croisée,
- (ii) transfert de gènes d'un micro-organisme à l'autre par plasmides (conjugaison ou

transformation), transposons (conjugaison), intégrons et bactériophages (transduction) (Giedraitienė *et al.*, 2011). Après qu'une bactérie ait acquis des gènes de résistance pour se protéger contre divers agents antimicrobiens, les bactéries peuvent utiliser plusieurs types biochimiques de mécanismes de résistance : 1 : inactivation des antibiotiques (interférence avec la synthèse de la paroi cellulaire -,par exemple -figure7-; 1 : inactivation enzymatique de l'antibiotique, 2 : modification de la cible de l'antibiotique, 3 : efflux actif de l'antibiotique, 4 : perméabilité réduite, 5 : protection de la cible de l'antibiotique, 6 : piégeage de l'antibiotique (Muylaert & Mainil, 2013).

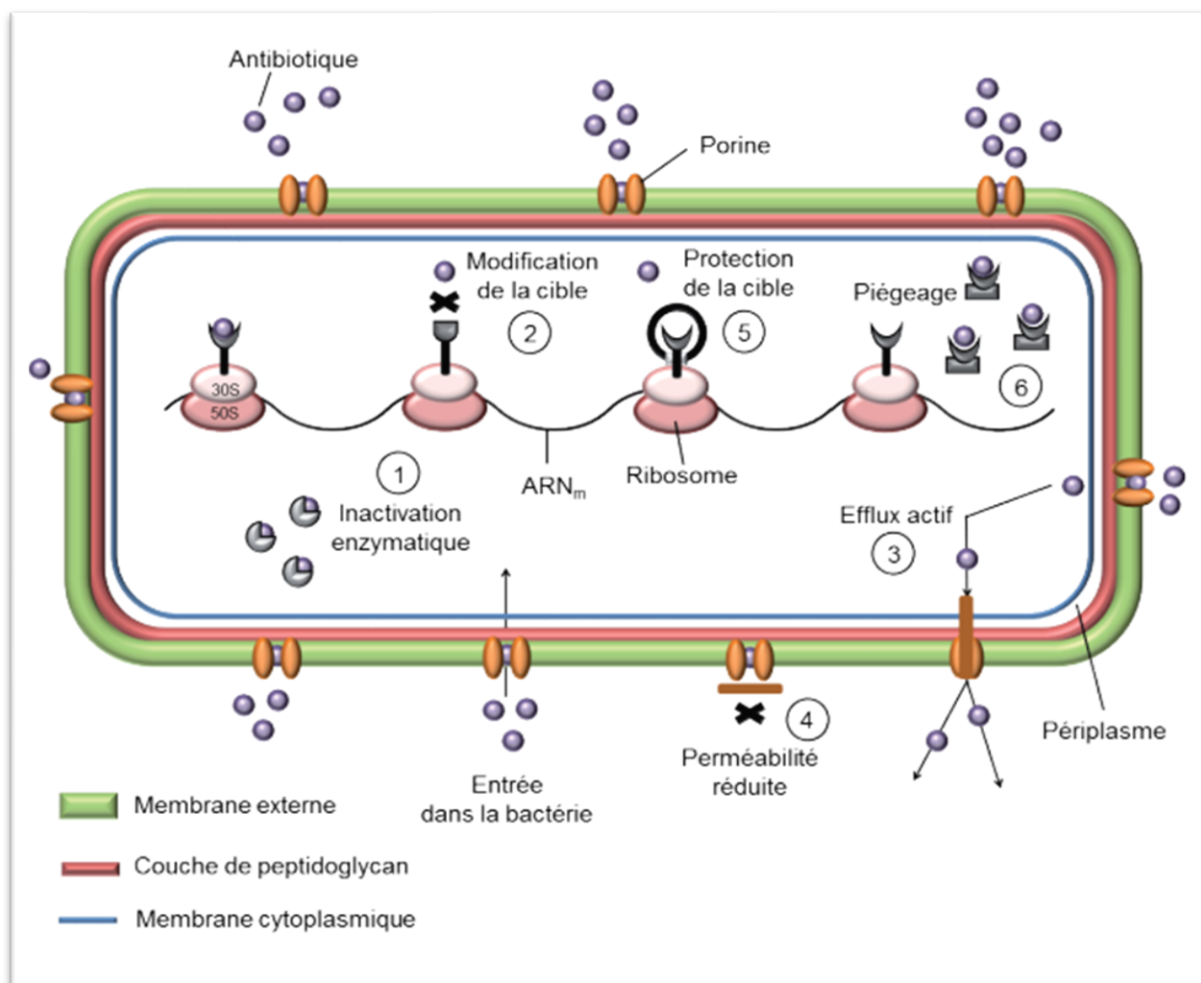


Figure.7. Schéma général des mécanismes de résistance aux antibiotiques et leur mode action bactérien défini par la résistance à certains types d'antibiotiques (Muylaert & Mainil, 2013).

Partie pratique

Chapitre V.

Matériels & Méthodes

V. Matériels & Méthodes

Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé dans le présent travail est la propolis qui a été récoltée en apicoles algériennes de la région de Bordj-Bou-Argeridj. La préparation de la solution mère à base cet échantillon a été faite dans le solvant Diméthylsulfoxyde (DMSO), cette étape nécessite un bain marie pour accélérer la réaction de la solubilisation.

Matériels & produits

Spectrophotométrie UV-Vis(UVmini-1240), Étuve ventilée(Memmert).

Les produits utilisés lors de l'expérience seront adaptés par (VWR-chemicals) ; Acide gallique, Réactifs de folin-ciocalteu, Quercétine, Bicarbonate de sodium, Trichlorure d'Aluminium ($AlCl_3$), 2,2-diphényl-2-picryl-hydrazyl (DPPH) Butyl hydroxy toluène (BHT), Diméthylsulfoxyde (DMSO), Méthanol, et les milieux de culture (Mullar Hunton et gélose nutritive) (conda pronadise), Eau physiologie 0.9% p/v.

Matériels biologiques

Les souches utilisées sont des souches de référence de l'American type culture collection (ATCC), gracieusement fournies par le laboratoire de Microbiologie & Biochimie à L'université Mohammed Boudiaf M'sila ;

Les bactéries de gram négatives sont ; *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Enterobacter cloacae* (ATCC13047).

Et les bactéries de gram positives sont ; *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Staphylococcus épidermis* (ATCC12228).

V.1. Dosage des polyphénols totaux

Le dosage de polyphénols totaux de propolis a été réalisé par la méthode de folin ciocalteu suivant de protocole décrit par **Amorati et Valgimigli, 2015**.

L'ensemble de composés phénoliques est oxydé par le réactifs de folin-ciocalteu, ce dernier est défini par un mélange de (complexe d'acide phosphotungstique et d'acide phosphomolybdique) qui peut réduire des sources antioxydantes pour former un chromophore bleu-vert, lors de l'oxydation des substances phénoliques, qui résulte à la fin d'un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène. L'analyse quantitative peut être estimer à cause de la mesure de l'absorption maximum aux environs de 750-760 nm. Elle est proportionnelle à la quantité de composés phénoliques oxydés présents dans la propolis (**Amorati & Valgimigli, 2015**).

Mélanger 100µl de la solution de propolis à (2mg/ml) avec 500 µl du réactif de folin-ciocalteu (dilué dix fois dans l'eau distillée), en reposant 4min puis on ajoute 400 µl la bicarbonate du sodium Na_2CO_3 (7.5% p/v) au milieu réactionnel. Après 2h d'incubation à l'obscurité à une température ambiante, l'absorbance a été mesuré dans 760nm.

La même procédure a été répétée avec le standard acide gallique a différentes concentrations (20-180 µg/ml).

V.2. Dosage des flavonoïdes totaux

La teneur en flavonoïdes contenus dans la propolis a été effectuée par la méthode **(Bahorun et al., 2003)**. 1ml de la solution de propolis de 2mg/ml, ou la quercétine a été mélangée avec 1ml d' AlCl_3 à 2%(p/v), Après une incubation à température ambiante pendant 10 min. La lecture de l'absorbance est estimée à 430nm. Utiliser la gamme étalon de la quercitrine à des concentrations suivantes ; (5,10, 20,40 et 80 g/ml) dans les mêmes conditions que la propolis. Les résultats sont exprimés en mg équivalent de quercétine EQ/g d'extrait.

V.3. Étude de l'activité antioxydante

L'activité antioxydante de la propolis a été effectuée par le test au 2,2-diphényl-2-picrylhydrazyl (DPPH) selon la méthode de **(Nicklisch & Waite, 2014)**. Mélanger 1ml d'extrait à différentes concentrations avec 1 ml de solution de DPPH (6.10^{-3} M). Le mélange réactionnel a été agité et incubé à l'obscurité dans une température ambiante. La lecture de l'absorbance a été effectuée à 517nm. Et l'activité antiradicalaire est exprimée en EC_{50} ; qui la concentration efficace qui peut être inhiber et/ou neutraliser 50% du radicale DPPH.

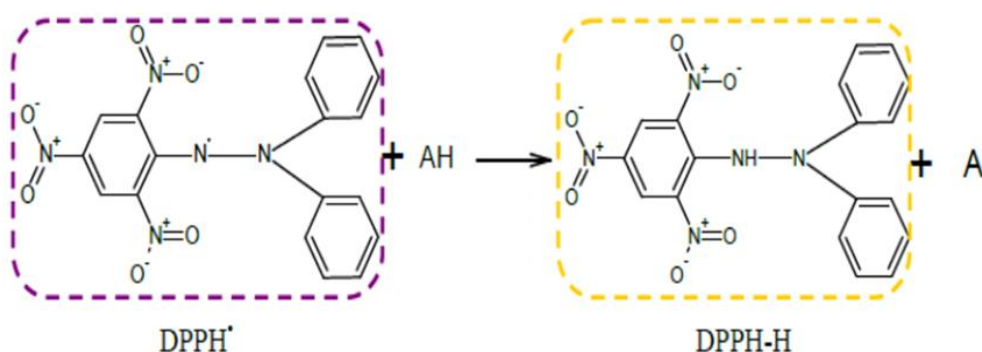


Figure 8. Mécanisme réactionnel implique lors du test de DPPH; dans une réaction de réduction par l'intervention d'un antioxydant AH **(Alam et al., 2013)**.

L'expression des résultats a été effectué en utilisant la formule suivante ;

$$\text{PA}_{\text{oxy}} (\%) = (A_0 - A_s) / A_0 \cdot 100\%$$

PA_{oxy} = le pouvoir antioxydant exprimé en %.

A_0 = Absorbance « ou la densité optique (DO) » du contrôle et A_S = Absorbance de l'extrait.

V.4. Étude de l'activité antibactérienne

L'activité antibactérienne de la propolis brute a été déterminée par un test de diffusion sur milieu solide à travers de l'utilisation des disques en papier whattman et des puits suivant à la méthode de **(Al Akeel et al., 2014)**.

Elle permet de définir l'activité inhibitrice de la croissance bactérienne par la mesure du diamètre d'inhibition autour de disque et/ou puits. D'abord, 38g d'agar de test à haute sensibilité ont été dissous dans 1000ml d'eau distillée et autoclavés à 121°C pendant 15 minutes. Avant de transférer ce milieu dans des boîtes de Petri stérilisées, on l'a laissé refroidir, puis on l'a versé dans les boîtes de Petri et on l'a laissé se solidifier. Ensuite, il est ensemencé avec de la culture activée à l'aide d'écouvillons. Et les puits sont créés à l'aide d'un agar Borer stérile, pour lesquels ont été remplis en ajoutant 50 microlitres de propolis et l'incubation a été faite à 37°C pendant 12-24 h. Trois répétitions ont été effectuées pour chaque échantillon. Par contre, la méthode de disques qu'on les dépose soigneusement sur la surface gélifiée, et ont été remplis en ajoutant juste 25microlitres de propolis.

La propolis ayant une activité antibactérienne qui inhibent la croissance bactérienne remarquable par des zones claires qui se forment. La zone d'inhibition a été mesurée en millimètres. De façon générale la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) est la plus faible concentration capable d'inhiber toute croissance visible après un temps d'incubation de 18 à 24 h.

Chapitre VI.

Résultats & Discussion

Résultats & Discussion

VI.1. Dosage des polyphénols totaux

L'estimation de la teneur en polyphénols dans la propolis ,être définir par la méthode de folin-ciocalteu, qui avoir réalisé par une analyse quantitative de spectrophotométrie UV-VIS.

La figure ci-dessous, représente la droite de régression « courbe d'étalonnage. Alors, la quantité des polyphénols présentes dans la propolis sera rapportées en milligrammes équivalent d'acide gallique « EAG »/gramme d'extrait.

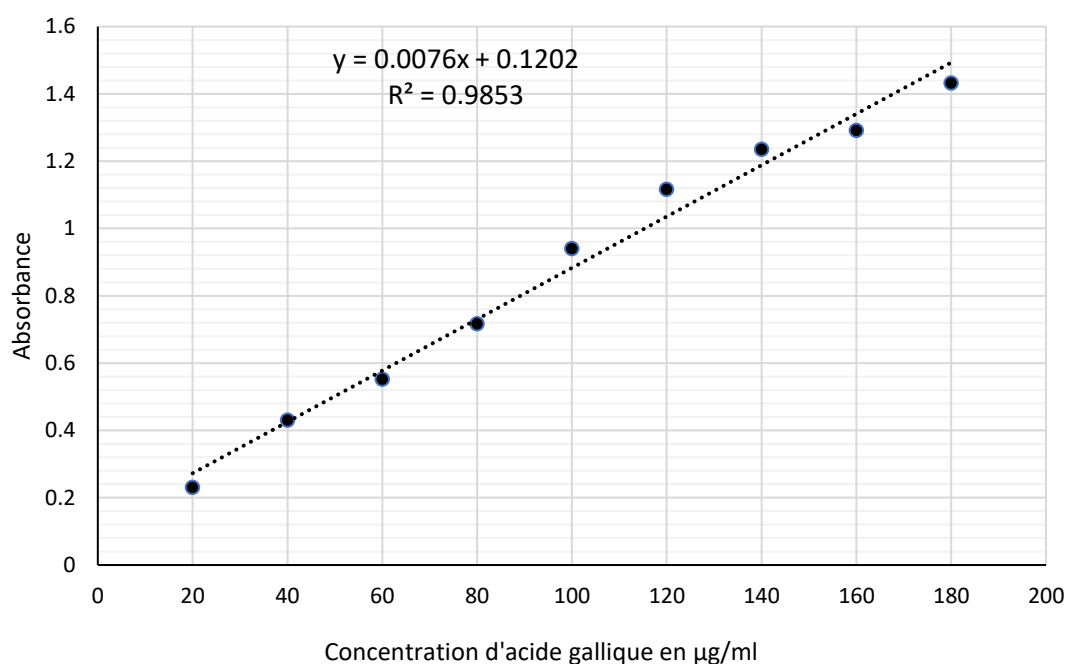


Figure 9 . Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

VI.2. Dosage des flavonoïdes totaux

La détermination de la teneur en flavonoïdes totaux ,se fait par un dosage spectrophotométrique à travers la méthode d' AlCl_3 , qui a été rapportée en milligramme d'équivalent Quercitine /gramme d'extrait. La figure suivante constitue la droite de régression qui peut être estimer la teneur en flavonoïdes de la propolis.

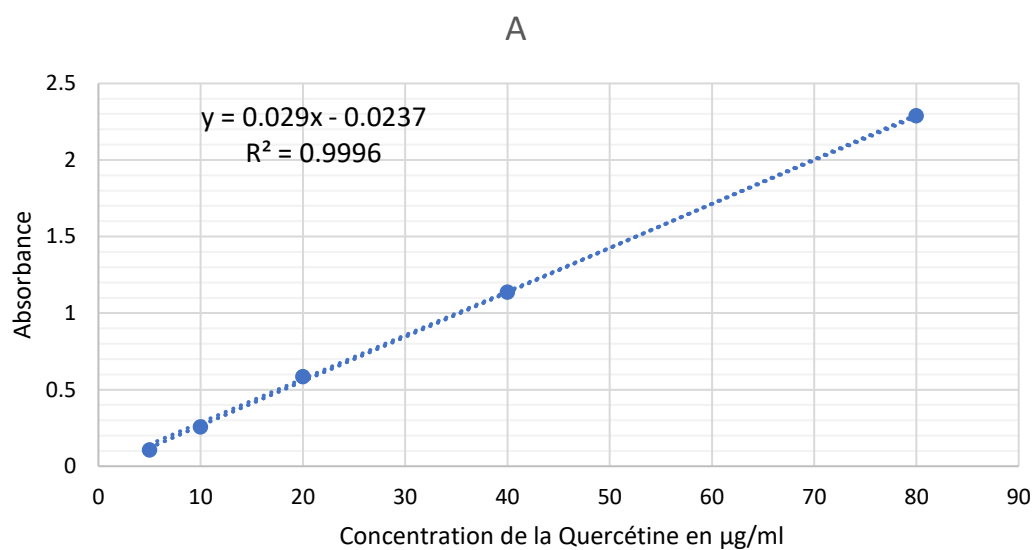


Figure 10. La courbe d'étalonnage de la Quercétine

Les résultats statistiques se présentent dans le tableau statistique suivant :

Tableau 1. Analyse quantitative de la solution de propolis

Polyphénols	Flavonoïdes
en mgEAG/g E	en mg EQ/ g E
168.96±0.06	62.89±0.26

Dans la présente étude, les teneurs totales en polyphénols et en flavonoïdes de propolis Algérienne localisée à la région de Bordj-Bou-Argeridj ont été évaluées à travers les méthodes de folin-ciocalteu et de l' AlCl_3 respectivement, en comparant avec d'autres échantillons qui ont été récoltés dans différentes zones géographiques que ce soit locale ou internationale.

D'une part, Une étude sur quelques types de propolis commerciales a été récoltée dans différentes régions à l'ouest d'Algérie a été faite par Debab *et al.*, (Debab *et al.*, 2017) montre que; les teneurs en polyphénols et en flavonoïdes dépendent à leur emplacement géographiques qui sont estimées comme suite : la teneur en polyphénols d'une propolis d'extrait commerciale de Beni-talla est (220.44±7.04mgEAG/g). Tandis que, les teneurs en flavonoïdes varient entre (137.08±10.01mgEQ/g) de propolis de Beni-talla par rapport que celle d'échantillon de Sidi-Dahou (163.68±0.73mgEQ/g). Ces résultats sont véritablement

supérieure que nous avons trouvé dans notre expérience qui sont respectivement : $(168.964 \pm 0.060 \text{ mgEAG/g})$ et $(62.898 \pm 0.260 \text{ mgEQ/g})$ de teneur en polyphénols et celle de flavonoïdes. Alors que, les échantillons de propolis qui sera récoltés dans le nord-est de l'Algérie (la région de Annaba) démontrent que leurs composés polyphénoliques sont très intéressants, car la quantité des polyphénols totaux varie entre $(100.90 \pm 2.72) \text{ mgEAG/g}$ et $(257.40 \pm 3.01) \text{ mgEAG/g}$. Ainsi que la quantité en flavonoïdes totaux varie entre $(58.99 \pm 2.46) \text{ mgEQ/g}$ et $(91.44 \pm 4.42) \text{ mgEQ/g}$ (Nedji & Loucif-Ayad, 2014). Ces valeurs sont presque significativement proportionnelles à les résultats obtenus dans le tableau 1.

D'autre part, au niveau internationale, les travaux de Daleprane & Abdalla, (2013) montrent que l'échantillon Brésilien de propolis est enrichi en polyphénols et en flavonoïdes avec une quantité en suspens, qui sont représentées respectivement par : $(315.0 \pm 2.6 \text{ mgEAG/g})$ et $(306.0 \pm 2.9 \text{ mgEQ/g})$. Ces résultats sont nettement supérieurs que les résultats du tableau 1. Même si que pour l'échantillon coréenne qui a été représentée par $(283.0 \pm 5.0 \text{ mgEAG/g})$ et $(136.0 \pm 9.0 \text{ mgEQ/g})$, ce sont des teneurs en polyphénols et en flavonoïdes respectivement (Ahn *et al.*, 2004).

Tandis que, les résultats obtenus par Laskar *et al.*, (Laskar *et al.*, 2010) impliquant dans la propolis indienne. Ce qui est relativement faible, qui a été représentée par : la valeur $(159.10 \pm 0.26 \text{ mgEAG/g})$ par rapport que nos résultats.

L'extrapolation de l'absorbance des polyphénols totaux sur la courbe d'étalonnage d'acide gallique montre que la propolis qui a été récoltée de différentes régions mondiales est très riche en polyphénols et en flavonoïdes avec des teneurs seront importantes. Ce dernier peut être dépendre selon le type d'extraction, c'est-à-dire le temps d'extraction et le solvant utilisé pour l'extraction (la polarité du solvant) peuvent influencer, car la teneur en polyphénols totaux est élevée lorsque l'on utilise des solvants très polaires pour l'extraction. Par conséquent, plusieurs études ont révélé que les solvants apolaires donnaient des rendements inférieurs à ceux des solvants polaires, étant donné que ces derniers ont la capacité de briser les parois cellulaires, ce qui permet la sortie des métabolites secondaires qui sont piégés à l'intérieur des cellules. Alors que, les solvants non polaires n'ont pas la capacité d'extraire la quantité maximale de composés bioactifs, parce qu'ils ne sont pas une miscibilité avec l'eau décrite par Benslama (Benslama *et al.*, 2021).

La méthode de Folin-Ciocalteu reste une fiable méthode pour construire la richesse de polyphénols dans la propolis, parce que le réactif Folin-Ciocalteu est extrêmement sensible à

la réduction de tous les groupes d'hydroxyles non seulement celles des composés phénoliques, mais également de certains sucres et de protéines etc. **(Vuorela, 2005)**.

D'une autre façon, la biodiversité des échantillons de propolis est responsable d'une grande variabilité physico-chimiques influençant l'extraction des polyphénols, ainsi que leur solubilité **(Mahmoudi et al., 2013)**.

La propolis contient des métabolites secondaires de plantes, y compris des substances volatiles, les plus connues sont : les polyphénols et les flavonoïdes, qui sont produits par différentes espèces de plantes mais ils ne sont pas les mêmes partout dans le monde. La spécificité de la flore ainsi que la faune du site de collecte influencent la détermination de la composition chimique de la propolis, y compris les composés volatils dans différents écosystèmes, car les abeilles collectent la propolis à partir de différentes matières végétales, qu'elles mélangent à de la cire. Le terme "propolis" n'a donc pas de connotation chimique spécifique, contrairement au nom scientifique d'une espèce végétale **(Bankova et al., 2014)**. Les composés phénoliques jouent un rôle vital afin de guérir différentes maladies en raison de leurs effets synergiques **(Nguyen et al., 2020)**.

Jusqu'à présent, plus de 180 composés, principalement des polyphénols, ont été identifiés comme constituants de la propolis. Les principaux polyphénols sont des flavonoïdes, accompagnés d'acides et d'esters phénoliques, d'aldéhydes phénoliques, de cétones, etc. Les autres composés de la propolis sont les huiles volatiles et les acides aromatiques, les cires, les résines, les baumes et les grains de pollen qui sont une riche source d'éléments essentiels tels que le magnésium, le nickel, le calcium, le fer et le zinc. La composition chimique de la propolis a été clarifiée dans une certaine mesure, mais un problème subsiste, à savoir la variabilité frappante de sa composition chimique de propolis, cette variabilité dépend de leur site de collecte **(Castaldo & Capasso, 2002)**.

VI.3. Activité antioxydante de la propolis

Nos échantillon utilisé dans ce test a pour but d'évaluer l'activité biologique à la base d'un essai *in vitro* à partir le test de piégeage le radical : 2,2-diphényl-1picrylhydrazyle (DPPH). Ce test montre que la propolis est un bon donneur d'hydrogène, capable de piéger les radicaux (DPPH $\cdot$). Ce qui est une méthode qui se caractérise par leur simplicité, dans laquelle en mesurant le pouvoir antiradicalaire d'une molécule antioxydante en fonction du changement de couleur violette, en donnant un atome d'hydrogène afin de neutraliser l'espèce radicalaire DPPH. Le pouvoir d'inhibition du radical DPPH en fonction de la concentration de propolis a été fait à l'aide d'un témoin Butyl hydroxy toluène (BHT)**(Ahmad et al., 2013)**. À toutes

les concentrations testées, un pouvoir important pour inhiber le radicale (DPPH) à teinte sa couleur violette en couleur jaune, grâce à la méthode spectrophotométrique qui permet de mesurer l'intensité de couleur à 517nm. (Dieng *et al.*, 2017).

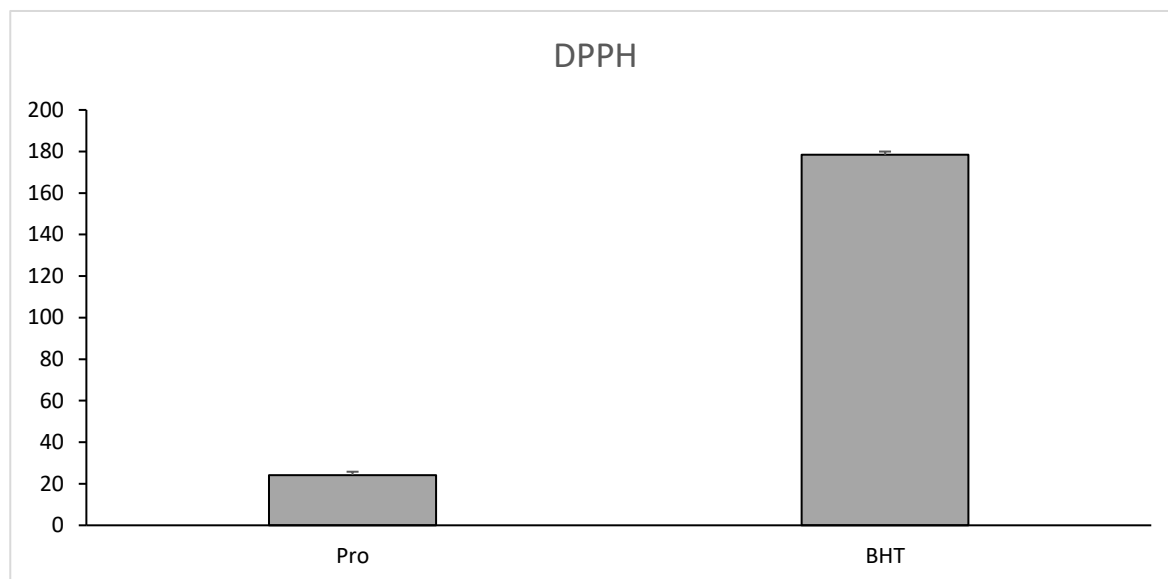


Figure 11. Activité antiradicalaire de la propolis par rapport le BHT.

Nos résultats ont été exprimés par la mesure de EC_{50} qui est la concentration de l'échantillon nécessaire pour inhiber 50% de concentration du DPPH. Sachant que la valeur EC_{50} est inversement proportionnelle au pouvoir antioxydant, c'est-à-dire plus l' EC_{50} est faible plus l'activité antioxydante du composés polyphénoliques sera importante.

L'activité de piégeage des radicaux libres DPPH de la propolis est illustrée à la figure 11. Qui a montré que la propolis présentait les meilleurs enregistrements d'activité anti-radicalaire, qui sera estimée par : ($EC_{50} = 24.22 \pm 1.59$)mg/ml. En comparant à celle du témoin BHT qui représenté par : $EC_{50}(178.38 \pm 0.01)$ mg/ml. La cinétique d'activité antiradicalaire de propolis est proportionnelle de sa concentration.

Osés *et al.*, montrent que l'activité antioxydante de la propolis est liée à son origine, ainsi qu'à sa richesse en composés phénoliques. Elles pourraient jouer un rôle physiologique important en raison de leur capacité à de piéger les radicaux hydroxyles et superoxydes liés aux dommages cellulaires et aux maladies qui en découlent.(Osés *et al.*, 2020).

Dans la conformation structurelle de l'antioxydant et le radicale DPPH se définis par le mode de réaction entre eux-ci peuvent être agir dans la réduction au niveau de groupement hydroxyles. Ces résultats montrent que la propolis riche en molécules antioxydantes, en particulier les polyphénols qui peuvent réduire et décolorer ces radicaux, en libérant

l'hydrogène. L'activité antioxydante de propolis est liée à sa composition chimique, aux groupement fonctionnels (Gülcin, 2012).

La capacité de piégeage des radicaux (DPPH[•]) à travers des antioxydants naturels, tels que les composés polyphénoliques et les flavonoïdes peut être attribuer à leur hydroxylation, ça veut-dire au niveau leurs anneaux hydroxyle. Dont la disposition spatiale et le nombre de groupes OH dans les structures des flavonoïdes peuvent influencer sur les différents effets antioxydants. Qui peuvent affecter les différents mécanismes antioxydants (Floegel *et al.*, 2011).

Les données de la littérature indiquent que l'activité antioxydante est associées à la teneur totale en composés phénoliques. En outre, la substitution d'atome d'hydrogène d'un groupe hydroxyle par un groupe méthyle influence l'activité antioxydante de manière différente, en fonction de la polarité de l'environnement dans lequel l'activité antioxydante est étudiée. Les dérivés di-hydroxylés de l'acide benzoïque présentent des propriétés antioxydantes les plus puissantes, lorsque les groupements hydroxyles apparaissant en position 3, 4 et 5, seront déterminés une activité antioxydante élevée (Hernández *et al.*, 2018).

L'activité antioxydante a été citée comme étant donné que le développement lié à la capacité de réduction. Les antioxydants transforment les radicaux réactifs en espèces plus stables en leur fournissant des électrons. La capacité de réduction est un paramètre clé pour l'estimation de l'effet antioxydant. (Benslama *et al.*, 2021).

Les propriétés thérapeutiques de propolis confèrent que la capacité pour lutter combattre les effets nocifs de ces radicaux *in vivo* . Dont l'aptitude à protéger les lipides membranaires, contre la détérioration en arrêtant la réaction en chaîne de la peroxydation des biomolécules (Woźniak *et al.*, 2023).

VI.4. Évaluation de l'activité antibactérienne

La présente étude porte sur l'évaluation de l'activité antibactérienne de propolis Algérienne. L'échantillon sera testé afin d'estimer leur pouvoir antibactérien à travers la technique de diffusion sur milieux solide qui se réalise sur cinq souches bactériennes de deux types différents. Ses souches ont été isolées par des prélèvements pathologiques, qui sont les suivants : *E. coli*, *P. aeruginosa*, *E. cloacae*, *S. épidermis*, *S. aureus*.

L'activité antibactérienne est évaluée par la mesure des diamètres des zones claires (mm) qui se forment autour des puits et disques ($\emptyset$ du disque ou puits sont inclus, 6 mm). La sensibilité des bactéries testées envers la propolis est classée selon les diamètres des halos d'inhibition :

$\varnothing < 8$ mm : non sensible ; $9 < \varnothing < 19$ mm : sensible et $\varnothing > 20$ mm : extrêmement sensible. En utilisant le DMSO comme un témoin négatif (qui n'arrive aucun effet toxique la croissance normale des souches bactériennes). La figure ci-dessous qui la confirme ;

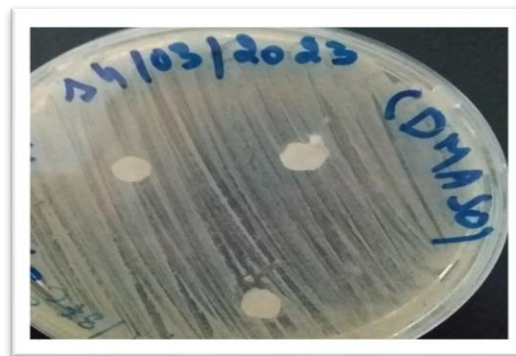
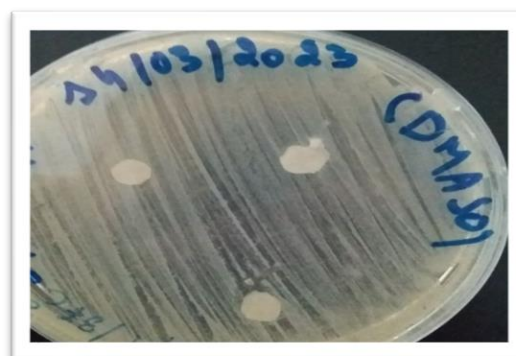
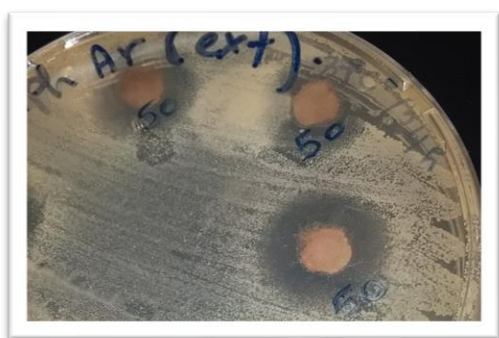
*E. cloacae**S. aureus**P. aeruginosa**S. épidermis**E. coli*

Figure 12. Effet du DMSO sur les bactéries étudiés

Les antibiotiques de référence (azithromycine, Natrilix, amoxicilline, Pénicilline) ont été utilisés comme un contrôle positif. Les diamètres des zones d'inhibition des bactéries testées sont mesurés et résumés dans le tableau ci-dessous ;

Tableau 2. Diamètres des zones d'inhibitions en mm en présence de l'activité antibactérienne de propolis.

		<i>S. épidermis</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>E. cloacae</i>
Par puits		11.8±2.1	23.5±4.0	12.6±0.3	14.5±1.0	15.5±1.8
Par disques		15.0±1.0	16.3±1.1	11.1±0.1	12.2±2.23	12.9±10.3
Antibiotiques	Pénicilline	40	0	0	0	0
	Amoxicilline	30	0	0	0	0
	Natrilix	26.3	29	30.6	27.2	24
	Azithromycine.	0	28.3	40	24.6	31



S. aureus



E. cloacae

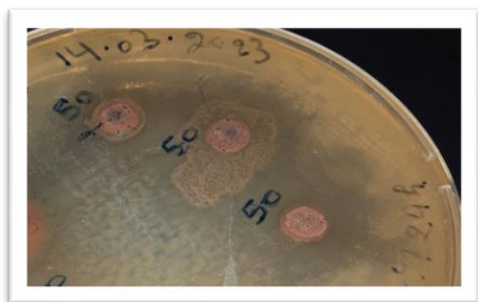
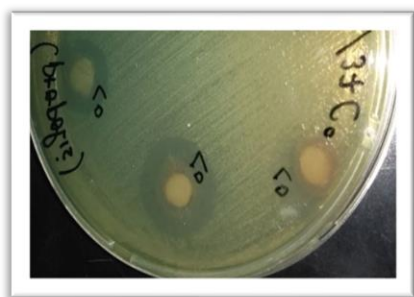
*S. épidermis**E. coli**P. aeruginosa*

Figure 13. Zones d'inhibition du pouvoir antibactérien de propolis sur la croissance bactérienne en millimètres de diamètres.

Selon les résultats résumés dans le tableau 3, qu'il nettement apparaît que la propolis montre un effet inhibiteur significatif sur la croissance des bactéries de gram⁺ que les gram⁻, d'une concentration :50 mg/ml. Il sera mené par les résultats suivants :

Les résultats obtenus dans le tableau 1, montrent que les souches *S. aureus*, *S. épidermis* de gram⁺ qui a été estimé respectivement par la présence d'une zone d'inhibition autour de puits: (23.5±4.0)mm, (11.8±2.1)mm., sont extrêmement sensibles que la souche de gram⁻ (*E. cloacae*, *P. aeruginosa*, *E. coli*) qui sera estimée respectivement par : (15.5±1.8)mm, (14.5±1.0)mm, (12.6±0.3)mm, qui ont été sensibles. Donc la sensibilité des souches bactériennes varie d'une souche à l'autre en fonction de la résistance de chaque espèce.

Silici & Kutluco (2005) démontrent que la propolis contient plus de 48 composés ont été identifiés pour la première fois qui sont respectivement : les acides phénoliques, les flavonoides, les acides aromatiques, les esters...etc. Ces derniers ont des propriétés antibactériennes intervenant dans l'apparition d'un effet toxique remarquable chez les germes gram positives notamment les *S. aureus* que les germes gram négatives notamment *E. coli* et

P. aeruginosa. Qui peut être indiquer que la propolis représente un agent bactéricide fort peut affecter la croissance bactérienne par une inhibition spécifique de la synthèse protéique normale. Alors, la propolis sert à traverser la membrane externe puis la membrane cytoplasmique des bactéries. Dans le cas d'une bactérie à Gram positif, la pénétration s'effectue à travers les interstices du peptidoglycane (Silici & Kutluca, 2005).

les travaux de Seidel et son collaborateurs en 2008, sur quarante échantillons de propolis dérivés de quelques régions au monde afin d'estimer l'activité antibactérienne sur des germes pathogènes de gram positives et/ou négatives. En confirmant alors qu'il y a aucune activité n'a été observée contre les germes gram⁻ dans l'échantillon africains. Tandis que, chez les germes de gram⁺, ils ont remarqué des degrés variables. Dans l'ensemble des données appuyées le fait que la propolis est active principalement contre les gram⁺ en bon accord avec les rapports de la littérature qui indiquent que les gram- sont faiblement sensibles. Ce qui suggère que la résistance des bactéries gram⁻ pourrait être due à la présence des pompes à efflux empêchant l'entrée intracellulaire de constituants de propolis (Seidel *et al.*, 2008).

En outre, l'effet antibactérien de propolis est faible sur les germes négatives peut être expliqué par le fait que la propolis contient principalement des constituants de résines d'origine végétales et que les résines sécrétées par les abeilles pour protéger la ruche contre les pathogènes de gram positifs (Dixon, 2001; Garedew *et al.*, 2004). Il a également été rapporté que les abeilles infectées par le varroa (un parasite commun qui peut détruire la ruche) abritent principalement des bactéries à Gram-positives (Bendel, 2002). Cela pourrait être une autre raison de l'activité sur les bactéries Gram-positives et de l'utilisation de la propolis comme antiseptique dans la ruche.

Des articles récents font état de la présence régulière d'une activité antibactérienne parmi les flavonoïdes ; La myricétine présentant la meilleure activité inhibitrice, qui peut définir comme un agent bactéricide capable de minimiser la résistance des bactéries gram⁻ le plutôt possible. À partir des essais d'incorporation de [3H]-thymidine et de [3H]-serine ont évalué la myricétine sur *B. cepacia* (un groupe de bactéries Gram-négatif) au niveau de l'ADN et la synthèse protéique. Ces résultats donnent à penser que la myricétine n'a aucun effet sur la synthèse de l'ADN, mais qu'elle inhibe la synthèse des protéines par *B. cepacia*. Ce mode d'action peut expliquer l'effet bactéricide de la myricétine (Xu & Lee, 2001).

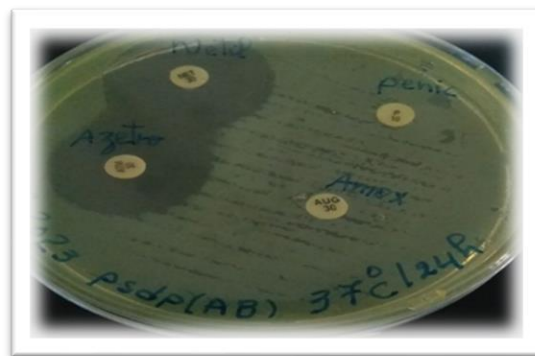
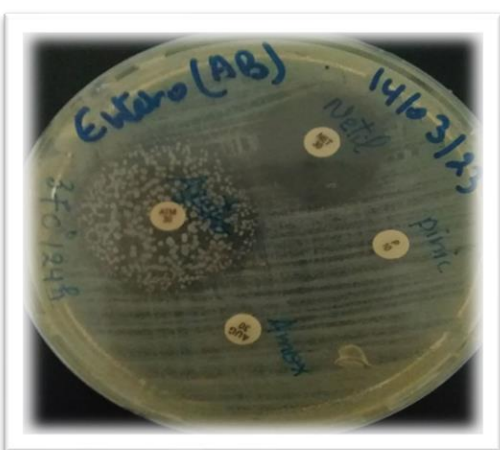
*E. coli**P. aeruginosa**S. épidermis**S. aureus**E. cloacae*

Figure 14. Zones d'inhibition de certains antibiotiques en millimètres de diamètres

Toutes les souches sont extrêmement sensibles à l'efficacité médicamenteuse de l'antibiotique Natrilix, qui sont respectivement représentés par : 30.6, 29mm, 27.2mm, 26.3et 24 de diamètre

de zones d'inhibition. Ces résultats peuvent confirmer que le natrilix est le principal bactéricide très fort.

La seconde classe, c'est ; l'azithromycine qui a la capacité à inhiber la croissance des bactéries à gram négative que celles à gram positive, avec des diamètres de : (40, 24.6, 31)mm sauf la souche *S.épidermis* de type gram positive qui est relativement résistante à celui-ci.

La dernière classe qui représente la pénicilline et l' amoxicilline qui n'arrive rien d'effet inhibiteur sur les germes pathogènes sauf la souche *S. épidermis* qui est extrêmement sensible avec des diamètres de zones inhibitrices représentées respectivement : 40 et 30mm de diamètre.

Ces résultats démontrent que les antibiotiques sont des molécules qui peuvent interagir spécifiquement avec n'importe quelle espèce bactérienne.

Parmi Les principaux types de mécanismes biochimiques utilisés par les bactéries pour se défendre contre l'action de tels antibiotiques sont les suivants : diminution de l'absorption, modification et dégradation enzymatique, altération des protéines de liaison à la pénicilline (PBP), efflux, cible altérée et surproduction pénicillines, céphalosporines, monobactames et carbapénèmes. Les β -lactamases à sérine - céphalosporinases, sont présentés chez *Enterobacter spp.* et *P. aeruginosa* et les pénicillases chez *S. aureus* décrit par **(Fernández-Billón et al., 2023; Thomson & Bonomo, 2005).**

Les métallo- β -lactamases (MBL) présentes chez *P. aeruginosa*, *E. coli*, et *Enterobacter spp.* ont le même rôle que les β -lactamases à sérine et sont responsables de la résistance à l'imipénème, aux céphalosporines de nouvelle génération aux pénicillines. Les MBL sont résistantes aux inhibiteurs des β -lactamases mais sensibles à l'aztréonam décrit par **(Giedraitienė et al., 2011).**

En ravanche, une meilleure gestion des antibiotiques devrait contribuer à réduire le taux de pertes futures, mais la durée de vie des antibiotiques est limitée, même en cas d'utilisation prudente, ce qui n'exclut pas la nécessité de nouveaux médicaments anti-infectieux. Les produits biologiques peuvent réduire notre dépendance à l'égard des antibiotiques et la pression sélective en faveur de la résistance mais plusieurs limites les empêchent de remplacer les médicaments antibactériens décrit par **(Cushnie et al., 2014).**

Conclusion & Perspective

Conclusion & Perspective

Afin de limiter les effets secondaires de la majorité des médicaments. La recherche scientifique sert à découvrir des substances naturelles qui les remplacent, sans faire des effets délétères le plutôt possible. La propolis reste une source fiable qui comporte une large gamme de composés bioactifs connus par leurs propriétés thérapeutiques, sachant que leurs principes actifs sont généralement dépourvus aux effets indésirables à des doses bien définies.

Ce travail avait pour objectif d'évaluer les activités antioxydantes et antibactériennes de propolis Algérienne. D'abord, une analyse quantitative et qualitative sert à évaluer le contenu des polyphénols totaux qui sera adapté par la méthode de Folin-Ciocalteu révèle la présence des quantités moyennement importantes en polyphénols. De même à travers d'un dosage des flavonoïdes par la méthode d' AlCl_3 distingue que la propolis contient une quantité considérable de flavonoïdes. L'activité antiradicalaire de propolis a été estimée par un test de piégeage de l'espèce radicalaire DPPH $\cdot$, dont les résultats montrent que la propolis possède une bonne activité. Alors elle contient des molécules qui sont considérées comme des agents antioxydants de première classe qui peuvent être employées dans plusieurs applications thérapeutiques, sachant que les antioxydants contribuent de manière très efficace à la prévention des maladies telles que le cancer, et les maladies cardiovasculaires ainsi que le vieillissement précoce. Ensuite, une étude également évaluée dans le but d'exporter l'effet antibactérien vis-à-vis sur cinq souches bactériennes différentes, les résultats microbiologiques ont montré que la propolis possède une action importante sur ces espèces.

La propolis est l'un des rares produits naturels qui a maintenu reconnue de sa popularité depuis longtemps. Comme nous l'avons vu ici, la propolis contient un large éventail de composés qui peuvent être utiles dans le traitement de différentes conditions pathologiques. En fait, il y a beaucoup de littérature qui traite des propriétés biologiques *in vitro* de la propolis. La longue histoire de l'emploi de la propolis et son profil d'innocuité font de la propolis un candidat potentiel pour la découverte de médicaments qui peuvent être utiles dans plusieurs scénarios cliniques. Néanmoins, il est nécessaire de faire un effort pour normaliser la composition de la propolis, car il semble que les propriétés biologiques et la composition chimique soient non seulement variables, mais aussi étroitement liées.

Références

Bibliographiques

Références bibliographiques

- Afonso, V., Champy, R., Mitrovic, D., Collin, P., & Lomri, A. (2007). Radicaux libres dérivés de l'oxygène et superoxydes dismutases: rôle dans les maladies rhumatismales. *Revue du rhumatisme*, 74(7), 636-643.
- Ahangari, Z., Naseri, M., & Vatandoost, F. (2018). Propolis: Chemical composition and its applications in endodontics. *Iranian endodontic journal*, 13(3), 285.
- Ahmad, N., Fazal, H., Abbasi, B. H., Anwar, S., & Basir, A. (2013). DPPH free radical scavenging activity and phenotypic difference in hepatoprotective plant (*Silybum marianum* L.). *Toxicology and industrial health*, 29(5), 460-467.
- Ahn, M.-R., Kumazawa, S., Hamasaka, T., Bang, K.-S., & Nakayama, T. (2004). Antioxidant activity and constituents of propolis collected in various areas of Korea. *Journal of agricultural and food chemistry*, 52(24), 7286-7292.
- Al Akeel, R., Al-Sheikh, Y., Mateen, A., Syed, R., Janardhan, K., & Gupta, V. (2014). Evaluation of antibacterial activity of crude protein extracts from seeds of six different medical plants against standard bacterial strains. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 21(2), 147-151.
- Alam, M. N., Bristi, N. J., & Rafiquzzaman, M. (2013). Review on *in vivo* and *in vitro* methods evaluation of antioxidant activity. *Saudi pharmaceutical journal*, 21(2), 143-152.
- Al-Waili, N., Hozzein, W. N., Badr, G., Al-Ghamdi, A., Al-Waili, H., Al-Waili, T., & Salom, K. (2015). Propolis and bee venom in diabetic wounds; a potential approach that warrants clinical investigation. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, 12(6), 1-11.
- Amorati, R., & Valgimigli, L. (2015). Advantages and limitations of common testing methods for antioxidants. *Free radical research*, 49(5), 633-649.
- Aurousseau, B. (2002). Les radicaux libres dans l'organisme des animaux d'élevage: conséquences sur la reproduction, la physiologie et la qualité de leurs produits. *INRAE Productions Animales*, 15(1), 67-82.
- Bankova, V., Popova, M., & Trusheva, B. (2014). Propolis volatile compounds: chemical diversity and biological activity: a review. *Chemistry Central Journal*, 8(1), 1-8.
- Bahorun, T., Aumjaud, E., Ramphul, H., Rycha, M., Luximon-Ramma, A., Trotin, F., & Aruoma, O. I. (2003). Phenolic constituents and antioxidant capacities of *Crataegus monogyna* (Hawthorn) callus extracts. *Food/Nahrung*, 47(3), 191-198.
- Baudin, B. (2020). Stress oxydant et protections antioxydantes. *Revue Francophone des Laboratoires*, 2020(522), 22-30.

- Bendel, J. L. (2002). Characterisation of the normal flora of honeybee hives in Central Wisconsin. *Univ Wisconsin-La Crosse J Undergrad Res*, 437, 441.
- Benslama, A., Daci, S., Nabti, L. Z., Bendif, H., & Harrar, A. (2021). Assessment of polyphenols contents, antibacterial and antioxidant activities of *Origanum majorana* extracts. *European Journal of Biological Research*, 11(4), 509-518.
- Beveridge, T. J. (2001). Use of the Gram stain in microbiology. *Biotechnic & Histochemistry*, 76(3), 111-118.
- Bhargava, P., Mahanta, D., Kaul, A., Ishida, Y., Terao, K., Wadhwa, R., & Kaul, S. C. (2021). Experimental evidence for therapeutic. 13(8),2-3. 2528.
- Bhargava, P., Mahanta, D., Kaul, A., Ishida, Y., Terao, K., Wadhwa, R., & Kaul, S. C. (2021). Experimental evidence for therapeutic. 13(8),12-14. 2528.
- Béguel, J.-P. (2012). Étude de la capacité antioxydante en lien avec la reproduction chez l'huître creuse *Crassostrea gigas* Brest].
- Behera, S. (2013). *Physiochemical and Microbial Analysis of Soil and Water of Dhobiajharan Village (Proposed Coal Mine Site-Tubed)*
- Belščak-Cvitanović, A., Durgo, K., Huđek, A., Bačun-Družina, V., & Komes, D. (2018). Overview of polyphenols and their properties. In *Polyphenols: Properties, recovery, and applications* (pp. 3-44). Elsevier.
- Biswas, B., Basu, P., & Pal, M. (1970). Gram staining and its molecular mechanism. *International review of cytology*, 29, 1-27.
- Bouyahya, A., Bakri, Y., Et-Touys, A., Talbaoui, A., Khouchlaa, A., Charfi, S., Abrini, J., & Chira, K., Suh, J.-H., Saucier, C., & Teissedre, P.-L. (2008). PolyphEnols raisin. *Phytotherapy*, 6(2), 75-82.
- Braakhuis, A. (2019). Evidence on the health benefits of supplemental propolis. *Nutrients*, 11(11), 2705.
- Castaldo, S., & Capasso, F. (2002). Propolis, an old remedy used in modern medicine. *Fitoterapia*, 73, S1-S6.
- Cadenas, E., & Davies, K. J. (2000). Mitochondrial free radical generation, oxidative stress, and aging. *Free Radical Biology and Medicine*, 29(3-4), 222-230.
- Chandrasekara, A., & Shahidi, F. (2010). Content of insoluble bound phenolics in millets and their contribution to antioxidant capacity. *Journal of agricultural and food chemistry*, 58(11), 6706-6714.
- Chira, K., Suh, J.-H., Saucier, C., & Teissèdre, P.-L. (2008). Les polyphénols du raisin. *Phytothérapie*, 6(2), 75-82.

- Cheynier, V. (2005). Polyphenols in foods are more complex than often thought. *The American journal of clinical nutrition*, 81(1), 223S-229S.
- Cushnie, T. T., & Lamb, A. J. (2005). Antimicrobial activity of flavonoids. *International journal of antimicrobial agents*, 26(5), 343-356.
- Cushnie, T. T., Cushnie, B., & Lamb, A. J. (2014). Alkaloids: An overview of their antibacterial, antibiotic-enhancing and antivirulence activities. *International journal of antimicrobial agents*, 44(5), 377-386.
- Da Cunha, M. G., Sardi, J. d. C. O., Freires, I. A., Franchin, M., & Rosalen, P. L. (2020). Antimicrobial, anti-adherence and antibiofilm activity against *Staphylococcus aureus* of a 4-phenyl coumarin derivative isolated from Brazilian geopropolis. *Microbial pathogenesis*, 139, 103855.
- Daleprane, J. B., & Abdalla, D. S. (2013). Emerging roles of propolis: antioxidant, cardioprotective, and antiangiogenic actions. *Evidence-based complementary and alternative medicine*, 2013.
- Daenen, K., Andries, A., Mekahli, D., Van Schepdael, A., Jouret, F., & Bammens, B. (2019). Oxidative stress in chronic kidney disease. *Pediatric nephrology*, 34, 975-991.
- Dakka, N. (2018). Résistance aux antibiotiques et mécanismes d'action des huiles essentielles contre les bactéries. *Phytothérapie*, 16(S1), S173-S183.
- Debab, M., Toumi-Benali, F., & Dif, M. (2017). Antioxidant activity of propolis of West Algeria. *Phytothérapie*, 15(4), 230-234.
- De Moffarts, B., Kirschvink, N., Pincemail, J., & Lekeux, P. (2005). Impact physiologique et pathologique du stress oxydant chez le cheval. *Annales de médecine vétérinaire*,
- De Souza Silva, T., Silva, J. M., Braun, G. H., Mejia, J. A., Ccapatinta, G. V., Santos, M. F. C., Tanimoto, M. H., Bastos, J. K., Parreira, R. L., & Orenha, R. P. (2021). Green and red Brazilian propolis: antimicrobial potential and anti-virulence against ATCC and clinically isolated multidrug-resistant bacteria. *Chemistry & Biodiversity*, 18(8), e2100307.
- Dieng, S. I. M., Fall, A. D., Diatta-Badji, K., Sarr, A., Sene, M., Sene, M., Mbaye, A., Diatta, W., & Bassene, E. (2017). Evaluation de l'activité antioxydante des extraits hydro-ethanoliques des feuilles et écorces de *Piliostigma thonningii* Schumach. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 11(2), 768-776.
- Dixon, R. A. (2001). Natural products and plant disease resistance. *Nature*, 411(6839), 843-847.
- Durazzo, A., Lucarini, M., Souto, E. B., Cicala, C., Caiazza, E., Izzo, A. A., Novellino, E., & Santini, A. (2019). Polyphenols: A concise overview on the chemistry, occurrence, and human health. *Phytotherapy Research*, 33(9), 2221-2243.

- Edwards, A. M., & Massey, R. C. (2011). How does *Staphylococcus aureus* escape the bloodstream. *Trends in microbiology*, 19(4), 184-190.
- Esimone, C., Iroha, I., Ibezim, E., Okeh, C., & Okpana, E. (2006). *In vitro* evaluation of the interaction between tea extracts and penicillin G against *Staphylococcus aureus*. *African Journal of biotechnology*, 5(11).
- Estévez, M. (2015). Oxidative damage to poultry: from farm to fork. *Poultry science*, 94(6), 1368-1378.
- Favier, A. (2003). Le stress oxydant. *L'actualité chimique*, 108(10), 863-832.
- Favier, A. (2006). Stress oxydant et pathologies humaines. *Annales pharmaceutiques françaises*, Fenchel, T., Blackburn, H., King, G. M., & Blackburn, T. H. (2012). *Bacterial biogeochemistry: the ecophysiology of mineral cycling*. Academic press.
- Fernández-Billón, M., Llambías-Cabot, A. E., Jordana-Lluch, E., Oliver, A., & Macià, M. D. (2023). Mechanisms of antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. *Biofilm*, 100129.
- Gardete, S., & Tomasz, A. (2014). Mechanisms of vancomycin resistance in *Staphylococcus aureus*. *The Journal of clinical investigation*, 124(7), 2836-2840
- Giedraitienė, A., Vitkauskienė, A., Naginienė, R., & Pavilonis, A. (2011). Antibiotic resistance mechanisms of clinically important bacteria. *Medicina*, 47(3), 19.
- Garedew, A., Schmolz, E., & Lamprecht, I. (2004). Microbiological and calorimetric investigations on the antimicrobial actions of different propolis extracts: an *in vitro* approach. *Thermochimica Acta*, 422(1-2), 115-124.
- 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.
- Gülcin, I. (2012). Antioxidant activity of food constituents: an overview. *Archives of toxicology*, 86, 345-391.
- Guo, J.-J., Hsieh, H.-Y., & Hu, C.-H. (2009). Chain-breaking activity of carotenes in lipid peroxidation: A theoretical study. *The Journal of Physical Chemistry B*, 113(47), 15699-15708.
- Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J.-O., Charlier, C., & Chapelle, J.-P. (2007). Le stress oxydant. *Revue médicale de Liège*, 62(10).
- Halliwell, B., & Gutteridge, J. M. (2015). *Free radicals in biology and medicine*. Oxford university press, USA.
- Harborne, J. B., & Williams, C. A. (2000). Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry*, 55(6), 481-504.

- Hernández, Z., Abraham, J., Cerón, G., Ozuna, L., Gutiérrez, C., Segoviano, G., & Avila, R. (2018). Flavonoids, phenolic content, and antioxidant activity of propolis from various areas of Guanajuato, Mexico. *Food Science and Technology (Campinas)*, 38(2), 210-215.
- Hu, L., Shi, Q., Shi, M., Liu, R., & Wang, C. (2017). Diagnostic value of PCT and CRP for detecting serious bacterial infections in patients with fever of unknown origin: a systematic review and meta-analysis. *Applied Immunohistochemistry & Molecular Morphology*, 25(8), e61-e69.
- Jones, K. E., Patel, N. G., Levy, M. A., Storeygard, A., Balk, D., Gittleman, J. L., & Daszak, P. (2008). Global trends in emerging infectious diseases. *Nature*, 451(7181), 990-993.
- Kehrer, J. P. (2000). The Haber–Weiss reaction and mechanisms of toxicity. *Toxicology*, 149(1), 43-50.
- Kim, K.-H., Tsao, R., Yang, R., & Cui, S. W. (2006). Phenolic acid profiles and antioxidant activities of wheat bran extracts and the effect of hydrolysis conditions. *Food chemistry*, 95(3), 466-473.
- Kurek-Górecka, A., Rzepecka-Stojko, A., Górecki, M., Stojko, J., Sosada, M., & Świerczek-Zięba, G. (2013). Structure and antioxidant activity of polyphenols derived from propolis. *Molecules*, 19(1), 78-101.
- Laskar, R. A., Sk, I., Roy, N., & Begum, N. A. (2010). Antioxidant activity of Indian propolis and its chemical constituents. *Food chemistry*, 122(1), 233-237.
- Lippolis, T., Cofano, M., Caponio, G. R., De Nunzio, V., & Notarnicola, M. (2023). Bioaccessibility and bioavailability of diet polyphenols and their modulation of gut microbiota. *International journal of molecular sciences*, 24(4), 3813.
- Lotfy, M. (2006). Biological activity of bee propolis in health and disease. *Asian Pac J Cancer Prev*, 7(1), 22-31.
- Lykkesfeldt, J., & Svendsen, O. (2007). Oxidants and antioxidants in disease: oxidative stress in farm animals. *The veterinary journal*, 173(3), 502-511.
- Mahmoudi, S., Khali, M., & Mahmoudi, N. (2013). Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (*Cynara scolymus* L.). *Nature & Technology*, (9), 35
- Manning, F. J., Bond, E. C., & Berns, K. I. (1996). Resource sharing in biomedical research.
- Marcucci MC. 1995. Propolis: chemical composition, biological properties and therapeutic activity. *Apidologie*. 26(2):83–99.
- Martinotti, S., & Ranzato, E. (2015). Propolis: a new frontier for wound healing? *Burns & trauma*, 3(1), 1-7.

- Matuszewska, E., Klupeczynska, A., Maciolek, K., Kokot, Z. J., & Matysiak, J. (2021). Multielemental analysis of bee pollen, propolis, and royal jelly collected in west-central Poland. *Molecules*, 26(9), 2415.
- Mercan, M. D. (2010). Le stress oxydatif. *ARL, Lausanne, Unilabs*. 76(9), 2812-2823.
- Miller, J., Brzezinska-Slebodzinska, E., & Madsen, F. (1993). Oxidative stress, antioxidants, and animal function. *Journal of dairy science*, 76(9), 2812-2823.
- Mishra, B., & Jha, R. (2019). Oxidative stress in the poultry gut: potential challenges and interventions. *Frontiers in veterinary science*, 6, 60.
- Millar, B. C., Xu, J., & Moore, J. E. (2007). Molecular diagnostics of medically important bacterial infections. *Current issues in molecular biology*, 9(1), 21-40.
- Miller, J., Brzezinska-Slebodzinska, E., & Madsen, F. (1993). Oxidative stress, antioxidants, and animal function. *Journal of dairy science*, 76(9), 2812-2823.
- Mirzoeva, O., Grishanin, R., & Calder, P. (1997). Antimicrobial action of propolis and some of its components: the effects on growth, membrane potential and motility of bacteria. *Microbiological Research*, 152(3), 239-246.
- Moskwa, J., Naliwajko, S. K., Markiewicz-Żukowska, R., Gromkowska-Kępka, K. J., Nowakowski, P., Strawa, J. W., Borawska, M. H., Tomczyk, M., & Socha, K. (2020). Chemical composition of Polish propolis and its antiproliferative effect in combination with *Bacopa monnieri* on glioblastoma cell lines. *Scientific Reports*, 10(1), 1-16.
- Moura-Alves, P., Puyskens, A., Stinn, A., Klemm, M., Gühlich-Bornhof, U., Dorhoi, A., Furkert, J., Kreuchwig, A., Protze, J., & Lozza, L. (2019). Host monitoring of quorum sensing during *Pseudomonas aeruginosa* infection. *Science*, 366(6472), eaaw1629.
- Mukai, K., Mitani, S., Ohara, K., & Nagaoka, S.-I. (2005). Structure–activity relationship of the tocopherol-regeneration reaction by catechins. *Free Radical Biology and Medicine*, 38(9), 1243-1256.
- Muylaert, A., & Mainil, J. (2013). Résistance bactériennes aux antibiotiques, les mécanismes et leur "contagiosité". *Annales de Médecine vétérinaire*,
- Nandi, A., Yan, L.-J., Jana, C. K., & Das, N. (2019). Role of catalase in oxidative stress-and age-associated degenerative diseases. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2019.
- 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.
- Negrean, O.-R., Farcas, A. C., Pop, O. L., & Socaci, S. A. (2023). Blackthorn—A Valuable Source of Phenolic Antioxidants with Potential Health Benefits. *Molecules*, 28(8), 3456.

- Nguyen, M., Nguyen, V., Minh, L., Trieu, L., Cang, M., Bui, L., Le, X., & Danh, V. (2020). Determination of the phytochemical screening, total polyphenols, flavonoids content, and antioxidant activity of soursop leaves (*Annona muricata* Linn.). *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*,
- Nicklisch, S. C., & Waite, J. H. (2014). Optimized DPPH assay in a detergent-based buffer system for measuring antioxidant activity of proteins. *MethodsX*, 1, 233-238.
- Olczyk, P., Komosinska-Vassev, K., Wisowski, G., Mencner, L., Stojko, J., & Kozma, E. M. (2014). Propolis modulates fibronectin expression in the matrix of thermal injury. *BioMed research international*, 2014.
- Olczyk, P., Wisowski, G., Komosinska-Vassev, K., Stojko, J., Klimek, K., Olczyk, M., & Kozma, E. M. (2013). Propolis modifies collagen types I and III accumulation in the matrix of burnt tissue. *Evidence-based complementary and alternative medicine*, 2013.
- Osés, S. M., Marcos, P., Azofra, P., de Pablo, A., Fernández-Muñoz, M. Á., & Sancho, M. T. (2020). Phenolic profile, antioxidant capacities and enzymatic inhibitory activities of propolis from different geographical areas: Needs for analytical harmonization. *Antioxidants*, 9(1), 75.
- Papachristoforou, A., Koutouvela, E., Menexes, G., Gardikis, K., & Mourtzinis, I. (2019). Photometric analysis of propolis from the island of Samothraki, Greece. The discovery of red propolis. *Chemistry & Biodiversity*, 16(7), e1900146
- Pasupuleti, V. R., Sammugam, L., Ramesh, N., & Gan, S. H. (2017). Honey, propolis, and royal jelly: a comprehensive review of their biological actions and health benefits. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2017.
- Pernin, A. I. (2018). Action antioxydante et antimicrobienne de composés phénoliques dans des milieux modèles et des émulsions riches en lipides insaturés Université Paris Saclay (COMUE)].
- Przybyłek, I., & Karpiński, T. M. (2019). Antibacterial properties of propolis. *Molecules*, 24(11), 2047.
- Quideau, S., Deffieux, D., Douat-Casassus, C., & Pouységu, L. (2011). Plant polyphenols: chemical properties, biological activities, and synthesis. *Angewandte Chemie International Edition*, 50(3), 586-621.
- Rasul, A., Millimouno, F. M., Ali Eltayb, W., Ali, M., Li, J., & Li, X. (2013). Pinocembrin: a novel natural compound with versatile pharmacological and biological activities. *BioMed research international*, 2013.
- Rivero-Cruz, J. F., Granados-Pineda, J., Pedraza-Chaverri, J., Pérez-Rojas, J. M., Kumar-Passari, A., Diaz-Ruiz, G., & Rivero-Cruz, B. E. (2020). Phytochemical constituents, antioxidant, cytotoxic, and antimicrobial activities of the ethanolic extract of Mexican brown propolis. *Antioxidants*, 9(1), 70.

- Rohr, J. R., Barrett, C. B., Civitello, D. J., Craft, M. E., Delius, B., DeLeo, G. A., Hudson, P. J., Jouanard, N., Nguyen, K. H., & Ostfeld, R. S. (2019). Emerging human infectious diseases and the links to global food production. *Nature sustainability*, 2(6), 445-456.
- Slavin, Y. N., Asnis, J., Háfeli, U. O., & Bach, H. (2017). Metal nanoparticles: understanding the mechanisms behind antibacterial activity. *Journal of nanobiotechnology*, 15, 1-20.
- Sardi, J. d. C. O., Gullo, F. P., Freires, I. A., de Souza Pitangui, N., Segalla, M. P., Fusco-Almeida, A. M., Rosalen, P. L., Regasini, L. O., & Mendes-Giannini, M. J. S. (2016). Synthesis, antifungal activity of caffeic acid derivative esters, and their synergism with fluconazole and nystatin against *Candida* spp. *Diagnostic microbiology and infectious disease*, 86(4), 387-391.
- Scheller, S., Dworniczak, S., Waldemar-Klimmek, K., Rajca, M., Tomczyk, A., & Shani, J. (1999). Synergism between ethanolic extract of propolis (EEP) and anti-tuberculosis drugs on growth of mycobacteria. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 54(7-8), 549-553.
- Sforcin, J. M., & Bankova, V. (2011). Propolis: is there a potential for the development of new drugs? *Journal of ethnopharmacology*, 133(2), 253-260.
- Seidel, V., Peyfoon, E., Watson, D. G., & Fearnley, J. (2008). Comparative study of the antibacterial activity of propolis from different geographical and climatic zones. *Phytotherapy Research*, 22(9), 1256-1263.
- Silva-Carvalho, R., Baltazar, F., & Almeida-Aguiar, C. (2015). Propolis: a complex natural product with a plethora of biological activities that can be explored for drug development. *Evidence-based complementary and alternative medicine*, 2015.
- Silici, S., & Kutluca, S. (2005). Chemical composition and antibacterial activity of propolis collected by three different races of honeybees in the same region. *Journal of ethnopharmacology*, 99(1), 69-73.
- Sordillo, L., & Mavangira, V. (2014). The nexus between nutrient metabolism, oxidative stress and inflammation in transition cows. *Animal Production Science*, 54(9), 1204-1214.
- Sripad, G., Prakash, V., & Rao, M. N. (1982). Extractability of polyphenols of sunflower seed in various solvents. *Journal of Biosciences*, 4, 145-152.
- Sung, S.-H., Choi, G.-H., Lee, N.-W., & Shin, B.-C. (2017). External use of propolis for oral, skin, and genital diseases: a systematic review and meta-analysis. *Evidence-based complementary and alternative medicine*, 2017.
- Swolana, D., & Wojtyczka, R. D. (2022). Activity of Silver Nanoparticles against *Staphylococcus* spp. *International journal of molecular sciences*, 23(8), 4298.
- Thomson, J. M., & Bonomo, R. A. (2005). The threat of antibiotic resistance in Gram-negative pathogenic bacteria: β -lactams in peril! *Current opinion in microbiology*, 8(5), 518-524.

- Tie, L., An, Y., Han, J., Xiao, Y., Xiaokaiti, Y., Fan, S., Liu, S., Chen, A. F., & Li, X. (2013). Genistein accelerates refractory wound healing by suppressing superoxide and FoxO1/iNOS pathway in type 1 diabetes. *The Journal of nutritional biochemistry*, 24(1), 88-96.
- Tran, T. D., Ogbourne, S. M., Brooks, P. R., Sánchez-Cruz, N., Medina-Franco, J. L., & Quinn, R. J. (2020). Lessons from exploring chemical space and chemical diversity of propolis components. *International journal of molecular sciences*, 21(14), 4988.
- Tsao, R. (2010). Chemistry and biochemistry of dietary polyphenols. *Nutrients*, 2(12), 1231-1246.
- Turk, R., Samardžija, M., & Bačić, G. (2011). Oxidative stress and reproductive disorders in dairy cows. Marek, ER, Dairy cows: nutrition, fertility and milk production. Nova Science Publishers, New York, USA, 57-98.
- Ultee, A., Bennik, M., & Moezelaar, R. (2002). The phenolic hydroxyl group of carvacrol is essential for action against the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. *Applied and environmental microbiology*, 68(4), 1561-1568.
- Vuorela, S. (2005). Analysis, isolation, and bioactivities of rapeseed phenolics.
- Woźniak, M., Sip, A., Mrówczyńska, L., Broniarczyk, J., Waśkiewicz, A., & Ratajczak, I. (2023). Biological Activity and Chemical Composition of Propolis from Various Regions of Poland. *Molecules*, 28(1), 141
- Xiao, Y., & Cai, W. (2020). Autophagy and bacterial infection. *Autophagy: Biology and Diseases: Clinical Science*, 413-423.
- Xu, H. X., & Lee, S. F. (2001). Activity of plant flavonoids against antibiotic-resistant bacteria. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 15(1), 39-43.
- Zabaiou, N., Fouache, A., Trousson, A., Baron, S., Zellagui, A., Lahouel, M., & Lobaccaro, J.-M. A. (2017). Biological properties of propolis extracts: Something new from an ancient product. *Chemistry and physics of lipids*, 207, 214-222.
- Zhang, Q., Zhang, J., Zhang, J., Xu, D., Li, Y., Liu, Y., Zhang, X., Zhang, R., Wu, Z., & Weng, P. (2021). Antimicrobial effect of tea polyphenols against foodborne pathogens: A review. *Journal of Food Protection*, 84(10), 1801-1808.

