

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

**FACULTE DES SCIENCES**  
**DEPARTEMENT DES SCIENCES DE LA**  
**NATURE ET DE LA VIE**

N° :.....



**DOMAINE : SCIENCES DE LA**  
**NATURE ET DE LA VIE**  
**FILIERE : ECOLOGIE**  
**OPTION : ECOLOGIE DES MILIEUX**  
**NATURELS**

**Mémoire présenté pour l'obtention**  
**Du diplôme de Master Académique**

**Par:**

**KHECHAI Bouchra**

**SERAICHE Sara**

**Intitulé**

**L'évaluation des activités biologique de venin**  
**d'abeille local et l'Egypte**

**Soutenu devant le jury composé de:**

Dr. NOUIDJEM Yacine	MCA	Université M.B de M'Sila	Examineur.
Dr. FRIHA Samira	MAA	Université M.B de M'Sila	Encadreur.
Dr. BENDERRAJI Laid	MCA	Université M.B de M'Sila	président.

**Année universitaire: 2018/2019**

# *Remerciements*

*Avant tout, nous remercions Dieu tout puissant de nous avoir donné la force, le courage, la persistance et nous a permis d'exploiter les moyens disponibles à fin d'accomplir ce modeste travail. Merci de nous avoir éclairé le chemin de la réussite*

*Nos vifs remerciements s'adressent à tous les membres du jury : nous vous remercions vivement le Dr. BENDERRAJ Laid de nous faire l'honneur de présider*

*le*

*jury de ce mémoire.*

*Nous ne saurons trop remercier l'examineur D. NOUIDJEM Yacine*

*pour*

*nous avoir fait l'honneur d'accepter d'examiner ce modeste travail.*

*Nous adressons nos plus sincères remerciements à notre promotrice Dr : FRIHA*

*Samira, qui nous a encadrées et dirigées ce travail avec une grande rigueur scientifique, sa disponibilité, ses conseils et la confiance qu'il nous accordé nous ont permis de réaliser ce travail.*

*Nos remerciements à tous nos professeurs, aux doctorants, techniciens de laboratoires, camarades de classe et personnels du département de Biologie pour leurs contributions à notre réussite*

*Nous remercions nos parents pour le soutien inconditionnel dont ils ont fait, merci pour le soutien financier, moral, psychologique et matériel. Si je suis ici*

*aujourd'hui,*

*c'est grâce à vous*

**BOUCHRA & SARRA**

# Dédicace

*A l'aide de dieu tout puissant, qui m'a tracé le chemin de ma vie, J'ai pu réaliser ce travail que je dédie :*

*A la lumière de mes yeux, l'ombre de mes pas et le bonheur de ma vie*

*Mon cher père « Mohamed » et ma mère « Haizia »*

*Sans eux, je n'ai pas atteint ce que je suis aujourd'hui, j'espère que vous trouvez toujours en moi votre source de fierté que le bon dieu vous bénisse vous prête langue vie et bonne santé, mon petite princesse, la joie du cœur « Ouidjdane » et mes sœurs Ilhem, Yasmine, Farida et mon seul frère Yacine et toute ma famille : mon grand -père El moudjahid « Abd Alkader » et ma grand-mère et mes tantes, mes oncles*

*Sans oublier mes amis qui n'ont ménagé aucun effort pour apporter toute le soutien moral nécessaire à ce travail « Houda, Souriya, Hamida, Halima, Amira, Afaf, Amina, Khansa et Mouna » en spécialement Dr : Hedjouli Zakaria avec qui j'avais le plaisir et l'honneur de partager ce modeste travail .*

*Aussi mes brave Amies de la spécialité d'EMN*

*A mon encadreur : Dr .Friha Samira elle était une sœur, une amie et elle a facilité tout ce qui était difficile et a expliqué tout ce qui était mystérieux*

*Toutes les paroles de remerciement ne vous donne pas votre droit, je vous souhaite une vie pleine de bonheur et de joie*

*الحمد لله*

**Bouchra**

# Dédicace

*Finally, the story has ended, I raised my hat to say goodbye to the years that have passed.*

*بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ « وَقُلْ أَعْمَلُوا فَسِرِّي اللَّهُ عَمَلِكُمْ وَرَسُولُهُ وَالْمُؤْمِنُونَ » صَدَقَ اللَّهُ الْعَظِيمُ*

*With the help of God Almighty and the prayer of my parents for me and the position of my husband by my side, I was able to do this work.*

*I dedicate my graduation to the light of my eyes, Poirine tendresse, Sourire la vie, ma chère maman qui m'a donné la vie, qui s'est sacrifiée pour mon bonheur et mon succès.*

*Dieu vous préserve et allonge votre vie.*

*A qui je porte fièrement son nom, a qui il a sacrifié sa vie pour notre bien, a qui m'a inculqué l'orgueil de l'âme et affronter la vie avec force et insistance, a Modèle de rôle et une source mon honorifique : ma Cher papa, dieu vous préserve.*

*Je dédie cet humble travail a qui m'a aidé dans cette vie, Une source de ma force, le meilleur personne et la plus homme noble, les bénédictions les plus belles et les plus précieuses que Dieu m'a données : mon mari ma vie, Dieu vous préserve et allonge votre vie*

*A ma petite princesse, l'ange de la maison ma sœur « Nehal » et mon seul cher frère Abderrahmane et mes belles sœurs Sana et Hadjer dieu vous préserve.*

*A ma deuxième mère, la mère de mon mari Merci à ses invitations à moi. Et a toute ma famille et à la famille gracieux de mon mari.*

*Sans oublier tous ceux qui m'ont apporté leur amitié et leurs frères, qui m'a donné tout le soutien moral Merci Amina, Najwa, Hind et Khawla..., et mon compagnon d'accomplir cet humble travail : Bouchra.*

*A tous mes professeurs, surtout ma professeur et mon encadreur : Dr. Fariha Samira, les mots ne suffisent guère pour exprimes mes remerciements, votre conseils précieux et critiques constructives, je vous souhaite une vie pleine de bonheur.*

*Et a tous les amoureux de la science et de la recherche. Je vous donne le fruit d'un effort humble. Et concluez en priant mes amoure Muhammad sala Allah alliai wasalam.*

**Sara**

## Liste des abréviations

**ATCC** : American Type Culture Collection

**BV** : venin d'abeille

**CMI** : Concentration Minimale Inhibitrice

**DO** : Densité optique

**DPPH** : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle

**ERO** : Espèces Réactives Oxygénées

**E. coli** : Escherichia coli

**MH** : Muller Hinton

**ml** : millilitre

**mg** : milligramme

**VE** : venin de l'étranger

**VL** : venin local

**VS** : vitesse de sédimentation

**µl** : Microlitre

**Ø** : Diamètre de zone d'inhibition.

## Liste des figures

N°	Titre	page
Figure01.	La Morphologie de l'abeille (i).....	5
Figure 02.	Schéma des trois castes de l'abeille (Rasolofoarivao, 2014). ....	6
Figure03.	Les sept (7) produits de la ruche (Yves Roberti, 2011). ....	8
Figure04.	Le miel (Blanc, 2010). ....	9
Figure05.	Le pollen (Khechai & Seraiche ,2019) .....	10
Figure06.	La gelée royale (Blanc ,2010).....	10
Figure07.	La Cire (Chott, 2018).....	10
Figure08.	La propolis (Blanc, 2010) .....	10
Figure09.	Le venin (Khechai & Seraiche, 2019) .....	10
Figure10.	Dard d'ouvrière observé a l'œil nu (Gharbi, 2011.....	11
Figure 11.	Dard d'ouvrière sous électronique à balayage (ii) .....	12
Figure 12.	L'aiguillon et le réservoir de venin (Gharbi ,2011). ....	12
Figure 13.	La composition moyenne de la matière sèche du venin (Clément, 2011). ....	13
Figure14.	Dard implanté dans une peau humaine (Gharbi ,2011). ....	15
Figure15.	Structure d'appareil vulnérant chez les abeilles (Daniel et <i>al.</i> , 2016 ) .....	15
Figure16:	sérum venin d'abeille- Anti Age (iii).....	17
Figure17:	crème bio au venin d'abeille (iiii).....	17
Figure18.	La structure de l'acide ascorbique (vitamine C) (Diallo, 2005). 22	
Figure19.	La structure de la vitamine E (Diarra, 2006). ....	22
Figure20.	La structure d'â-carotène (Diallo, 2005).....	22
Figure21.	La région de Condorcet, Hamla, Batna (Khechai & Seraiche, 2019).....	30
Figure22.	La région de Hamla par Google earth (Khechai & Seraiche, 2019).....	30
Figure23.	Electro-stimulateur utilisé pour la récolte du venin d'abeille (Khechai & Seraiche, 2019).....	32
Figure24.	Réaction de test DPPH (2,2- diphényle -1-picrylhydrazyle) (Congo. ,2012).....	33
Figure 25.	Préparation de la solution mère de venin local (Khechai & Seraiche, 2019) .....	33
Figure 26.	Préparation de la solution de DPPH (Khechai & Seraiche, 2019).....	34
Figure27.	Préparation de la série de dilutions pour le venin (Khechai & Seraiche, 2019). ....	35
Figure29.	Préparation des dilutions de venin de l'étranger (Khechai & Seraiche, 2019).....	38
Figure 29.	Préparation des souches bactérienne (Khechai & Seraiche, 2019).....	39
Figure30.	Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH.....	40

Figure31. acide ascorbique après réduction avec le radical libre DPPH (Khechai & Seraiche ,2019).....	41
Figure32 . venin local après réduction avec le radical libre DPPH (Khechai & Seraiche ,2019).	41
Figure33 . venin de l'étranger après réduction avec le radical libre DPPH (Khechai & Seraiche ,2019).....	41
Figure34. Courbe désigne le Pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction de la concentration de venin de local .....	42
Figure35. Courbe désigne le Pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction de la concentration de venin de l'étrange .....	42
Figure36. Courbe désigne le Pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction de la concentration de l'acide ascorbique .....	42
Figure37 . Zones d'inhibition de souches bactériennes testées (Khechai & Seraiche, 2019).....	46

<b>N°</b>	<b>Liste des Tableaux</b>	<b>page</b>
	Tableau 1. Les souches microbiennes testées .....	31
	Tableau 2 : la variation du pourcentage d'inhibition IC50 et l'activité anti radicalaire APR.....	42
	Tableau 3. Les résultats obtenus de l'activité antibactérienne (diamètre d'inhibition (cm)). .....	43

# Sommaire

Remerciement

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Sommaire

Introduction

## Chapitre I. Synthèse bibliographique

1.L'ABEILLE.....	4
1.1 Description.....	4
1.2Classification .....	4
1.3. La morphologie de l'insecte .....	4
1.3.1. La tête.....	5
1.3.2. Le thorax .....	5
1.3.3. L'abdomen .....	5
1.4. Les trois castes existantes au sein d'une ruche.....	5
1.4.1. La reine .....	5
1.4.2. Les ouvrières .....	6
1.4.3. Les faux bourdons.....	6
1.5. Le Rôle de l'abeille.....	7
1.5.1. Dans la pollinisation : .....	7
1.5.2. Rôle économique .....	7
1.5.3. Rôle écologique .....	7
1.6. La communication entre les abeilles .....	7
1.6.1. Les phéromones, messagers chimiques .....	7
1.6.1.3. La phéromone royale ou acide 9-hydroxy-2-décénoïque.....	7
1.6.1.4. La phéromone de couvain ou acide 9-céto-2-décénoïque aux rôles diverses : .....	7
1.6.2. La danse des abeilles.....	8
1.7. Les produits de la ruche.....	8
1.7.1. Le miel .....	8
1.7.2. Le pollen .....	9

1.7.3. La gelée royale .....	9
1.7.4. La cire .....	10
1.7.5. La propolis .....	10
1.7.6. Le miellat .....	11
2. Le venin d'abeille.....	13
2.1 Définition.....	13
2.2. La composition de venin d'abeille.....	14
2.2.1. La matière sèche du venin.....	15
2.3.Le mécanisme de pique .....	16
2.4 .L'utilisation de venin d'abeille .....	17
2.4.1. Pour nous (l'apithérapie).....	17
2.4.2. Pour les abeilles .....	20
3. L'activité Anti oxydante  21	
3.1. stress oxydatif .....	21
3.2. Les radicaux libres.....	21
3. 2.1. Les espèces réactives de l'oxygène (ERO).....	21
3. 2.2. Les radicaux dérivés d'azote (ERN).....	21
3.3. Les antioxydants.....	21
3.3-1.définiion.....	21
3.3-2. Mécanisme d'action des antioxydants .....	21
3.3.3. Les type des antioxydants .....	22
3.3.4. L'évaluation de l'activité antioxydant .....	24
3.3.4.1. Test DPPH : Le radical DPPH .....	24
3.3.4.2. Test de la réduction du fer FRAP .....	25
3.3.4.3. Test de TRAP .....	25
3.3.4.4. Test ORAC .....	25
3.3.4.5. Test TEAC ou la réduction du radical- cation ABTS .....	25
4. L'activité anti bactérienne 26	
4.1. Définitions .....	26
4.1.1. Un microorganisme.....	26
4.1.2. Une bactérie .....	26
4.1.3. Une l'activité anti bactérienne .....	26
4.1.4. Un antibiotique.....	26

4.2. Culture des bactéries.....	27
4.3. Tests d'évaluation de l'effet antibactérien.....	27
4.3.1. Méthode de dilution en milieu liquide .....	27
4.3.2. Méthode de diffusion en milieu solide.....	27
4.3.3. Méthode de diffusion sur disque de cellulose.....	28

## **Chapitre II. Matériel et méthodes**

1- Matériel d'étude .....	30
1.1. Matériel Biologique .....	30
1.2. Matériel et produits de laboratoire.....	30
2. Méthode D'étude.....	31
2.1. Extraction de venin local (VL) .....	31
2.1.1. Présentation et localisation de la zone d'étude .....	31
2.1.2. La méthode de récolte de venin .....	32
3. L'évaluation de l'activité biologique .....	34
3.1. L'activité antioxydant.....	34
3.1.1. Méthodes d'évaluation de l'activité antioxydant .....	34
3.1.2. Expression des résultats .....	37
3.2. L'activité antibactérienne .....	38
3.2.1. Méthodes d'évaluation de l'activité antibactérienne.....	38

## **Chapitre III. Résultats et Discussion**

1. La Résultat de l'activité biologique de venin.....	43
1.1. L'activité antioxydant.....	43
1.2. L'activité antibactérienne .....	45
2. La discussion .....	49
2.1. L'activité anti oxydant.....	49
2.2. L'activité antibactérienne .....	50

### **Conclusion**

### **Références bibliographique**

### **Résumés**

# *INTRODUCTION*



## Introduction

## بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



L'abeille (*apis mellifera*) est un insecte social hyménoptère vivant en colonies qui contiennent la reine, les faux bourdons et les ouvrières (**Fert, 2010**). Les abeilles font partie depuis des millénaires de la culture et du patrimoine humain, et elles sont donc essentielles au maintien d'une biodiversité végétale, très importante pour l'humanité, car sans elles, pas de grains, pas de fruits et pas de reproduction possible pour une grande majorité de plantes, elles rendent un service écologique précieux et indispensable (**David Paterson, 2008**).

L'importance des abeilles ne réside pas seulement dans le fait qu'elles sont des insectes pollinisateurs, mais également, ses produits précieux (miel, gelée royale, pollen, propolis, cire et même le venin...) qui ont un impact positif sur la santé humaine grâce à leur richesse en composés phénoliques (notamment les flavonoïdes), en minéraux, en vitamines (**Bacher, 2008**).

Les produits de la ruche sont depuis des millénaires exploités par l'homme. Ils sont issus de substances naturelles, produits par les abeilles. Leurs utilisations assurent un bon marché et représentent un revenu d'appoint pour l'apiculteur. (**Bogdanov, 2016**).

Le venin est l'arme de défense ultime de l'abeille, des ouvrières gardiennes sont postées à l'entrée de la ruche (**Domerego & Blanchard, 2005**). Le venin possède un pouvoir énergétique grâce à sa composition élevée en glucides (**Cousin, 2014**), et plusieurs effets thérapeutiques (activité antioxydant, action cicatrisante, anti-inflammatoire, antifongique, antibactérienne et autres...) (**Gharbi, 2011**).

Compte tenu de toutes ces considérations, le présent travail a été conçu pour étudier les propriétés antioxydants et l'activité antibactérienne de venin obtenus à partir de 02 sources

différentes : locale de la région de BATNA et étrangère commercialisé d'origine égyptienne, et d'exploiter ses vertus. Dans le but de :

- ✓ Valoriser un sous-produit de la ruche
- ✓ D'établir sa carte d'identité en déterminant ses activités biologiques donc ses axes d'utilisations sur une base scientifique
- ✓ Comparer le produit (venin) Algérien aux produits commercialisés d'origines différents, afin d'évaluer et d'améliorer la production locale
- ✓ Mettre à la disposition des populations d'un produit naturel, présentant une activité thérapeutique inestimable

Notre document sera donc composé de deux parties, initié par une recherche bibliographique sur un abrégé de l'histoire et l'étymologie de l'abeille et les produits de la ruche en particulier le venin, ainsi que son utilisation au cours des siècles, sa composition et ses activités biologiques (antioxydant et antibactérienne).

La partie pratique est subdivisée en deux chapitres, le premier chapitre présente les méthodes et les techniques utilisées pour la réalisation de ce travail et Le deuxième chapitre élucide :

- ✓ Évaluation des activités antioxydants par test au DPPH ;
- ✓ Etude de l'activité antibactérienne des extraits de venin contre six souches bactériennes de référence par la méthode de diffusion sur disque ;

Enfin, les deux chapitres discutent les résultats obtenus dans cette étude.

*CHAPITRE I*

*Synthèse bibliographique*



## 1. L'abeille

### 1.1 Description :

Insecte social vivant dans une ruche et produisant le miel et la cire (L'abeille est, avec le ver à soie, le seul insecte domestiqué par l'homme) (**Lambrechts et al., 2006**).

Ils sont apparus il y a 45 millions d'années nettement avant l'homme (**Daniel, 1983**). Cependant certains paléontologues découvrirent leurs fossiles dans les ambres de la Baltique depuis plus de 60 millions d'années (**Winston, 1993**).

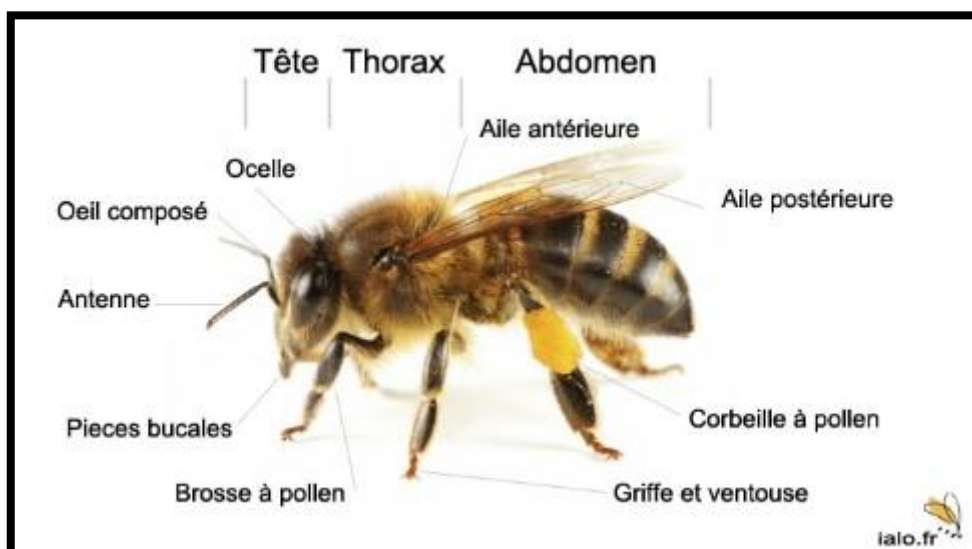
Toutes les abeilles vivent exclusivement en Asie sauf *Apis mellifera*, dont l'aire de répartition est bien plus étendue. Son aire de répartition naturelle recouvre aussi l'Europe: l'Afrique et le Proche Orient, mais suites aux importations dues notamment aux migrations humaines, *Apis mellifera* est actuellement présente dans le monde entier (**Bertrand, 2013**). L'abeille Algérienne appartenant à la lignée africaine est représentée en Algérie par deux races: *Apis mellifera intermissa* (**Buttel Reepen, 1906**) et *Apis mellifera sahariensis* (**Baldensperger, 1923**). La première est la plus répandue et son aire de répartition s'étend le long de l'Afrique du nord : Maroc, Tunisie et Algérie (**Cornuet & al., 1988**).

### 1.2. Classification :

- ✓ Embranchement : Arthropode
- ✓ Sous embranchement : Mandibulates
- ✓ Classe : Insect
- ✓ Sous-classe : Pterygota
- ✓ Ordre : Hymenoptera
- ✓ Sous-ordre : Apocrita
- ✓ Section : Aculeata
- ✓ Sup famille : Apoidea
- ✓ Famille : Apidae
- ✓ Genre : *Apis*
- ✓ Espèce : *Apis mellifera* (**Buttel Reepen, 1906**).

### 1.3. La morphologie de l'insecte :

Les abeilles sont des animaux qui possèdent un corps segmenté (**Albouy & le Conte, 2014**) avec une cuticule qui entoure tout leur corps. Cette membrane externe de chitine dure est recouverte de poils, et forme un exosquelette en trois parties : La tête, le thorax et l'abdomen (**Le Conte, 2011**).



**Figure01.** La Morphologie de l'abeille (i).

### 1.3.1. La tête :

La tête est une capsule ovoïde qui présente extérieurement deux antennes et les pièces bucales. Elle porte les principaux organes des sens et renferme un cerveau d'un volume important, ainsi que des glandes hypopharyngiennes, labiales et mandibulaires (Clément, 2011).

### 1.3.2. Le thorax :

Situé entre la tête et l'abdomen (Clément, 2011). Il est composé de 7 segments qui sont reliés entre eux par une membrane souple. Le premier segment est rétréci et permet la jonction de l'abdomen au thorax. Chaque segment abdominal est muni de deux parties sclérifiées, le tergite en position supérieure et le sternite en position inférieure qui sont reliées entre elles par une fine membrane inter-segmentaire. Leur système nerveux se situe au niveau du ventre, donc en position inférieure par rapport aux autres appareils viscéraux. (Cousin, 2014).

### 1.3.3. L'abdomen :

Comprend sept segments reliés entre eux par une membrane inter segmentaire et formés chacun d'une partie supérieure, le tergite, et inférieure, le sternite.

L'abdomen contient une grande partie du système respiratoire trachéen, le système digestif et reproducteur, et l'organe venimeux pour les reines et les ouvrières (Clément, 2011).

## 1.4. Les trois castes existantes au sein d'une ruche :

Une colonie d'abeille se compose d'une reine, d'ouvrières et de faux-bourçons.

### 1.4.1. La reine :

La reine se différencie des autres individus de la ruche par la grande taille de son abdomen, son poids plus élevé et ses ailes plus courtes après la fécondation. Durant son stade larvaire, elle consomme uniquement de grandes quantités de gelée royale pendant environ 4 à 6 jours lui permettant d'atteindre un poids variant entre 178 et 292 mg à l'âge adulte (Winston, 1993). Une semaine après sa naissance, la reine s'accouple une seule fois avec 6 à 30 mâles durant un vol

d'accouplement, elle stocke le sperme dans un organe spécialisé appelé spermathèque. La reine peut pondre jusqu'à 2000 œufs fécondés par jour, ils sont issus de pères différents donnant naissance à une fratrie qui permet d'augmenter la diversité génétique de la colonie (**Oldroyd et al., 1995**). La reine a aussi une fonction de cohésion dans la colonie par la sécrétion de phéromones (**Pankiw et al., 2004**) ; son temps de vie est de 1 à 5 ans.

#### 1. 4.2. Les ouvrières :

Les petites abeilles, très agressives de couleur jaunâtre, elles sont appelées des ouvrières (**Bacher, 2008**), elles sont les plus nombreuses de la famille d'abeilles, Les ouvrières réalisent tous les travaux de la ruche suivant les saisons, les circonstances et le développement de leurs glandes. Le poids des ouvrières varie fortement en fonction de la race, du nombre, de l'âge des nourrices et de la disponibilité de nourriture. Elles pèsent entre 81 et 152 mg (**Winston, 1993**). semble influencée par le temps de vol et par l'activité de nourrice (**Neukirch, 1982**) ( **Smedal et al., 2009**). Ainsi, durant la période d'activité de mai à septembre, les abeilles ont un temps de vie moyen de 15 à 30 jours avec un maximum enregistré de 70 jours. Durant l'hiver, les ouvrières ont un temps de vie beaucoup plus long pouvant aller jusqu'à 8 mois (243 jours). (**Fluri, 1994**).

#### 1.4.3. Les faux bourdons :

Les mâles, aussi appelés faux-bourdons, pèsent entre 196-225 mg. Ils sont plus grands, plus larges et plus lourds qu'une ouvrière et ne possèdent pas de dards (**Winston, 1993**). Ils jouent un rôle principalement dans la reproduction et peuvent également participer à la ventilation en cas de forte chaleur (**Belzunces et al., 1996**).

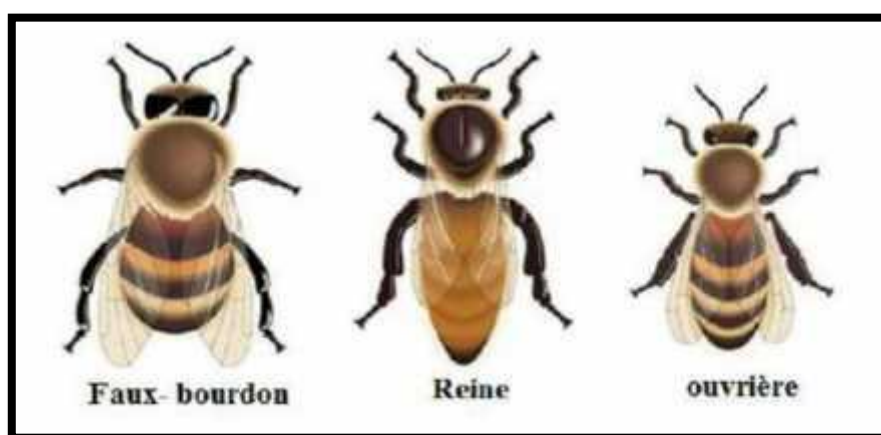


Figure 02. Schéma des trois castes de l'abeille (**Rasolofoarivao, 2014**).

## 1.5. Le Rôle de l'abeille

### 1.5.1. Dans la pollinisation :

Pour dire à quel point l'abeille domestique est précieuse, il suffit de rappeler qu'une majorité de plantes à fleurs sont partiellement ou totalement polonisées par elle, en effet, les abeilles constituent un élément clef de l'écosystème par son rôle de pollinisateur (**Ollerton et al., 2011**).

### 1.5.2. Rôle économique :

En butinant à la recherche de nectar et de pollen, l'abeille participe activement à la pollinisation de flore sauvage : aubépine (*Crataegus oxyacantha*), églantier (*Rosa canina*), sorbier (*Sorbus domestica*) mais également des plantes cultivées, favorisant ainsi leur reproduction et améliorant les récoltes (**Toullec, 2008**). Ce qui influence sur la production des différents produits de la ruche induisant une amélioration dans le secteur économique et même agricole.

### 1.5.3. Rôle écologique :

L'abeille peut également être utilisée comme bio indicateur de la santé de l'écosystème dans lequel elle évolue. L'état de l'environnement ainsi que l'état physiologique des abeilles a été démontrée par différents auteurs vue que l'utilisation des pesticides l'un des premier facteurs affectant sur leur disparition (**Celli et al., 2002 ; Toullec, 2008 ; Nabti, 2015**). Cette cénobitique influence aussi sur la qualité du venin.

## 1.6. La communication entre les abeilles :

### 1.6. 1. Les phéromones, messagers chimiques :

L'abeille dispose d'un véritable panel de substances qui appartiennent à diverses familles chimiques (alcools, acides, cétones, esters entre autres) et qui lui permettent de communiquer. On les distingue en fonction de la réponse qu'elles engendrent :

1.6.1.1. Les phéromones incitatrices : qui déclenche des réponses comportementales, regroupent entre autres les phéromones d'attaque, d'attraction sexuelle, d'agrégation et de marquage de piste.

1.6.1.2. Les phéromones modificatrices : qui modifient la physiologie des congénères, sont représentées par deux phéromones (toutes ne sont sans doute pas découvertes).

1.6.1.3. La phéromone royale ou acide 9-hydroxy-2-décénoïque : qui influe sur le taux d'hormone juvénile des nourrices qui vont être poussées à partir butiner.

1.6.1.4. La phéromone de couvain ou acide 9-céto-2-décénoïque aux rôles diverses :

- inhibe le développement des ovaires des ouvrières
- inhibe la construction de cellules royales
- stimule les glandes hypo-pharyngiennes des ouvrières- attire les jeunes abeilles
- influe sur l'attraction sexuelle des males (**Jean-Pros, 2005**).

### 1.6.2. La danse des abeilles :

Elle permet la transmission des informations sur la localisation et l'abondance de la source de nectar et de pollen. Il semblerait que chaque race d'abeille possède sa propre langue en dépit de certaines ressemblances entre les danses. Autant de danses comme autant de langages développés au fil du temps. Décrite pour la première fois en 1927 par Karl Von Frisch, la danse de l'abeille est possible grâce à de la magnétite  $Fe_3O_4$  présente dans les cellules des corps gras de l'abdomen de l'abeille adulte et qui lui serviraient à se repérer par rapport au champ magnétique terrestre (Jean-Pros, 2005).

### 1.7. Les produits de la ruche :

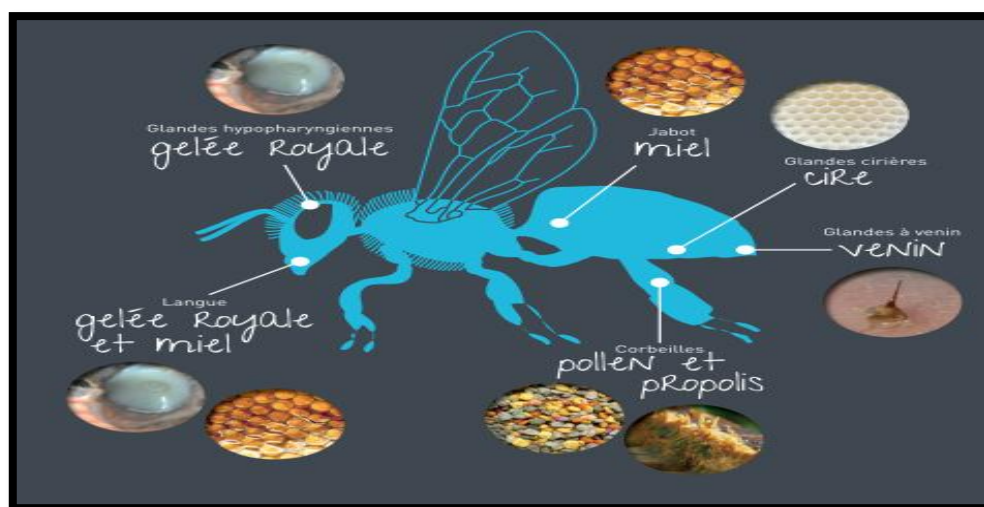


Figure03. Les sept (7) produits de la ruche (Yves Roberti, 2011).

#### 1.7.1. Le miel :

Le miel est issu de produits végétaux prélevés par l'abeille avant d'être transformés, le nectar en est la base, il est produit par les glandes nectarifères des nectaires des plantes à fleurs. Le nectar est produit par ces nectaires à partir de la sève brute ou élaborée, c'est un liquide sucré qui permet d'attirer les insectes pollinisateurs (Jean-Pros, 2005).

Un aliment-médicament : Le miel était utilisé depuis l'antiquité, en cuisine pour sucrer les aliments, et il jouait également un rôle en médecine ou on l'utilise pour soigner les brûlures et les plaies (Pascal, 2009).

Du nectar au miel : Les abeilles, friandes de substances sucrées, récoltent le nectar qui nait au cœur des fleurs, ainsi que le miellat. Nectar et miellat, qui sont fait de sucres et de 30% à 50% d'eau, sont stockés dans le jabot de l'abeille où, mélangés à des enzymes, ils vont commencer à se transformer en miel (Pascal, 2009).



**Figure04.** Le miel (Blanc, 2010).

### 1.7.2. Le pollen :

Les grains de pollen sont issus des tissus sporogones des sacs polliniques des plantes (Gharbi, 2011), Les abeilles récoltent le pollen sur les anthères des fleurs et le ramènent à la ruche sous forme de pelotes collées à leurs pattes (David, 2008).ces pelotes ont une couleur unique, et qui varie d'une plante à une autre, vu que les abeilles butinent une seule espèce de plante par voyage (Amigou, 2016). Le pollen est une source protéique pour les abeilles, également il assure le bon fonctionnement des glandes hypophrygiennes (Lacube, 2015).



**Figure05.** Le pollen (Khechai & Seraiche ,2019)

### 1.7.3. La gelée royale :

La gelée royale est la nourriture exclusive des larves d'abeilles et ce jusqu'à leur troisième jour La gelée royale sera la nourriture de la reine pendant toute sa vie (Clément, 2011).



**Figure06.** La gelée royale (Blanc ,2010)

#### 1.7.4. La cire :

La cire d'abeille est une matière molle, jaunâtre et fusible produite au niveau des glandes cirières des jeunes ouvrières, sous forme d'écailles transparentes de 1,5 mm de long sur 1 mm de large environ (Jean-Prost, 2005). Les glandes cirières, situées sur la face ventrale de l'abdomen de l'abeille excrètent des lamelles ou «écailles» de cire transparente. Lorsqu'une abeille a produit une écaille, elle remonte sur le lieu de la construction pour y ajouter sa cire (Bradbear, 2010). L'abeille utilise la cire pour construire des cellules hexagonales qui contiennent selon les besoins de la ruche, le couvain, le miel ou le pollen (Winston, 1993). La construction de rayons est très coûteuse en énergie pour l'abeille, puisqu'il il faut environ 10 à 20 kg de miel et 1 kg de pollen pour fabriquer 1 kg de cire (Gharbi, 2011).



**Figure07.** La cire (Chott, 2018)

#### 1.7.5. La propolis :

La propolis désigne toute une série de substances résineuses, gommeuses et balsamiques, de consistance visqueuse, recueillies par les abeilles sur certaines parties de végétaux

(essentiellement les bourgeons et les écorces de certains arbres), substances qu'elles rapportent à la ruche et qu'elles modifient vraisemblablement en partie par l'apport de certaines de leurs propres sécrétions (cire et sécrétions salivaires principalement) (**Donadieu, 2008**).



**Figure08.** La propolis (**Blanc, 2010**).

#### **1.7.6. Le miellat :**

Le nectar n'est pas la seule matière première naturelle que les abeilles utilisent pour fabriquer le miel. Dans certaines régions, elles utilisent aussi largement le miellat. Ce dernier est un liquide sucré, excrété par certains insectes et principalement des cochenilles, pucerons et psylles, suceurs de jeunes pousses et de feuilles. Sur certaines plantes, au début de l'été (**Jean, 2007**).

#### **1.7.7. Le venin :**

A la naissance, l'abeille ne possède ni venin ni réflexe de piqûre. Ce n'est que durant la première semaine de vie que les glandes se mettent à sécréter le venin, lequel va mûrir dans le réservoir pendant quelques semaines. Il acquiert ses qualités dans les 3 à 4 dernières semaines de vie  $\dot{R}$  correspondant à la période où l'abeille devient butineuse et gardienne (**Apimondia, 2001**). Il semblerait que la glande acide qui soit la productrice de venin, mais on ne connaît pas encore réellement le rôle de la glande alcaline (**Jean-Prost, 2005**).

Une ouvrière mature possède entre 100 et 150  $\mu\text{g}$  de venin ce qui est nettement moins qu'une jeune reine, qui en dispose d'environ 700  $\mu\text{g}$  (**Domerego et al., 2009 ; Bruneau, 2009**).



**Figure09.** Le venin d'abeille (Khechai & Seraïche, 2019).

## 2. Le venin d'abeille

### 2.1 Définition :

Le venin est un mélange de plusieurs composés, produits de deux glandes, la glande venimeuse et la glande lubrifiante, stocké dans un réservoir (**Jean-Prost, 2005**). En effet, il faut environ 10 000 abeilles pour récolter 1 gramme de venin (**Bradbear, 2010**). Le venin se forme pendant la première semaine de vie de l'abeille et la glande à venin est opérationnelle au bout de 4 semaines quand les ouvrières deviennent gardiennes. La glande à venin est reliée par un canal à la chambre à venin (**Darrigol, 1979**). Il est produit au niveau de la glande acide de l'appareil vulnérant. La glande alcaline ou glande de Dufour jouerait un rôle dans la production de venin (**Jean-Prost, 2005**).

Les abeilles (ouvrières et reines) possèdent une arme avec un aiguillon ou dard relié à l'appareil à venin. Le dard est équipé de crochets, chez les ouvrières, qui restent attachés dans la peau la personne ou la chose piqué (**Darrigol, 1979**).



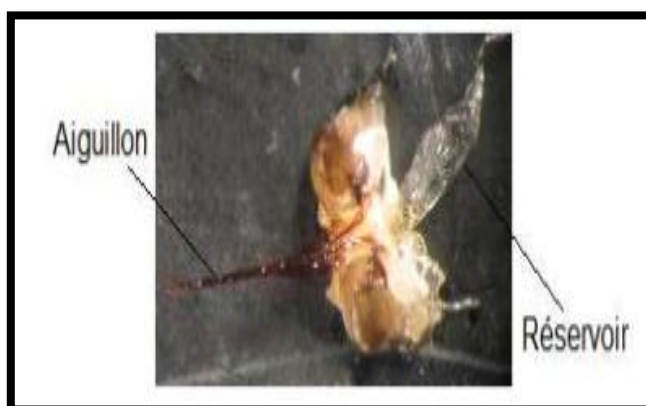
Figure 10. Dard d'ouvrière observé à l'œil nu (**Gharbi, 2011**).



Figure11. Dard d'ouvrière sous électronique à balayage (ii)

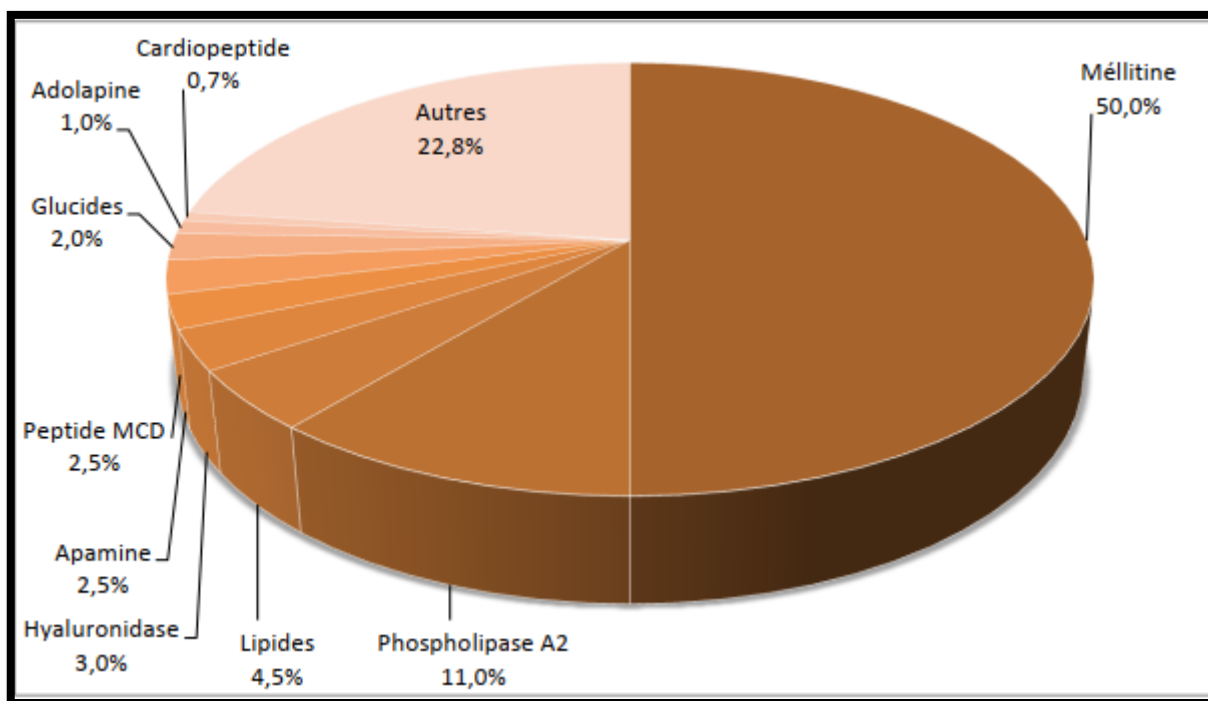
## 2.2. La composition de venin d'abeille :

Le venin est un liquide translucide dont la composition varié en fonction du nectar et du pollen consommés, de l'âge et de l'espèce concernée (cousin, 2014)



**Figure 12.** L'aiguillon et le réservoir de venin (Gharbi ,2011).

Il contient 85% d'eau et 15% de différentes substances comme des enzymes, des protéines, des sucres, des phospholipides, des hydrates de carbone, des acides, des amines ainsi des composés anti inflammatoires tels que l'apamine et la méllitine (Domerego & Blanchard, 2012).



**Figure 13.** La composition moyenne de la matière sèche du venin (Clément, 2011).

## 2.2.1. La matière sèche du venin :

2.2.1.1. Les glucides : Ce sont pour la majeure partie des glucides simples, ils représentent jusqu'à 2% du poids sec du venin

2.2.1.2. Les peptides : Le venin contient une grande variété de peptide et protéines :

- |  |   |
|--|---|
| ✓ Méllitine : 50%  | ✓ Apamine : 2,5%                                    |
| ✓ Peptide MCD (Mast Cell Degranulation)<br>ou peptide 401 : 2,5% | ✓ Adolapine : 1%                                    |
| ✓ Cardiopeptide : 0,7%   | ✓ Méllitine F : < 1%                                |
| ✓ Sécapine : < 1%  | ✓ Tertiapine : < 1%                                 |
| ✓ Minimine   | ✓ Peptide MCL (Mast Cell Lytic)                     |
| ✓ Procamines A et B  | ✓ Proméllitine. ( <b>Gauldie &amp; al., 1976</b> ). |

### a. La Méllitine :

Est un peptide de 26 acides aminés, d'un poids moléculaire de 2,84 kDa, qui potentialise l'action de la Phospholipase A2 et qui est impliqué dans :

- la douleur de la piqûre et l'état de choc.
- la déstabilisation des membranes en association avec la Phospholipase A2.
- la libération d'histamine.
- la vasodilatation capillaire et donc une hypotension.
- des propriétés antibactériennes, antifongique, anti-inflammatoire et antioxydant

**(Rothschild, 1965).**

### b. L'Apamine :

Est un neurotoxique. C'est un puissant bloqueur des canaux potassiques, canaux activés par le Ca<sup>2+</sup> cytosolique, et ce de manière irréversible (**Alvarez et al., 2013**).

- l'apamine inhibe les lipopolysaccharides et diminuerait la libération d'histamine.
- il bloque les canaux potassiques calcium-dépendants.
- il est anti-inflammatoire et anti-arythmique. (**Bae et al., 2012**).

### c. L'Adolapine :

Peptide au rôle anti-inflammatoire et analgésique, le peptide Mast Cell Degranulating (MCD), également appelé peptide 401, peptide de 22 acides aminés. Il induit la libération d'histamine, Par dé granulation des mastocytes (cellules principalement présentes au niveau du tissu conjonctif).

### d. Le Peptide MCD ou Peptide 401 :

Il est constitué de 22 acides aminés, il agit dans :

- la dégranulation des mastocytes<sup>42</sup> et par conséquence la libération d'histamine.
- l'augmentation de la perméabilité vasculaire.

- il a également un effet anti-inflammatoire.

2.2.1.3. Les enzymes : Elles sont très nombreuses et participent au même titre que les peptides aux activités biologiques du venin :

Phospholipase A2 : 10-12%

Hyaluronidase : < 3%

Estérases

Glucosidases,

Lipases

N-gly-pro-acryl-amidase, Phosphatases acides

Protéases

Phospholipase B

Deux enzymes ont des activités notables : la phospholipase A2 et la hyaluronidase :

a. La Phospholipase A2 :

C'est une protéine d'un poids moléculaire de 16 kDa, elle agit en synergie avec un peptide : la Mélittine son action consiste en :

- ✓ La dégradation des phospholipides membranaires couplée à une modification de la perméabilité membranaire.
  - ✓ L'activation de la libération de neurotransmetteurs.
  - ✓ L'activation des cellules gliales et des neurones, et l'activation de la régénération nerveuse.
- Enfin elle régule la pression artérielle et le rythme cardiaque.

b. La Hyaluronidase :

Est une protéine de 350 acides aminés pour un poids moléculaire de 42 kDa, elle est à l'origine de :

- ✓ L'induction de la libération d'histamine.
- ✓ La dépolymérisation de l'acide hyaluronique et donc l'augmentation de la perméabilité du tissu conjonctif, qui facilite la diffusion du venin.

4. Les lipides : Cette famille est représentée essentiellement par des phospholipides et compte pour 4,5% du poids sec.

5. Les amines biogènes : Le venin renferme des substances déjà présentes dans l'organisme humain : l'histamine, l'acétylcholine, la dopamine, le GABA.

6. Les émissions odorantes : Le venin présente de nombreuses substances volatiles, parmi elle : la phéromone d'alerte, l'acétate d'isoamyle, qui va attirer d'autres abeilles et les inciter à piquer à leur tour. (Buku, 1999)

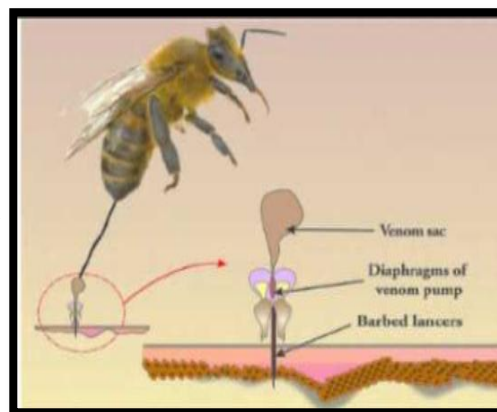
### 2.3 Le mécanisme de pique :

Lorsque qu'une abeille pique, les lancettes perforent la peau et les barbes permettent la fixation de l'abeille. Les muscles du sac à venin se contractent et libèrent le venin pendant une durée d'environ 30 à 60 secondes. En se retirant l'abeille tire sur son aiguillon qui arrache

l'abdomen et entraîne la propre mort de l'abeille. Cela se produit surtout chez l'homme et l'animal. S'il s'agit d'un autre insecte piqué par l'abeille, cette dernière se retirera plus facilement grâce aux faibles résistances des tissus piqués et de ce fait ne mourra pas après avoir piqué (Winston, 1993).



**Figure14** Dard implanté dans une Peau humaine (Gharbi ,2011).



**Figure15.** Structure d'appareil vulnérant chez les abeilles (Daniel et al., 2016 )

## 2.4 .L'utilisation de venin d'abeille :

### 2.4.1. Pour nous (l'apithérapie)

#### 1. Définition de l'apithérapie :

L'apithérapie est l'utilisation thérapeutique médicinale de produits d'abeille, consistant de miel, propolis, la gelée royale, le pollen, la cire d'abeille et, particulièrement le venin d'abeille (Fratellone, 2015).

#### 2. les valeurs thérapeutiques de venin d'abeille :

Le venin d'abeille a été utilisé comme une médecine traditionnelle pour traiter certaines maladies par ses effets antibactériens, antiviraux et anti-inflammatoires (Park et al., 2010; Wang et al., 2009).

#### 2.1. Venin d'abeille contre les maladies chroniques inflammatoires :

La thérapie au venin d'abeille est la partie de l'apithérapie qui utilise le venin d'abeille dans le traitement des problèmes de santé (Hegazi et al., 2015). Plusieurs chercheurs ont montré l'importance de ce type de traitement contre plusieurs maladies et symptômes (El Gendy et al., 2017) . La méta-analyse de (Lee et al., 2005) regroupe plusieurs études cliniques concernant le traitement de la polyarthrite rhumatoïde (Kim & Jeon, 2014).Par l'apipuncture versus acupuncture simple. Toutes permettent une diminution du nombre d'articulations douloureuses et du nombre d'articulations gonflées. L'apipuncture diminue aussi la raideur matinale. Concernant les données biologiques, elle diminue la vitesse de sédimentation (VS) et la protéine C réactive (CRP). Le venin d'abeilles trouve son utilité dans l'arthrose grâce à ses propriétés analgésiques et anti-inflammatoires (Bruneau, 2006;Koh et al., 2013;Le conte & Navajas, 2008).

Il existe d'autres pathologies articulaires et/ou rhumatismales où l'apipuncture a montré un intérêt pour le patient. Le traitement de la capsulite rétractile de l'épaule (**Koh et al., 2013**). Les propriétés anti-inflammatoires du venin d'abeille sont utilisées pour soigner certaines pathologies (**Senel et al., 2014**); (**Son et al., 2007**). Pour cela une méthode utilise le même principe que l'acupuncture.

De plus, le venin d'abeille n'influence pas la déformation rhumatoïde, comme indiqué par des radiographies de patients, mais il agit en contrôlant la douleur et l'inflammation (**Krylov et al., 2007**). En outre, BV est utilisée aussi dans le traitement de conditions de douleur différentes : la douleur de cou, des douleurs du bas du dos, la douleur lombaire de l'herniée et la douleur de disque, l'entorse de cheville aiguë, l'entorse de poignet, la polyarthrite chronique évolutive et dans l'osteoarthrose de genou (**Lee et al., 2005**).

## 2.2. Le venin d'abeille contre les maladies cancéreuses :

Il existe des études qui traitent l'effet du venin d'abeille sur le processus de cancérogenèse (**Jean-Prost, 2005 ; Lee H et al., 2015 ; Zheng, 2015**). Il a été démontré que la fixation de la melittine sur les cellules cancéreuses a permis de bloquer leur multiplication et leur propagation (**Pan et al., 2015**).

## 2.3 Le venin d'abeille contre les maladies de la peau :

Les chercheurs ont prétendu que BV a des effets thérapeutiques contre beaucoup de maladies de peau comme l'eczéma, la dermatite, le psoriasis furonculoses, les cicatrices, la calvitie, l'acné et d'autres maladies (**Kim et al., 2015**). En attendant, l'efficacité du venin d'abeille est explorée pour d'autres problèmes cutanés. Par exemple. L'ont étudié dans le traitement de l'acné vulgaire. Les patients ont été traités avec un gel contenant du venin d'abeille lyophilisé (0,06 mg/ml) 2/j pendant 14 jours. (**Hardy, 2012**). Le venin d'abeilles, utilise sous forme de micro-piqures, est aussi intéressant dans certaines affections cutanées comme les escarres nécrosées (**Caillas, 1974**). En outre, l'application thérapeutique de venin d'abeille est efficace in vitro contre les spirochètes agent de la maladie de Lyme (**Ram et al., 2014**).



**Figure 16.** sérum venin d'abeille- Anti Age (iii). **Figure 17.** crème bio au venin d'abeille (iiii)

D'autre maladie en: ophtalmologie , gastroentorologie (colite, ulcères) ,pneumologie (asthme, bronchite), otorinolaringologie (pharyngitis, angine, oreille nerveuritis) et endocrinologie, urologie, gynécologie (**Hegazi et al., 2012**).

#### 2.4. Venin d'abeille contre les maladies de système nerveux :

le venin d'abeille a des effets différents sur le système nerveux central et périphérique il est utilisé pour le traitement de conditions neurologiques différentes comme l'amyotrophie, la sclérose latérale (ALS) et l'Alzheimer (**Hwang et al., 2015**). De façon intéressante, le BV a aussi été utilisé dans des humains pour traiter des maladies neurologiques avec des aspects neuro inflammatoires, comme la sclérose en plaques et la Maladie de Parkinson (**Park et al., 2010 ;Kim & Jeon., 2014 ; Cho et al., 2018**) .

L'usage traditionnel préconise aussi le traitement par venin d'abeille dans les névralgies. Il s'avère que dans des neuropathies périphériques induites par chimiothérapie, l'apipuncture trouve son utilité (**Yoon et al., 2012**). L'équipe de Cho S-Y a utilisé l'apipuncture comme traitement adjuvant dans la maladie de Parkinson idiopathique (**Cho et al., 2012**).

#### 2.5. Effets thérapeutiques de venin d'abeille sur le cœur et les anomalies de système sanguin :

Le venin d'abeille augmente la circulation sanguine coronaire et périphérique, améliore la microcirculation de sang, ralentit le cœur aux doses inférieures et le stimule aux plus hautes doses, baisse la tension, antiarhythmique contre la coagulation de sang et fibrinolytique, stimule la construction d'érythrocytes (**Savilov, 2010**).Il est utilisée aussi dans les allègements d'hypertension, l'artériosclérose, l'arythmie d'angine de poitrine (**Krylov et al., 2007**). Le venin

d'abeille est aussi indiqué dans certaines affections du myocarde, grâce à sa composition enzymatique (Caillas, 1974 ; Munsted, 2005).

#### 2.6. Le venin d'abeille comme un antimicrobien :

La Mélittine et la phospholipase A2 qui désorganisent les membranes cellulaires sont principalement responsables de l'activité antibactérienne, plutôt dirigée vers des bactéries à Gram négatif.

La Mélittine est responsable de l'action antivirale en modifiant la plaque d'adhésion cellulaire, ce qui empêche la fixation de certains virus (notamment le virus de l'herpès simplex de type 1) et par extension leur pénétration. Le venin a montré également une toxicité envers le *Plasmodium falciparum* (Guillaume *et al.*, 2006 ; Deregnacourt & Schrével, 2000).

#### 2.7. Le venin d'abeille comme un antioxydant :

Cette propriété est due à la capacité de certains composés, notamment la Mélittine à piéger les radicaux libres (Domerego & Blanchard, 2012 ; Gharbi, 2011).

#### 1.4.2. Pour les abeilles :

Le venin est l'arme de défense ultime de l'abeille, des ouvrières gardiennes sont postées à l'entrée de la ruche. Dans l'hypothèse où un intrus essaie de pénétrer la ruche, les gardiennes tentent de le faire fuir voire de le tuer et utilisent alors en plus de leurs mandibules, leur appareil inoculateur de venin.

Après la piqûre, les dents du dard l'obligent à rester implanté dans la chair de la victime. Le sac à venin ainsi implanté continue à injecter régulièrement son contenu par des contractions pendant 2 à 5 minutes. Le plus souvent, la douleur engendrée par la piqûre suffit à éloigner l'agresseur, la dose létale pour un adulte de 80 kg est estimée à un peu plus de 1500 piqûres, soit une dose de 19 piqûres/kg environ.

Une particularité concernant la reine lui permet de survivre après la piqûre, son dard lisse qui ne reste pas solidaire de ses victimes et lui permet donc de tuer ses concurrentes déjà sortie ou même encore dans leur cellule (Gauldie, 1976).

### 3. L'activité Anti oxydante

**3.1. stress oxydatif :** Le stress oxydatif est un déséquilibre entre la génération des ERO (Espèces Réactives de l'Oxygène) et la capacité du corps à les neutraliser et à séparer les dommages oxydatifs (Boyd *et al.*, 2003). Il correspond à une perturbation du statut oxydatif intracellulaire (Morel & Barouki, 1999).

#### 3.2. Les radicaux libres :

Les radicaux libres sont connus dans la chimie depuis le début du 20<sup>ème</sup> siècle. Ils ont été initialement utilisés pour décrire des composés intermédiaires en chimie organique et inorganique (Rochette *et al.*, 2013). Ce sont des molécules ou fragment de molécules très réactives, puisque ils contiennent des électrons non appariés dans leur orbite extérieure (Penna *et al.*, 2009), ils cherchent donc à atteindre un état stable en s'appropriant les électrons des molécules proches qui à leur tour deviennent instables (Capasso, 2013).

##### 3. 2-1. Les espèces réactives de l'oxygène (ERO) :

Les radicaux dérivés de l'oxygène représentent la classe la plus importante d'espèces radicalaires générées dans les systèmes vivants (Grassi *et al.*, 2010). Ce sont des molécules très réactives qui sont constamment produites par des réactions enzymatiques dans les cellules (Pérez-Pérez *et al.*, 2013). Il existe plusieurs ERO comme le peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), le radical superoxyde (O<sub>2</sub><sup>•-</sup>) et le radical hydroxyle (HO<sup>•</sup>) (Ivanov *et al.*, 2013).

##### 3.2.2. Les radicaux dérivés d'azote (ERN) :

Contrairement aux ERO, il y a peu de données sur l'altération induite par les espèces réactives d'azote (Kocsy *et al.*, 2013), ils sont considérés comme une sous-classe des radicaux libres qui sont générés par la réaction de l'oxygène avec l'azote (Penna *et al.*, 2009 ). Les ERN incluent des espèces non-radicalaires (acide nitreux, le peroxyde d'azote et l'acide nitroperoxy) et des espèces radicalaires (l'oxyde nitrique et le dioxyde d'azote).

### 3.3. Les antioxydants

#### 3.3-1. définition :

Les antioxydants sont des molécules ayant la capacité de neutraliser des radicaux libres qui sont responsables de nombreuses maladies. Les antioxydants sont des composés qui inhibent ou retardent le processus d'oxydation en bloquant l'initiation ou la propagation des chaînes de réactions oxydatives (Behera *et al.*, 2006).

Les antioxydants naturels ou synthétiques sont utilisés pour prévenir de nombreuses maladies (cardiovasculaires et neurodégénératives, inflammation, diabète...) et le vieillissement, dus à la formation exagérée des radicaux libres. Les antioxydants sont également utilisés dans les aliments pour retarder la détérioration, le rancissement ou la décoloration qui est souvent due à l'oxydation causée par la lumière, la chaleur et certains métaux (Méda, 2005).

### 3.3-2. Mécanisme d'action des antioxydants :

Dans les conditions dites physiologiques, il y a un équilibre entre la production des radicaux libres et les mécanismes endogènes de défense antioxydant constituée par le système, enzymatique (catalase, peroxydase dismutase, glutathion peroxydase), les vitamines A, E et C et les polyphénols apportés par l'alimentation et les plantes. Ainsi le rôle déterminant de la peroxydase dismutase SOD dans le système de défense antioxydant de l'organisme est connu depuis 1968. L'ion peroxyde O<sub>2</sub><sup>-</sup> est le point de départ de la chaîne de production des radicaux libres. Or dès ce stade précoce, la SOD inactive l'ion O<sub>2</sub><sup>-</sup> en le transformant en peroxyde d'hydrogène H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Celui-ci est rapidement catabolisé par la catalase et les peroxydases en dioxygène O<sub>2</sub> et en molécules d'eau H<sub>2</sub>O. L'activité antioxydant de ces molécules est déterminée in vitro par plusieurs méthodes telles que celle du DPPH Selon (**Méda, 2005**).

### 3.3.3. Les type des antioxydants :

#### a. Les antioxydants endogènes :

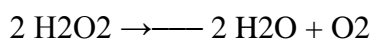
Sont des enzymes ou protéines antioxydants (Superoxyde dismutase,) Catalase, et Glutathion peroxydase) élaborés par notre organisme avec l'aide de certains minéraux. Elles sont présentes en permanence dans l'organisme mais leur quantité diminue avec l'âge (**MIKA et al., 2004**).

#### a.1. Les antioxydants enzymatiques :

##### a.1.1. La catalase :

C'est une enzyme que l'on retrouve principalement au sein des peroxysomes, dans le shépatocytes, les érythrocytes et les cellules rénales.

Elle catalyse la dismutation de peroxyde d'hydrogène en oxygène et en eau.



Cette enzyme est constituée de quatre chaînes polypeptides, comportant chacune un atome de Fer sous forme ferrique (Fe<sup>3+</sup>). Ces derniers constituent les sites actifs de cette enzyme Sa vitesse de réaction est uniquement dépendante de la vitesse limite avec laquelle les molécules parviennent au site actif de l'enzyme ce qui en fait une des enzymes les plus efficaces connues (**Valko et al., 2016**).

##### a.1.2. La glutathion peroxydase :

(GSH-Px) est une enzyme à sélénium ayant la propriété de pouvoir catalyser la réduction des hydrox peroxydes. Elle se retrouve dans les liquides extracellulaires ainsi que dans les cellules, au sein du cytosol et des mitochondries; Elle est constituée de 4 sous-unités contenant chacune un atome de sélénium. Il existe 5 isoformes de cette enzyme variant suivant leur localisation dans l'organisme. (**Richard et al., 1997**).

##### a.1.3. La superoxyde dismutase :

(SOD) est une protéine métallique possédant une activité enzymatique lui permettant de catalyser la dismutation de l'anion superoxydO<sub>2</sub>; Il existe plusieurs SOD, elles diffèrent par le ou les métaux présent(s) dans sa structure qui va (vont) permettre la liaison enzyme-ligand. Il est important de noter qu'il existe des SOD avec deux types de métaux qui pourront être du Cuivre, du Zinc, du Manganèse et/ou du Fer (**Russo-Marie, 1998**).

a.2. Les antioxydants non enzymatiques :

Ce système comprend plusieurs molécules tels que le glutathion, l'acide urique et les protéines de stockage des métaux de transition (ferritine, transferrine, lactoferrine, céruloplasmine) (**Savini et al., 2013**).

b. Les Anti oxydant exogènes :

b.1. Médicaments

b.2. Probucol (Lurselle) :

le Probucol est un médicament qui en plus de ces effets reconnus dans la baisse du taux sanguin de cholestérol, prévient l'athérogènes en agissant comme antioxydant et en supprimant l'oxydation des lipoprotéines de faible densité (LDL) (**Bossokpi, 2002**).

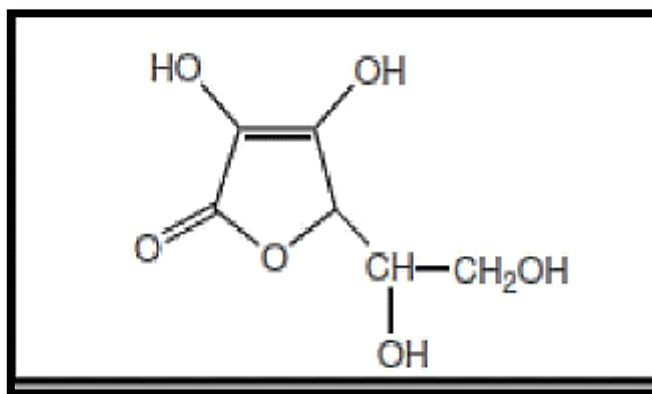
b.3. N-acétylcystéine :

le N-acétylcystéine est une molécule intéressante qui pénètre les cellules et agit de manière très efficace dans la régénération du glutathion. Des recherches ont également démontré que la N-acétylcystéine peut être utile dans le traitement des blessures de poumon dues à des espèces réactives de l'oxygène (**Bossokpi, 2002**).

c. Alimentation :

c.1. Acide ascorbique (vitamine C) :

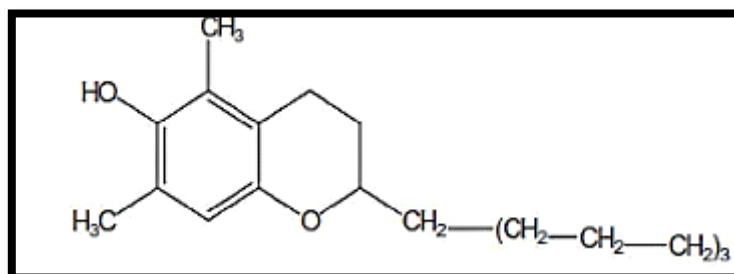
Elle est essentielle pour l'homme, car elle a plusieurs fonctions critiques comme un cofacteur enzymatique et un antioxydant (**Kim et al., 2013**); en tant que cofacteur enzymatique, la vitamine C est impliquée dans la synthèse des catécholamines, du collagène, la synthèse de carnitine, la transformation de la dopamine en noradrénaline, le métabolisme des stéroïdes, de la tyrosine, du cholestérol et la formation de l'acide biliaire. Comme antioxydant, la vitamine C protège l'ADN, les protéines, les lipides, les enzymes et d'autres antioxydants par le piégeage des radicaux libres et la réduction des ions métalliques (**Ge et al., 2008 ; Pallauf et al., 2013**).



**Figure18.** La structure de l'acide ascorbique (vitamine C) (Diallo, 2005).

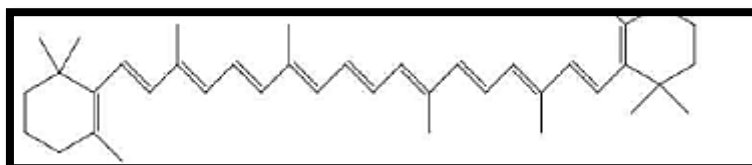
### c.2. Vitamine E :

La vitamine E prévient la peroxydation des lipides membranaires *in vivo* en captant les radicaux peroxydes. Elle est présente dans les huiles végétales (huiles d'arachide, de soja, de chardon, de tournesol et d'olive pressées à froid) ainsi que dans les noix, les amandes, les graines, le lait, les œufs, et les légumes à feuilles vertes (Ahamet, 2003). Elle joue un rôle préventif dans le développement des cancers et sur le vieillissement (Cheick traore, 2006).



**Figure19.** La structure de la vitamine E (Diarra, 2006).

c.3. f.carotène :la  $\alpha$ -carotène qui outre l'activité pro vitaminique A possède la capacité de capter l'oxygène singlet. La recommandation officielle parle d'un apport quotidien de 60 mg de vitamine C et 10 mg de vitamine E. Il n'en existe pas pour le B-carotène. Toutefois ces quantités suffisent juste pour prévenir les phénomènes de carences. C'est la raison pour laquelle les spécialistes recommandent en général un apport quotidien nettement plus élevé : 150 à 300 mg de vitamine C, 50 à 150 mg de vitamine E et 2 à 6 mg de  $\beta$ -carotène. Il est présent dans les légumes verts, la salade, les carottes, l'abricot, le melon, les épinards, la papaye (Bossokpi, 2002).



**Figure20.** La structure d' $\alpha$ -carotène (Diallo, 2005).

### 3.3.4. L'évaluation de l'activité antioxydant :

Depuis ces dernières décennies, les tests d'activité antioxydant ont été largement développés pour évaluer l'efficacité de nouveaux composés (**Desmier, 2016**). Plusieurs méthodes sont utilisées pour la détermination de l'activité antioxydant, nommées d'après le nom de la substance utilisée comme source de radicaux libres, par exemple : FRAP (Ferric reducing antioxidant power), ORAC (oxygène radical absorbance capacity), TEAC (Trolox équivalent antioxidant capacity) ou ABTS (2,2-azinobis 3-ethyl-benzothiazoline 6-sulphonate) et DPPH<sup>+</sup> (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) etc. Il est à indiquer que différentes méthodes donnent des résultats assez différents et devraient être appliquées préférentiellement pour la comparaison de produits similaires (**Georgieva & al., 2010**).

#### 3.3.4.1. Test DPPH :

Le radical DPPH (2,2'-diphényl-1-picryl-hydrazyl) est stable à température ordinaire avec une couleur violette se réduit en 2,2-Diphényl 1 picryl hydrazine de couleur jaune (**Brand-Williams et al., 1995**). Il possède un électron non apparié sur un atome du pont, d'azote (**Popovici et al., 2009**). Facilement mesurable par spectrophotométrie à 517 nm, et par conséquent une diminution de l'absorbance et fut l'un des premiers radicaux libres utilisée pour étudier la relation structure-activité antioxydant des composés phénoliques (Blois, 1958) La méthode est généralement standardisée par rapport à un contrôle positif réalisé avec un antioxydant standard (**Brand-Williams et al., 1995**).

#### 3.3.4.2. Test de la réduction du fer FRAP (Ferric reducing-antioxidant power) :

Le test FRAP (ou Ferric Reducing Ability of Plasma) est une méthode basée sur le changement de coloration lors de la réduction du fer de l'ion ferrique (Fe<sup>3+</sup>) à l'ion ferreux (Fe<sup>2+</sup>) par transfert d'électrons. Cette réduction se fait en présence d'un antioxydant. De par la nature de la réaction de réduction, l'antioxydant doit présenter une capacité de donneur d'électron. Le transfert d'atome d'hydrogène ne sera pas le mécanisme privilégié. L'absorbance est mesurée à 593 nm.

Ce test est peu coûteux, simple, reproductible et rapide. Toutefois il n'est pas capable d'évaluer l'activité antioxydant des thiols (SH), incluant donc les polypeptides et les protéines à groupement cystéine. (**Pellegrini et al., 2003**).

#### 3.3.4.3. Test de TRAP (Total radical-trapping antioxidant parameter) :

Cette méthode est basée sur la protection fournie par les antioxydants sur la décroissance de la fluorescence de la R-phycoérythrine (R-PE) au cours d'une réaction de peroxydation contrôlée. La fluorescence de R-phycoérythrine est désactivée par ABAP (2,2' - azo-bis (2 - amidino-propane) de chlorhydrate en tant que générateur de radicaux. Ce stoppage de la réaction est mesuré en présence d'antioxydants. Le potentiel antioxydant est évalué en mesurant la décroissance de la décoloration selon GHISELLI (**Nuralam et al., 2013**), Les valeurs de TRAP

sont calculée à partir de la longueur de la phase de latence due à l'échantillon par rapport à la norme (**Nur -alam et al., 2013**).

#### 3.3.4.4. Test ORAC :

Le test ORAC (ou Oxygen Radical Absorbance Capacity) est une méthode de mesure de la capacité antioxydant des échantillons biologiques in vitro. Cette méthode mesure la dégradation oxydative d'une molécule fluorescente après ajout d'un générateur de radicaux libres, le 2,2'-azobis (2-amidinopropane) (AAPH). La dégradation thermique de cette molécule en présence d'oxygène va provoquer la génération de radicaux libres de façon régulière qui vont pouvoir attaquer la membrane des globules rouges (**Ou et al., 2001**).

#### 3.3.4.5. Test TEAC ou la réduction du radical- cation ABTS :

La méthode TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity) permet de mesurer la capacité d'un candidat à piéger le radical cation ABTS<sup>•+</sup> (obtenu à partir de sels d'ammonium de l'acide 2,2'-azinobis-(3 éthylbenzothiazoline-6-sulfonique). La particularité de cette méthode est l'aspect compétitif puisque la mesure sera comparé la capacité d'un antioxydant de référence le Trolox (**Pellegrinit et al., 2003**). utilisé pour la détermination de la concentration des radicaux libres, Cette réaction est suivie par spectrophotométrie par la variation de spectre d'absorption (**Jiri et al., 2010**).

## 4. L'activité anti bactérienne :

### 4.1. Définitions :

#### 4.1.1. Un microorganisme :

Un microbe ou micro-organisme est un organisme vivant autonome, généralement unicellulaire, invisible à l'œil nu. Les protozoaires, les champignons microscopiques, les bactéries et les virus sont des microbes (**Prigent-Combaret & lejeune., 1999**). Ils sont Appelés protistes, divisés en deux grandes catégories selon leur structure cellulaire: les protistes supérieurs ou eucaryotes et les protistes inférieurs ou procaryotes (**Salbonière, 2006**).

#### 4.1.2. Une bactérie :

Est des micro-organismes unicellulaires classés parmi les procaryotes, car ils ne possèdent pas de membrane nucléaire. Ce caractère les distingue des autres organismes unicellulaires classés parmi les eucaryotes (champignons, algues, protozoaires).elles sont divisées en bactéries proprement dites (Bacteria) et bactéries primitives (Archaea),toutes les bactéries rencontrées en pathologie appartiennent aux Bacteria.

Les bactéries ont généralement un diamètre inférieur à 1µm. On peut les voir au microscope optique, à l'état frais ou après coloration. Leur forme peut être sphérique (cocci), en bâtonnet (bacilles), incurvée (vibrions) ou spiralée (spirochètes). Les détails de leur structure ne sont visibles qu'en microscopie électronique. (**Nauciele & Vildé., 2005**).

#### 4.1.3. Une l'activité anti bactérienne :

Le terme "agent antimicrobien" désigne toute substance utilisée pour détruire les micro-organismes ou empêcher leur croissance, y compris, agents antibactériens. Les agents antimicrobiens sont utilisés depuis des décennies pour traiter les maladies transmissibles et prévenir les infections. Le mode d'action de ces agents sur les bactéries, peuvent être : Bactériostatique, lorsque la substance inhibe la multiplication des bactéries ou bactéricides : lorsque la substance détruit totalement les bactéries (**Salbonière, 2006**).

#### 4.1.4. Un antibiotique :

Du grec anti, "contre" et bios, "vie", les antibiotiques sont des composés chimiques ayant la propriété de tuer ou d'empêcher la prolifération des micro-organismes pathogènes (**Salbonière, 2006**). Ces derniers sont synthétisés par des microorganismes (le plus souvent des champignons) (**Elghozi & Duval, 1992**).

Il existe plusieurs classifications des antibiotiques, elles sont basées sur le spectre d'action, la cible, ou la famille chimique. Cette dernière celle-ci est la plus fréquemment rencontrée. Les principales familles chimiques des antibiotiques sont :

a. Bêta lactamines: pénicilline et céphalosporines

b. Aminosides: streptomycine, gentamycine

c. Chloramphénicol et thiamphénicol

c.Cyclines: tétracyclines, doxycycline

d.Macrolides et apparentés : érythromycine, oléandomycine. (Cohen & Jacquot, 2001).

#### 4.2. Culture des bactéries :

On utilise habituellement pour cultiver les bactéries des milieux complexes à base d'extraits ou d'hydrolysats enzymatiques de viandes. Ces milieux peuvent être liquides (bouillons) ou solides. La solidification des milieux est obtenue par l'addition de l'agar, un extrait d'algues qui a la propriété de fondre à l'ébullition et se solidifier à des températures inférieures à 40°C.

En milieu liquide, les bactéries se dispersent librement et leur multiplication se traduit par un trouble, le plus souvent homogène. Sur un milieu solide, lorsque la quantité de bactéries est faible, chaque bactérie va pouvoir se multiplier sur place jusqu'à former un amas de bactéries visible à l'œil nu, que l'on appelle colonie (Si la densité bactérienne est trop élevée dans l'échantillon ensemencé, les colonies sont confluentes et forment une nappe.). L'emploi de milieux solides permet ainsi le dénombrement des bactéries viables dans un échantillon (Nauciel & Vildé, 2005).

#### 4.3. Tests d'évaluation de l'effet antibactérien :

Le paramètre le plus souvent utilisé pour évaluer l'effet d'un antibiotique est la CM I (Concentration Minimale Inhibitrice) Elle correspond à la concentration minimale qui inhibe la croissance visible du germe en 24h. Parmi les méthodes applicables dans l'évaluation de l'activité antimicrobienne: la dilution en milieu liquide (croissance bactérienne appréciée par l'apparition d'un trouble); la diffusion sur disque de cellulose (bandelettes imprégnées d'un gradient d'antibiotique)(Ait baziz & Chemli, 2017).

##### 4.3.1. Méthode de dilution en milieu liquide :

En milieu liquide, les bactéries se dispersent librement et leur multiplication se traduit par un trouble. On distribue dans un premier temps, pour la macro dilution, dans une série de tube à hémolyses stériles ou pour la micro dilution dans les cupules d'une plaque, sous un même volume, des concentrations décroissantes d'antibiotique puis on ajoute dans chacun des tubes ou cupules sous un même volume, une culture de bactéries en phase exponentielle de croissance. La CMI de l'antibiotique sur la souche étudiée est définie comme la plus faible concentration inhibant, après 18 à 24 heures de contact à 37°C, toute croissance visible à l'œil nu (Ait baziz & Chemli, 2017).

##### 4.3.2. Méthode de diffusion en milieu solide :

Cette méthode consiste à la diffusion d'un antibiotique dans des puits de 6 mm de diamètre et 3 mm de profondeur avec un puit témoin, creusés dans des boîtes de pétri contenant le milieu

Muller Hinton, après avoir été ensemencées par une suspension bactérienne. Ensuite une incubation à 37°C est faite pendant 18 à 24h. Le diamètre des zones d'inhibition est mesuré à l'aide d'un pied à coulisse (**Ait baziz & Chemli, 2017**).

#### 4.3.3. Méthode de diffusion sur disque de cellulose :

Cette méthode est la plus connue et la plus utilisée, elle consiste en l'ensemencement sur un milieu gélosé, dans une boîte de Pétri, d'une suspension bactérienne. La substance à tester est ensuite imprégnée sur des disques de cellulose, eux-mêmes déposés sur la boîte de pétri avec un disque imprégné d'un solvant qui servira comme témoin négatif. Durant l'incubation, la substance est alors censée diffuser dans la gélose (à la surface et/ou dans la masse) ce qui crée un gradient de concentration dépendant de la substance. L'activité antibactérienne est évaluée par la mesure de la zone de clarification en mm tout autour des disques (**Ait baziz & Chemli, 2017**).

## *CHAPITRE II*

### *Matériel et méthodes*



Notre travail pratique est divisé en deux (2) parties :

**Une 1<sup>er</sup> partie :** qui consiste à l'évaluation de l'activité antioxydant de venin d'abeille de l'espèce *Apis mellifera* par l'utilisation de la méthode de réduction et piégeage du radical libre DPPH.

**2<sup>ème</sup> partie :** c'est une évaluation de l'activité antibactérienne de venin d'abeille de l'espèce *Apis mellifera* par l'utilisation de la méthode de diffusion sur disque.

## **1- Matériel d'étude :**

### **1.1. Matériel Biologique :**

#### 1.1.1. Les échantillons de venin

Le présent travail est mené sur 02 échantillons de venins d'abeilles de l'espèce *Apis mellifera* de 02 sources différentes :

- ✓ **1<sup>ère</sup> source :** venin local (VL) qui a été récolté au sein de la région de 'CONDORCET 'de la wilaya de Batna
- ✓ **2<sup>ème</sup> source :** venin d'origine Egyptien (VE) commercialisé au sein de centre AL AMANA de la médecine complémentaire dans la Wilaya de BATNA.

#### 1.1.2. Les souches bactériennes de référence (ATCC) :

Les souches bactériennes utilisées dans cette étude ont été reçues de laboratoire de bactériologie au niveau de département de biologie de l'université de M'sila :

***Escherichia coli* (ATCC 2789), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538), *Salmonella enter* (ATCC 14028), *Bacillus subtilis* (ATCC 6633) et *staphylococcus sp* (ATCC 25923).**

	Les souches microbiennes testées		Caractéristiques		
	<i>1-Les bactéries</i>	<i>Références</i>	<i>Gram</i>	<i>La forme</i>	<i>La taille</i>
1	<i>Escherichia coli</i>	ATCC 8739	Gram -	bâtonnet	entre 0,5 à 3 µm
2	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27853	Gram -	bâtonnet	de 2 à 4 µm
3	<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 6538	Gram +	Cocci, arrondie	Environ 1 µm
4	<i>Salmonella enter</i>	ATCC 14028	Gram -	bâtonnet	2 à 5 µm
5	<i>Staphylococcus</i>	ATCC 25923	Gram +	Arrondis	0,7 à 1 µm
6	<i>Bacille subtilus</i>	ATCC 6633	Gram +	forme cellulaire des bâtonnets, à bout arrondis	de 2 à 4 µm
ATCC, American Type Culture Collection					

**Tableau 1 :** Les souches microbiennes testées

### 1.2. Matériel et produits de laboratoire :

L'ensemble des matériels et produits utilisés dans notre étude est :

- ✓ Autoclave
- ✓ Spectrophotomètre
- ✓ Balance
- ✓ Etuve
- ✓ Vortex
- ✓ Boite pétri
- ✓ Béchers
- ✓ pipettes
- ✓ micropipettes
- ✓ Tubes à essai stériles
- ✓ Bec bunsen
- ✓ 2 ,2- diphenyl-1-picryl-hydrazyl(DPPH)

- ✓ Acide ascorbique (vitamine C)
- ✓ Ethanol
- ✓ Bouillon nutritif
- ✓ Gélose nutritive
- ✓ Milieu de culture Muller Hinton
- ✓ L'eau distillée stériles

## 2. Méthode D'étude :

### 2.1. Extraction de venin local (VL) :

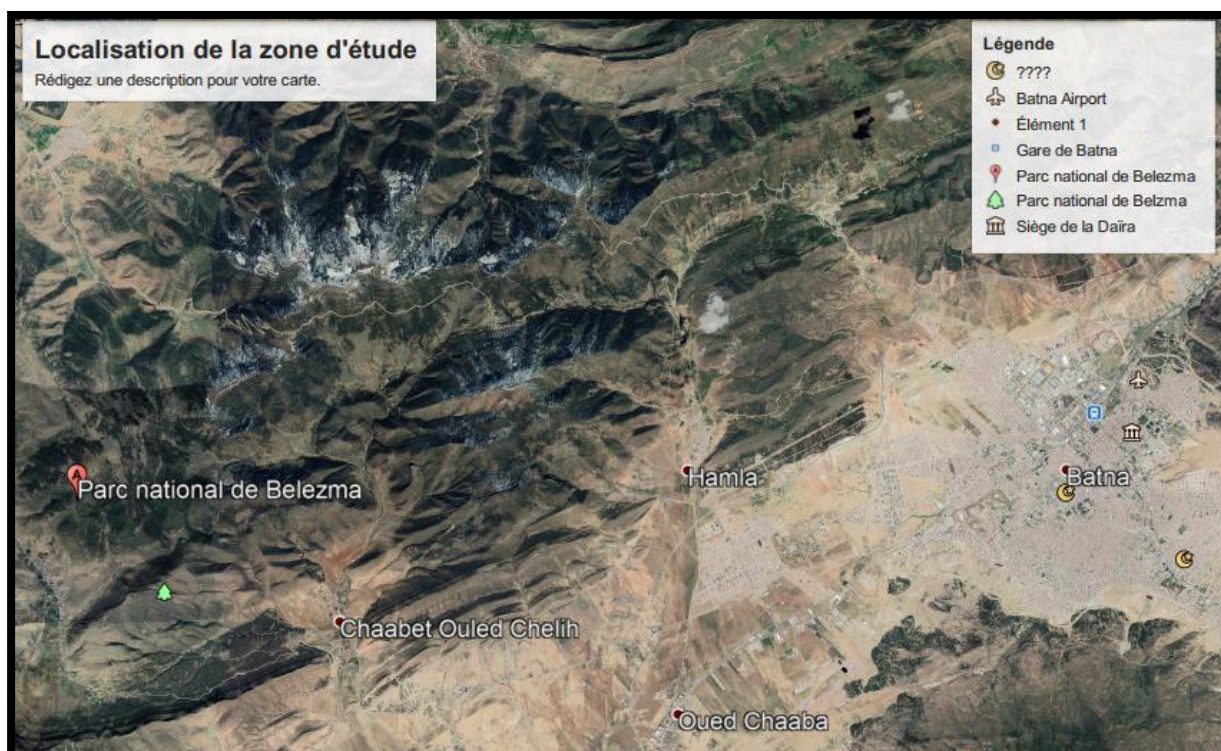
#### 2.1.1. Présentation et localisation de la zone d'étude :

Notre zone d'étude d'où notre VL a été récolté se situe dans le secteur de Hamla appelée aussi : la région de CONDORCET, qui représente la partie Sud/Sud-ouest du Parc National de Belezma. Il s'étend sur une superficie de 9103.82 ha. Les falaises rocheuses se trouvent à 6 km environ du siège du secteur de Hamla avec la piste forestière située le long du versant nord du Djebel Touggurt comme l'unique voie de communication entre la zone d'étude et le village de Hamla.

CONDORCET est un petit bout d'Eden à quelque kilomètres de la ville de Batna , qui devient une destination incontournable situé au piémont de la montagne de chlaâlaâ, il offre un cadre naturel aussi beau que rare : des étendues de verdure ponctuées de cèdres de l'Atlas, imposants ,majestueux, de plus en plus denses à force qu'on pénètre dans la montagne.



Figure21. La région de Condorcet, Hamla, Batna (Khechai & Seraiche, 2019).



**Figure22.** La région de Hamla par Google earth (Khechai & Seraiche, 2019).

### 2.1.2. La méthode de récolte de venin :

Dans notre travail la méthode qui est utilisé pour la récolte c'est la méthode de *l'électrostimulation*.

#### a. le principe de cette méthode :

Cette méthode dépend du principe de choc électrique lorsque l'abeille est exposée à un faible courant alternatif discontinu de 20 ou 25 volts.

#### b. Description du système d'extraction de venin :

Le venin est recueilli à l'aide d'un collecteur. Ce système d'extraction est constitué d'une plaque de verre collectrice surmontée d'une série de fils métalliques qui conduisent l'électricité. Ce dispositif est déposé horizontalement au-dessus de la ruche (il sert de fermeture). Il est relié à un boîtier de commande lui-même branché à une batterie.

L'appareil peut être branché à partir du moment où une première abeille se pose sur la plaque. Il s'agit de provoquer des piqûres réflexes des insectes par électrostimulation. En touchant les fils, l'abeille vide sa vésicule à venin. Après que quelques abeilles ont déchargé leur venin sur la plaque, la colonie réagit en attaquant le collecteur. Ces légers chocs électriques ne sont pas intenses au point de perturber l'abeille lors de sa production de miel et ne présente aucun risque mortel comme c'est le cas après une pique directe d'un être humain car elle perd son dard. Les phéromones d'attaque diffusées par les premiers individus alertent très vite la

colonie (l'odeur de venin dispersé attire aussi les autres abeilles). Le venin des abeilles stimulées par l'appareil séchera assez vite voir immédiatement après la pique (surtout pas au soleil pour éviter d'altérer la substance).

C'est une poudre blanchâtre qui sera finalement fixée sur la vitre : l'apitoxine (venin Débarrassé de ses composants volatiles). Il faudra ensuite simplement désolidariser la vitre collectrice du reste de l'appareil et racler la précieuse poudre avec une lamelle.

Pour le venin (VE), Après le prélèvement, il reste encore trois autres opérations à réaliser avant d'obtenir un produit commercialisable : la dessiccation complète de la poudre obtenue, la purification du produit qui contient encore bon nombre de particules parasites et enfin la lyophilisation du venin.

Alors que le venin local va être utilisé directement (pendant 1h30min nous avons récolté une quantité qui estimé par 100mg de venin).

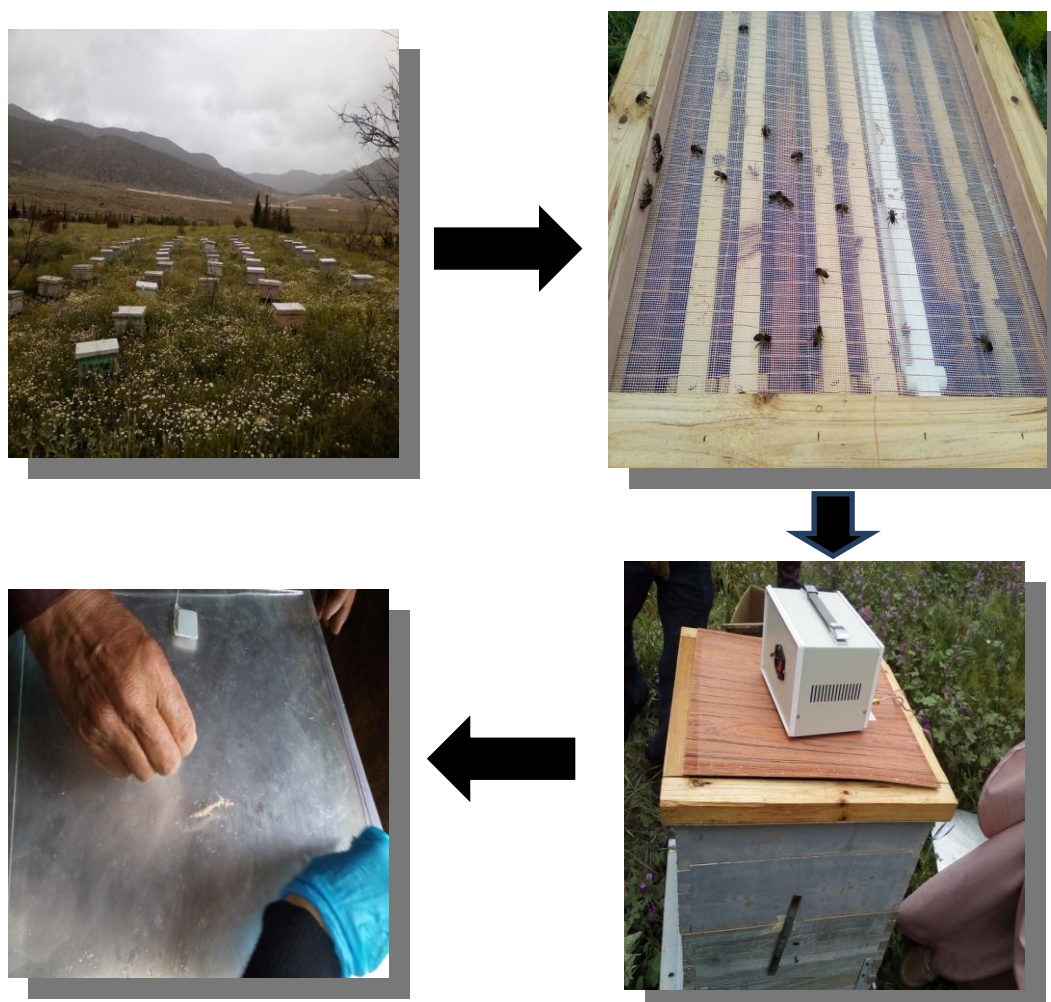


Figure23. Electro-stimulateur utilisé pour la récolte du venin d'abeille (Khechai & Seraiche, 2019)

### 3. L'évaluation de l'activité biologique :

#### 3.1. L'activité antioxydant :

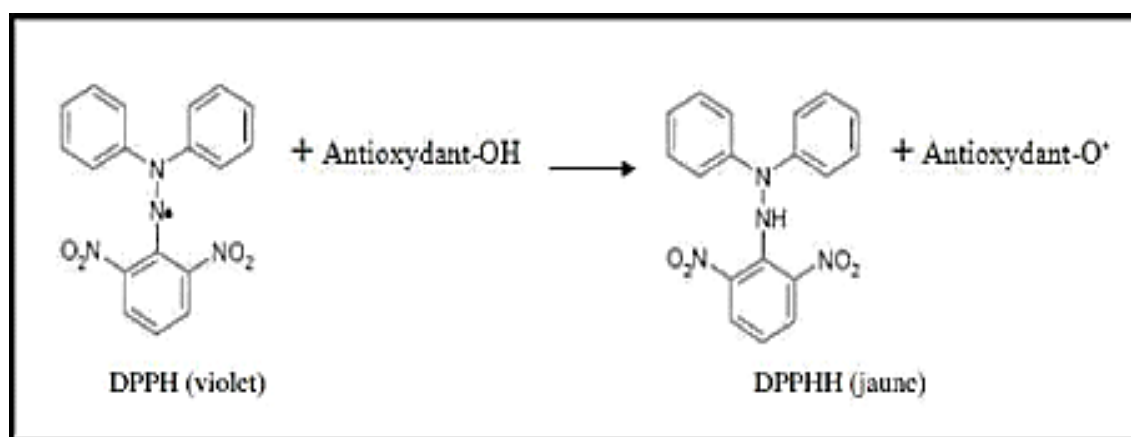
##### 3.1.1. Méthodes d'évaluation de l'activité antioxydant :

###### A. L'objectif :

Pour évaluer l'activité antioxydant de venin d'abeille des deux (02) types de venin, nous avons procédé au test de piégeage par le radical libre DPPH (2,2'-diphényl-1-picrylhydrazyl).

###### B.Principe :

Le DPPH est un radical libre stable violet en solution, il présente une absorbance caractéristique dans un intervalle compris entre 512 et 517 nm, cette couleur disparaît rapidement lorsque le DPPH est réduit en diphényle picryl-hydrazine par un composé à propriété anti-radicalaire, entraînant ainsi une décoloration. L'intensité de la couleur est proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons (Sanchez-Moreno, 2002).



**Figure24.** Réaction de test DPPH (2,2- diphenyle -1-picrylhydrazyle) (Congo, ,2012)

###### C. Protocole :

##### C.1.Préparation des solutions :

Nous avons préparé une gamme de solutions mères (acide ascorbique – DPPH- venin local (VL) et venin de l'étranger (VE).

##### C.1.1. Préparation de la solution mère de venin local :

nous avons préparé la solution du venin à partir de la solubilisation de 100 mg de venin d'abeille (poudre solide) dans un volume d'éthanol qui est estimée à 25 ml donc une concentration de 0.25mg/ml (La préparation est réalisée dans une fiole bien couverte à l'aide du papier aluminium), puis laissée sous agitation à l'aide d'un vortex jusqu'à solubilisation du venin

et obtention d'un mélange homogène.

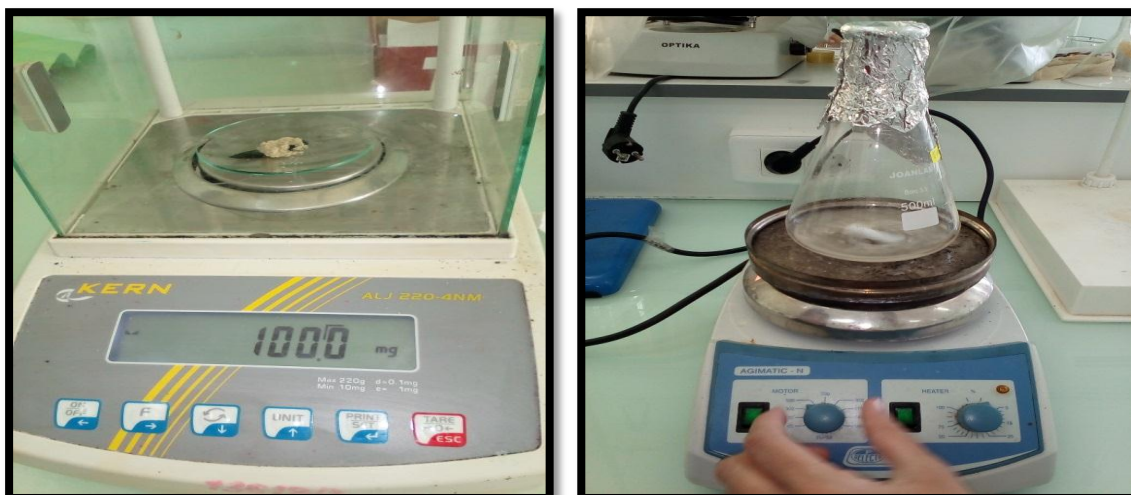


Figure 25. Préparation de la solution mère de venin local (Khechai & Seraiche, 2019)

### C.1.2. Préparation de la solution mère de l'acide ascorbique :

Nous avons préparé la solution mère de l'acide ascorbique à partir de la solubilisation de 30mg de l'acide ascorbique dans 7.5ml de l'éthanol dans un bécher bien couvert à l'aide du papier aluminium et laissé sous agitation par vortex jusqu'à dissolution complète.

### C.1.3. Préparation de la solution de DPPH :

nous avons préparé la solution de DPPH en solubilisant 4mg de DPPH dans un volume d'éthanol qui est estimé à 100 ml (à l'abri de la lumière) dans une fiole bien couverte par papier aluminium puis mise sous agitation par un vortex jusqu'à dissolution complète.

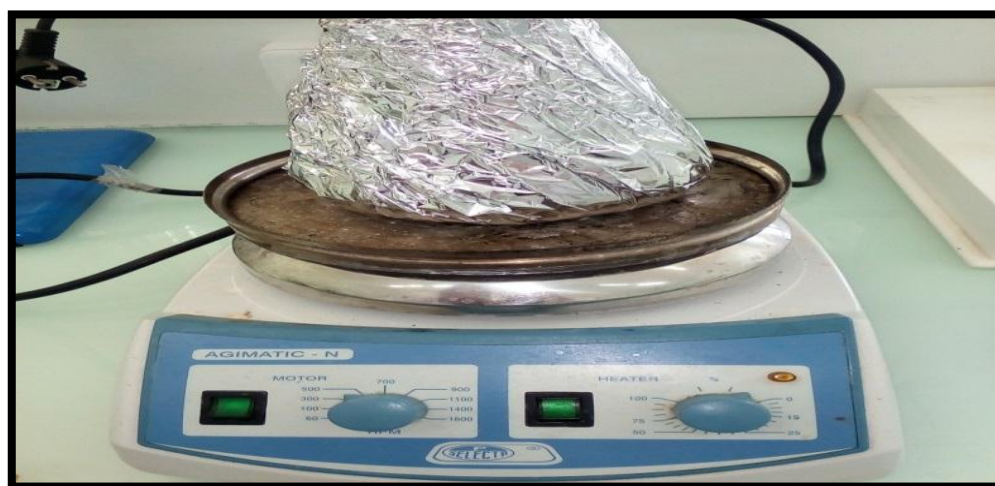


Figure 26. Préparation de la solution de DPPH (Khechai & Seraiche, 2019)

#### C.1.4. Préparation de la solution mère du venin de l'étranger :

Déjà préparé avec la solubilisation de 1g de venin dans un volume de l'eau distille qui est estimé par 250ml donc une concentration de 25mg/ml.

#### C.2. Préparation des séries de dilutions

##### C.2.1. Dilution des solutions mères de venin (local et celui de l'étranger) :

Nous avons préparé nos séries de dilutions dans des tubes secs (10 tubes stériles par autoclave) dont 9 tubes contiennent 9 ml de l'éthanol pour chacun, avant de commencer les séries de dilutions nous avons, tout d'abord, identifié ces tubes selon l'ordre suivant :

- 1<sup>er</sup> tube : qui porte l'étiquette (SM) pour solution mère, et qui contient 10 ml de la solution de venin (VL ou VE).
- 2<sup>ème</sup> tube qui porte l'étiquette  $10^{-1}$  et qui contient les 9 ml de l'éthanol déjà présente surajouté de 1ml de la solution mère, puis le tube est bien mélangé à l'aide d'un vortex.
- 3<sup>ème</sup> tube qui porte l'étiquette  $10^{-2}$  qui contient 9ml de l'éthanol surajouté de 1ml de la solution de 2<sup>ème</sup> tube ( $10^{-1}$ ) puis bien homogénéiser à l'aide d'un vortex.

C'est le même travail pour le reste des tubes jusqu'au dernier tube ( $10^{-10}$ ).



**Figure27.** Préparation de la série de dilutions pour le venin (Khechai & Seraiche, 2019).

##### C.2.2. Dilution de la solution mère de l'acide ascorbique :

Nous avons préparé la série de dilution de l'acide ascorbique de la même manière que celle des venins, la différence réside dans les volumes utilisés car dans cette fois ci avec l'acide ascorbique nous avons économisé à moitié dans l'utilisation des réactifs : dans 09 tubes secs stériles, 4,5 ml de l'éthanol été mise, puis les 10 tubes utilisés ont été identifiés :

- 1<sup>er</sup> tube qui porte l'étiquette (SM) pour solution mère et qui contient 5ml de la solution éthanoïque de l'acide ascorbique.

- 2ème tube qui porte l'étiquette  $10^{-1}$  et qui contient 4.5ml de l'éthanol avec 0.5ml de la solution mère, puis bien mélanger à l'aide d'un vortex.

- 3ème tube qui porte l'étiquette  $10^{-2}$  et contient et 4.5ml de l'éthanol surajoutée de 0.5ml de la solution du 2<sup>ème</sup> tube ( $10^{-1}$ ) puis bien homogénéisé vortex.

Nous avons refait le même travail pour les autres tubes jusqu'au dernier tube ( $10^{-10}$ ).

### C.2.3. Dilution de la solution de DPPH :

Nous avons préparé la série de dilution pour la solution de DPPH exactement avec les même étapes et les mêmes volumes que dans celle de l'acide ascorbique jusqu'aux dernier tube ( $10^{-10}$ ).

### C.3. Le dosage :

L'activité du piégeage du radical DPPH a été évaluée selon le protocole suivant :

C.3.1. 1ml de chaque dilutions de venin (solution mère,  $10^{-1}$   $10^{-2}$   $10^{-3}$   $10^{-4}$   $10^{-5}$   $10^{-6}$   $10^{-7}$   $10^{-8}$   $10^{-8}$   $10^{-9}$   $10^{-10}$ ) mg/ml sont ajoutés à 1 ml de la solution du DPPH (0,004% dans l'éthanol).

C.3.2. un témoin négatif est préparé en mélangeant 1ml de chaque dilution de la solution de DPPH avec 1ml de l'éthanol.

C.3.3. Le contrôle positif est réalisé avec une solution d'un antioxydant standard; l'acide ascorbique (1ml de la solution de DPPH avec 1ml de chaque dilution de l'acide ascorbique).

- l'incubation : 30 min d'incubation à l'obscurité et à température ambiante.

- La lecture de l'absorbance est faite contre un blanc (éthanol /eau : 1ml de l'eau distillée + 1ml de méthanol).

-la lecture de l'absorbance : à 517nm.

### 3.1.2. Expression des résultats :

A. Calcul des pourcentages d'inhibitions :

Les pourcentages d'inhibition sont calculés à l'aide de la formule suivante :

$$I \% = ((Ac-At)/Ac) \times 100$$

Donc :

-Ac: Absorbance du contrôle négatif.

-At: Absorbance du test effectué.

B. Calcul des concentrations efficaces IC50 :

IC50 ou concentration inhibitrice de 50 %, est la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50 % de radical DPPH. Les IC50 sont calculées graphiquement par les régressions linéaires des graphes tracés; pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations des fractions testées.

C. Calcul de l'activité anti radicalaire APR : ou activité anti radicalaire qui est inversement proportionnel à l'EC50 (concentration d'inhibition).

$$\text{APR} = 1/\text{EC50}$$

### 3.2. L'activité antibactérienne :

#### 3.2.1. Méthodes d'évaluation de l'activité antibactérienne :

L'activité antimicrobienne des dilutions a été déterminée par la méthode de diffusion sur milieu gélosé cité par (Treki et al., 2009).

##### A. principe :

L'activité antimicrobienne des dilutions était testée *in vitro* par la méthode de diffusion sur gélose. Cette méthode a exactement le même principe que celui des tests d'antibiogramme; c'est-à-dire, l'application de patches imprégnés de principes actifs sur des milieux de cultureensemencés de microorganismes.

Elle était présente, se manifestait alors par des zones d'inhibition autour des disques, et en fonction du diamètre d'inhibition la souche du microorganisme sera qualifiée de sensible, d'intermédiaire ou de résistante.

Le support Bactérien est composé de souches bactériennes référentielles choisies sous forme des lots "*American Type Culture Collection*" ATCC, Elles ont été fournies par le laboratoire de microbiologie de l'université Mohamed Boudiaf M'sila.

##### B. le matérielle bactérien utilisé :

Nous avons utilisé des milieux de culture et des souches bactériennes.

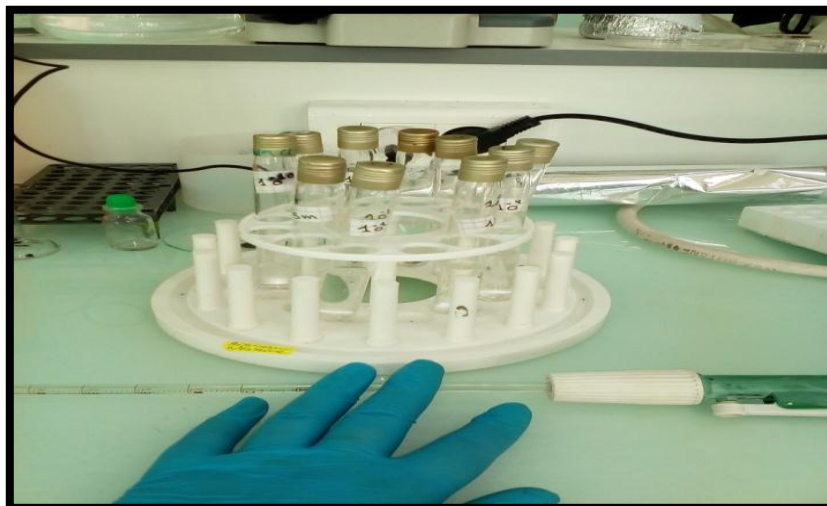
##### B.1 : les milieux de culture utilisés :

- La gélose nutritive pour la conservation des souches bactériennes.
- Bouillon Nutritif pour l'enrichissement de l'inoculum.
- La gélose Mueller Hinton pour l'étude de la sensibilité des bactéries.

C. Protocol :

C.1. la préparation de dilution :

Nous avons utilisé le venin de l'étranger (VE) pour évaluer cette activité (le même travail que l'activité antioxydant pour la préparation de dilution de venin de l'étranger).



**Figure29.** Préparation des dilutions de venin de l'étranger (Khechai & Seraiche, 2019).

C.2. Préparation de milieu de culture (Muller Hinton) :

la gélose de Muller Hinton déjà préparée à l'avance et conservée dans un flacon, la gélose Mueller Hinton est fondue dans un bain marie à 95°C et coulée en boîte de pétrie sur une épaisseur de 4mm, et on laisse quelques minutes jusqu'à la solidification (cette opération a lieu dans une zone stérile du bec bunsen).

C.3 Préparation des disques :

Nous avons utilisé des disques de 6 mm de diamètre découpés sur papier Wattman N°1 pour donner une zone d'inhibition facile à mesurer. Les disques une fois préparés, sont introduits dans un flacon en verre et placés dans l'autoclave pendant 20 minutes à 120°C.

C.4. Préparation de l'inoculum :

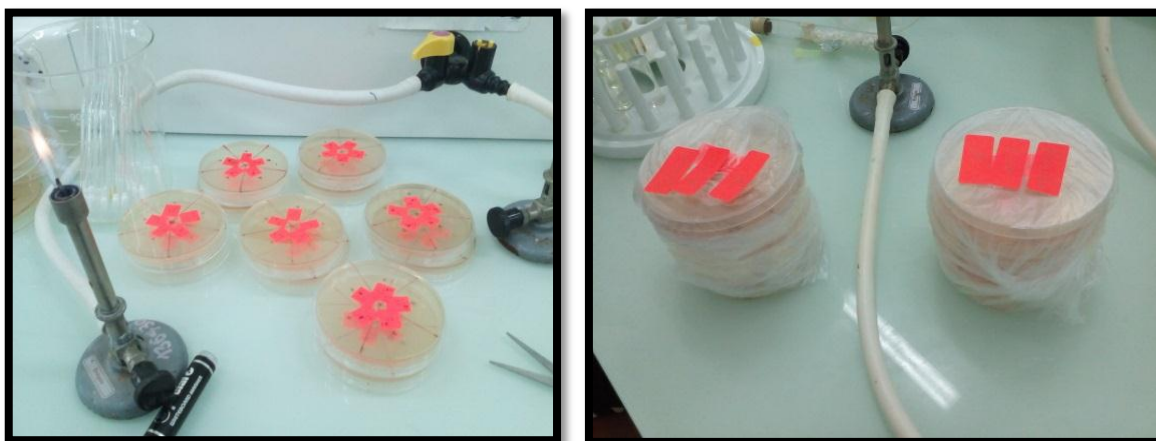
Les différentes souches bactériennes ont été repiquées par la méthode des stries, puis incubées à 37°C pendant 18 à 24 heures afin d'obtenir une culture jeune et des colonies isolées qui ont servi par la suite à préparer l'inoculum en les trempant dans des tubes de solution d'eau distillée stérile (5ml) afin d'avoir une densité cellulaire (1 à  $2 \times 10^8$  McFarland) à 625 nm correspond à une DO= 0.08 à 0.12

C.5.L'ensemencement :

Nous avons trempé un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne. Puis flouter l'écouvillon sur la totalité de la surface géloses sèche, de haut en bas en stries serrées. L'opération doit se refaire deux fois encore plus en tournant la boîte de pétrie d'un angle de 60° à chaque fois sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même. Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.

#### C.6. l'application des disques :

A l'aide d'une pince stérile au bec bunsen, déposer les disques sur la gélose ensemencée, en effet de chaque dilution on prélève 15 µl de chaque dilution de venin (dans chaque boîte Cinque 5 disques), les boîtes de pétri sont ensuite placées au frigo pendant 2 heures à températures 4°C pour faciliter la diffusion puis incubées renversées à 37 °C. Après 18 à 24 heures d'incubation, les diamètres des zones d'inhibitions autour des différents disques sont mesurés à l'aide d'une règle graduée.



**Figure 30.** Préparation des souches bactérienne (photo personnelle, 2019).

#### c.7.Lecture des résultats :

La lecture des résultats est faite le lendemain, La sensibilité des bactéries cibles envers les différents composés est classée selon les diamètres des halos d'inhibition :

- Ø < 0.8 mm : bactérie non sensible
- 0.9 < Ø < 1.4 mm : bactérie sensible
- 1 < Ø < 1.9 mm : bactérie très sensible
- Ø > 2 mm : bactérie extrêmement sensible
- Ø = le diamètre de la zone d'inhibition



# *CHAPITRE III*

## *Résultats et discussion*

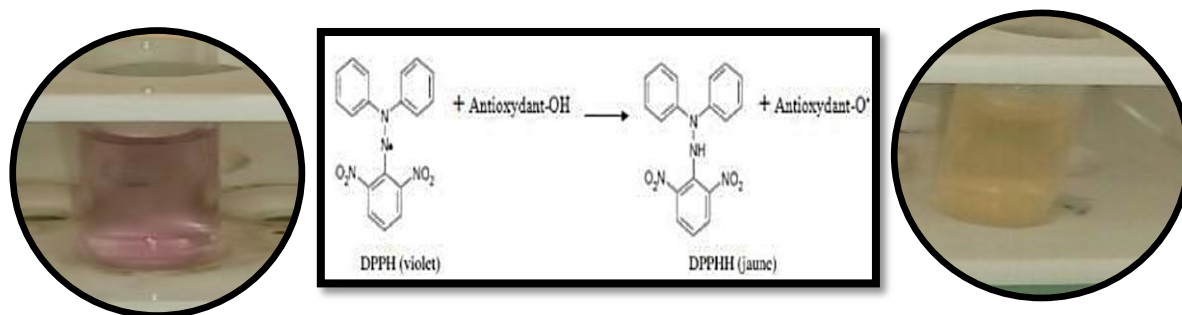


## 1. La Résultat de l'activité biologique de venin :

### 1.1. L'activité antioxydant :

a. Piégeage du radical libre DPPH· (2,2-diphényle-1-picrylhydrazyl) :

La méthode de radical liber DPPH basée sur un changement de couleur de la solution de violet au jaune.



**Figure31.** Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH

Donc, dans notre cas il ya une activité anti oxydante estimée :

a.1. à l'œil nu :

Nous avons constaté à l'œil nu un changement de la couleur des différentes dilutions dans les deux (2) types de venin (local et de l'étranger) qui sont très comparables, par rapport aux dilutions de témoin positif (l'acide ascorbique)



**Figure(32) :** acide ascorbique après réduction avec le radical libre DPPH (Khechai & Seraiche ,2019).



**Figure(33) :** venin local après réduction avec le radical libre DPPH (Khechai & Seraiche ,2019).



**Figure(34) :** venin de l'étranger après réduction avec le radical libre DPPH (Khechai & Seraiche ,2019).

a.2. graphiquement :

Les résultats obtenus du test de la mesure du pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH de différentes fractions sont représentés dans les courbes suivantes :

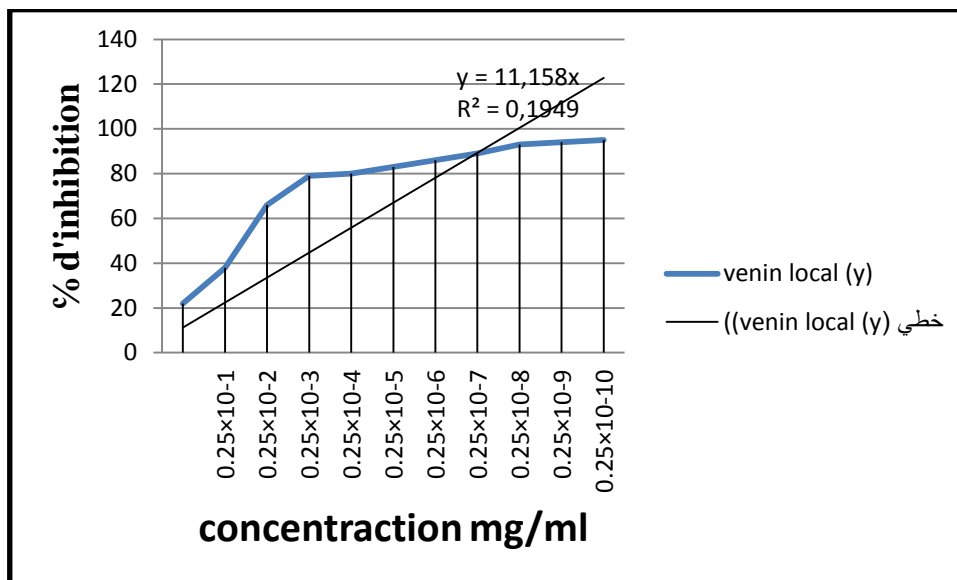


Figure35. Courbe désigne le Pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction de la concentration de venin de local

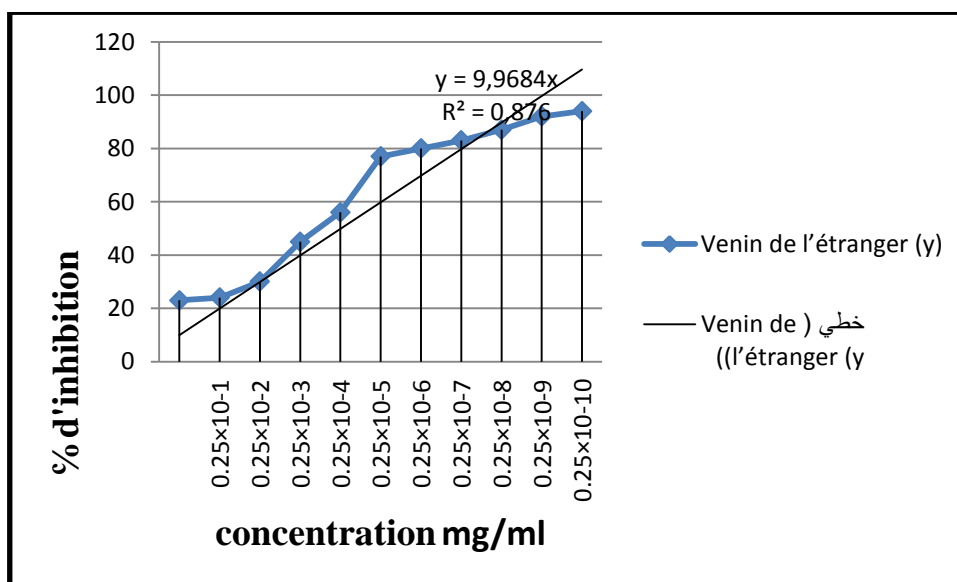
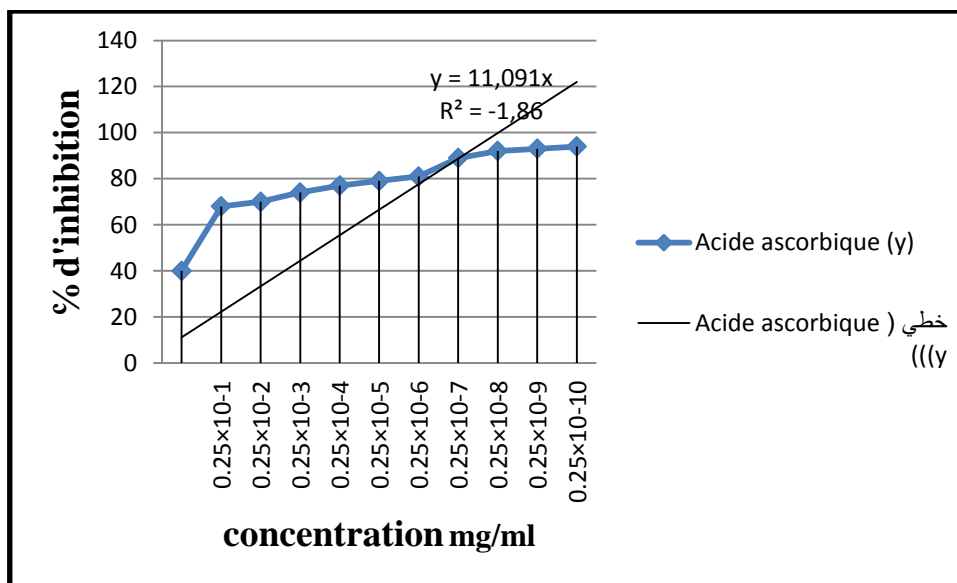


Figure36. Courbe désigne le Pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction de la concentration de venin de l'étrange



**Figure36.** Courbe désigne le Pourcentage d’inhibition du DPPH en fonction de la concentration de l’acide ascorbique

A partir de ces courbes nous pouvons déterminer :

- a. la concentrations efficaces IC50
- b. l’activité anti radicalaire APR

**Tableau 2 :** la variation du pourcentage d’inhibition IC50 et l’activité anti radicalaire APR

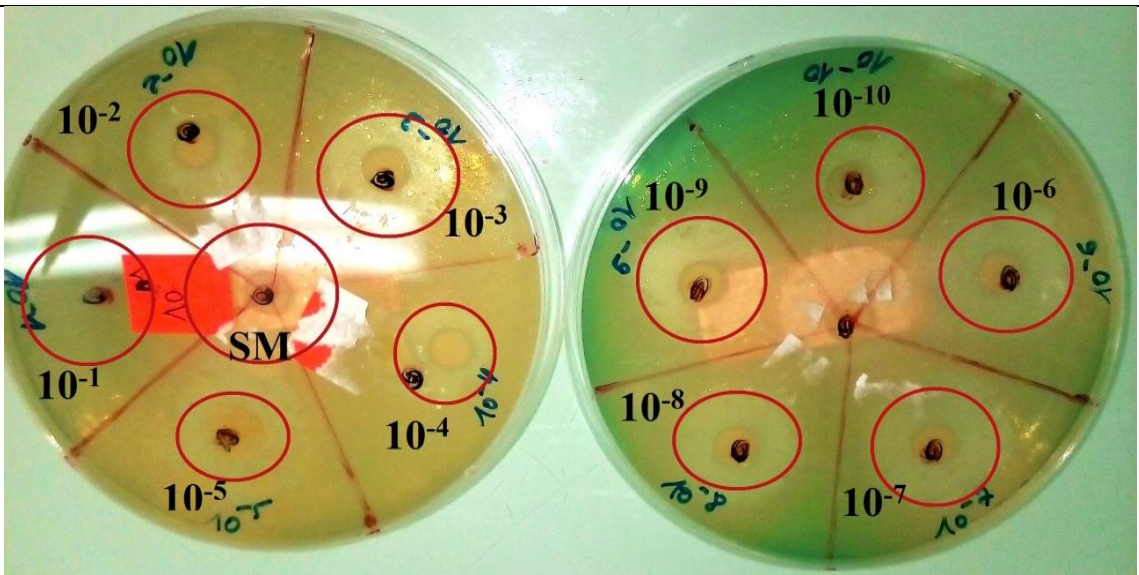
	IC50	APR
Le venin local	4.48	0.223
Le venin de l’étranger	5.02	0.199
L’acide ascorbique	4.5	0.222

### 1.2. L’activité antibactérienne :

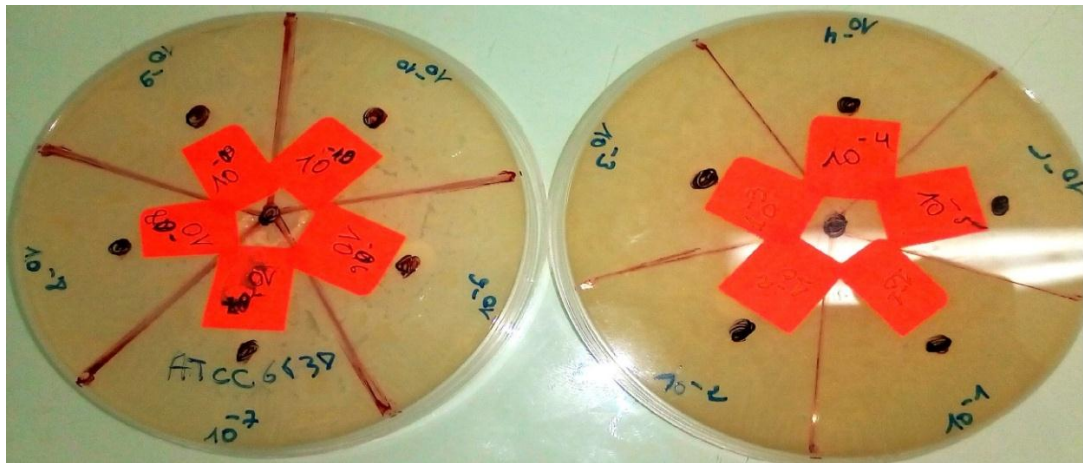
Nous avons observées une activité antimicrobienne variable vis-à-vis de souches testées. Les résultats obtenus sont représentées dans le tableau 4 :

**Tableau 3 :** Les diamètres de zone d'inhibition (cm).

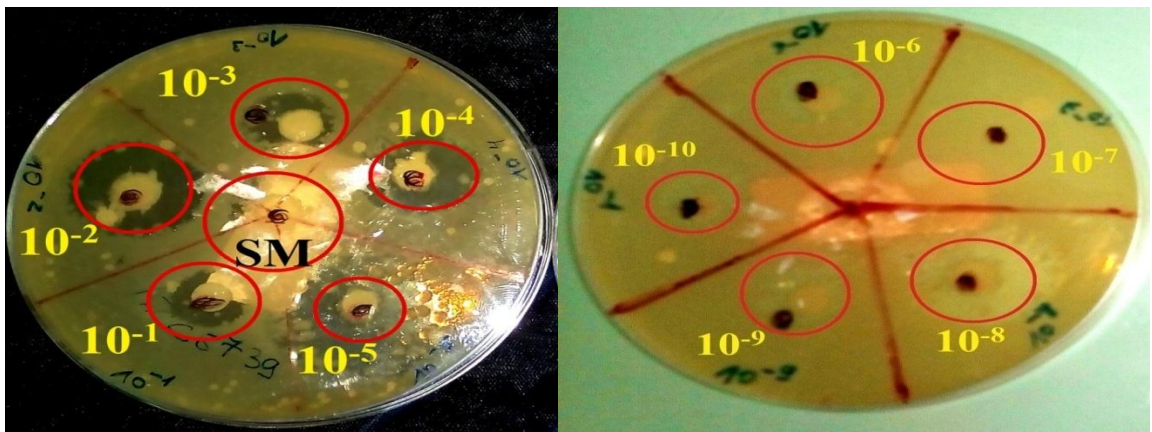
	<b>ATCC 27853</b>	<b>ATCC 6538</b>	<b>ATCC 8739</b>	<b>ATCC 14028</b>	<b>ATCC 25923</b>	<b>ATCC 6633</b>
<b>SM</b>	<b>2.2</b>	<b>-</b>	<b>2</b>	<b>2.3</b>	<b>2.8</b>	<b>2.6</b>
<b>10<sup>-1</sup></b>	<b>2.1</b>	<b>-</b>	<b>1.9</b>	<b>2.2</b>	<b>2.7</b>	<b>2.6</b>
<b>10<sup>-2</sup></b>	<b>2.2</b>	<b>-</b>	<b>2</b>	<b>2.1</b>	<b>2.5</b>	<b>2.5</b>
<b>10<sup>-3</sup></b>	<b>1.9</b>	<b>-</b>	<b>1.9</b>	<b>2</b>	<b>2.4</b>	<b>2.5</b>
<b>10<sup>-4</sup></b>	<b>1.8</b>	<b>-</b>	<b>1.8</b>	<b>2</b>	<b>2.4</b>	<b>2.1</b>
<b>10<sup>-5</sup></b>	<b>2</b>	<b>-</b>	<b>1.7</b>	<b>2</b>	<b>2.3</b>	<b>2</b>
<b>10<sup>-6</sup></b>	<b>1.9</b>	<b>-</b>	<b>1.7</b>	<b>1.9</b>	<b>2</b>	<b>-</b>
<b>10<sup>-7</sup></b>	<b>1.8</b>	<b>-</b>	<b>1.7</b>	<b>1.7</b>	<b>2.1</b>	<b>1.8</b>
<b>10<sup>-8</sup></b>	<b>1.8</b>	<b>-</b>	<b>1.8</b>	<b>1.7</b>	<b>1.9</b>	<b>-</b>
<b>10<sup>-9</sup></b>	<b>1.7</b>	<b>-</b>	<b>1.6</b>	<b>1.3</b>	<b>1.7</b>	<b>1.5</b>
<b>10<sup>-10</sup></b>	<b>1.5</b>	<b>-</b>	<b>0.2</b>	<b>1.2</b>	<b>1.5</b>	<b>1.2</b>



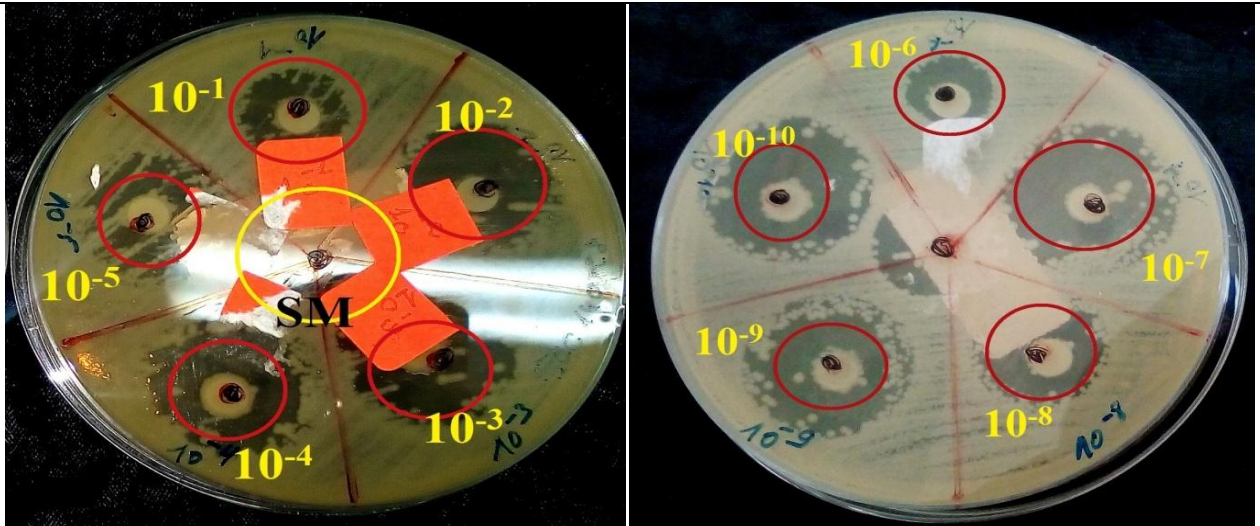
Les zones d'inhibition *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853



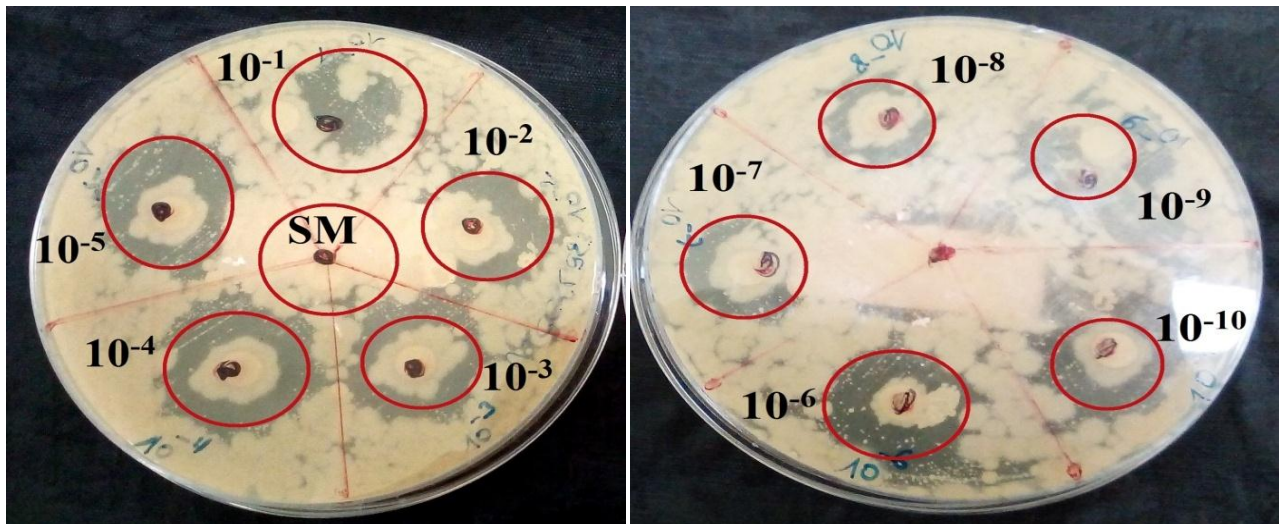
Les zones d'inhibition *Staphylococcus aureus* ATCC6538



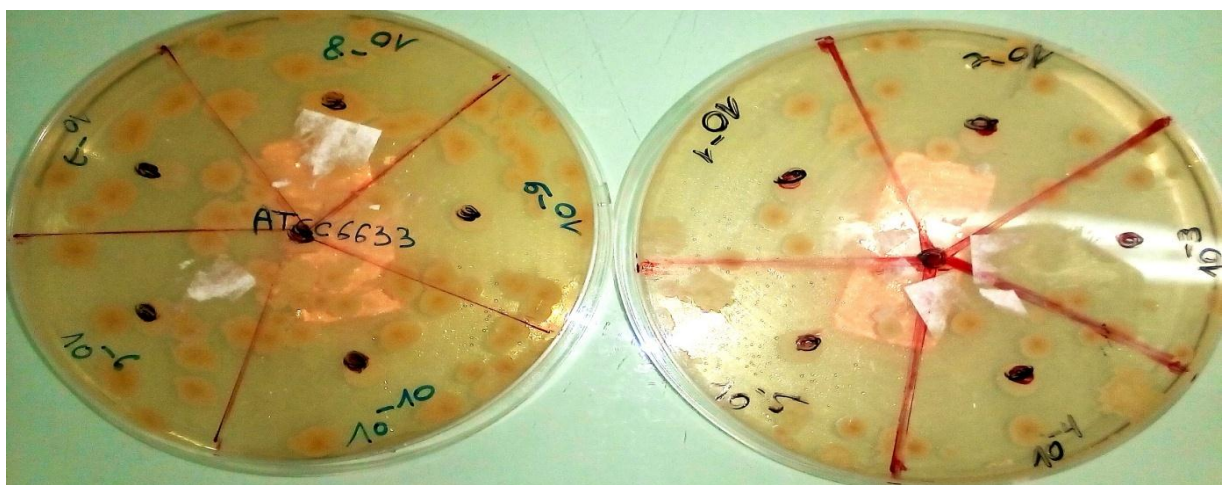
Les zones d'inhibition *Escherichia coli* ATCC8739



Les zones d'inhibition *Salmonella enter* ATCC14028



Les zones d'inhibition *Staphylococcus* ATCC25923



Les zones d'inhibition *Bacillus subtilis* ATCC6633

Figure37 : Zones d'inhibition de souches bactériennes testées (Khechai & Seraiche, 2019).

## 2. La discussion

### 2.1. L'activité anti oxydant :

Pour la capacité de piégeage de radicaux libres DPPH par nos extraits, l'IC50 a été déterminé afin de pouvoir comparer cette capacité par rapport à celle de l'acide ascorbique comme molécule de référence (témoin positif).

Tous nos extraits ont un pouvoir anti radicalaire envers le DPPH, plus la valeur de l'IC50 est petite plus l'extrait est considéré comme un antioxydant puissant.

D'après ces résultats, nous pouvons déduire que la réduction de 50% du DPPH a été atteinte par notre extrait en 30min ce qui en fait une réaction intermédiaire en terme de cinétique. Nos résultats montrent que les activités anti-radicalaires des extraits des deux variétés de venins sont assez importantes. On remarque aussi que le pouvoir anti-radicalaire augmente avec l'augmentation de la concentration, C'est l'échantillon de venin local qui a présenté le plus important pouvoir anti-radicalaire. Par contre l'échantillon provenant de l'Égypte a présenté le plus faible pouvoir anti-radicalaire.

D'autre part, l'Acide ascorbique a montré une activité antioxydant avec une IC50 de l'ordre 4.5mg/ml donc très proche par rapport à nos extraits surtout par rapport à la variété locale dont la valeur de l'IC50 est 4.48mg/ml donc légèrement inférieur à celle de l'acide ascorbique (témoin positive), par contre l'IC50 de la variété Égyptienne est plus élevée dont la valeur est égale à 5.02mg/ml.

Les propriétés antioxydants des différents extraits végétaux et des composés purs peuvent être évaluées en utilisant divers essais in vitro. En effet, pour les propriétés antioxydants de la propolis algérienne ainsi que pour la propolis portugaise du nord-est et du centre du Portugal ont déjà été démontrées en utilisant la méthode DPPH et le pouvoir (Moreira et al., 2008). Par conséquent, ces extraits étant capables d'empêcher la formation de radicaux anioniques superoxydes, ils empêchent aussi l'oxydation et les dommages des tissus vivants. Les extraits éthanoliques de la propolis provenant du Portugal ont montré que les valeurs d'IC50 obtenues sont de l'ordre de 6 et 25 µg/ml. Ces résultats rejoignent ceux du travail algérien ( 6 et 22 µg/mL pour Babor et Boutaleb, respectivement).

Par ailleurs, une étude montre également que le miel (autre produits de l'abeille) présente une activité antioxydant avec une IC50 de l'ordre de 2.5mg/ml.

Donc : D'après les résultats d'IC 50 obtenus pour les 03 produits de la ruche nous concluons comme suit :

- a. Le venin d'abeille en général est doué d'une forte capacité anti-radicalaire libre.

- b. Le venin d'abeille locale qui possède une activité anti oxydante la plus forte par rapport à la variété de l'étranger et même très comparable à un antioxydant de référence, l'acide ascorbique car  $IC_{50} \text{ de VL} \approx IC_{50} \text{ de AC} < IC_{50} \text{ de VE}$ .
- c. La propolis, comme un 2<sup>ème</sup> produit de la ruche présente les plus faibles capacités anti-oxydantes.
- d. Par contre le miel, comme un 2<sup>ème</sup> produit de la ruche, qui présente une capacité excellente de piégeage des radicaux libres.

Donc, on peut conclure que le venin d'abeille, constitue un excellent antioxydant naturel de substitution pour le miel, tandis que la propolis constitue l'antioxydant naturel de substitution de venin donc des 02 autres produits de la ruche.

Les composés phénoliques sont doués d'effets biologiques multiples, y compris l'activité antioxydant (Ahn et al., 2007). Parmi les principaux groupes de composés présents dans la propolis nous retrouvons les polyphénols et les flavonoïdes qui peuvent agir sur l'élimination des radicaux libres ou empêchent leur formation. Ce fait peut contribuer à la capacité de la propolis à empêcher l'oxydation (Ahn et al., 2007 ; Moreira et al., 2008).

Les radicaux libres peuvent être piégés ou neutralisés par des substances antioxydantes naturellement présentes dans les plantes médicinales, les fruits et les légumes (Schramm et al., 2003). Etant donné que le miel est élaboré à partir des plantes il est tout à effet normale qu'il contienne des substances antioxydantes. les principaux agents antioxydants du miel sont les composés phénoliques, les caroténoïdes, et la vitamine C (Al Mamary et al., 2002).

Concernant le venin, cette propriété anti-oxydante est due à la capacité de certains composés, notamment la Mélittine à piéger les radicaux libres (Domerego & Blanchard, 2012) (Gharbi, 2011).

## 2.2. L'activité antibactérienne :

La méthode de diffusion en milieu gélosé a permis de mettre en évidence le pouvoir antibactérien de venin vis-à-vis six (6) souches bactériennes.

Cette technique est intensivement employée pour étudier l'activité antibactérienne des substances naturelles. Elle est basée sur l'utilisation des disques comme réservoirs contenant la solution des substances à examiner (Gulçin et al., 2004).

Le potentiel antibactérien des extraits de venin étudiés, exprimé en mesurant les diamètres des zones d'inhibition, en millimètre aux tours des disques.

### 2.2.1. La souche *Escherichia coli* ATCC8739 :

Les zones d'inhibition mesurées, pour la souche *Escherichia coli* ATCC8739 varient de 16 à 20mm donc *Escherichia coli* est une bactérie extrêmement sensible au venin d'abeille, Les

bactéries gram-négatives *Escherichia coli* sont l'hôte commensal aérobie le plus fréquent du côlon. Certaines souches produisent de la diarrhée et toutes les souches sont infectieuses lorsqu'elles envahissent les sites sains (ex., les voies urinaires).elles peuvent causer :

- Infection urinaire (le plus souvent)
- Infection entérique (certaines souches)
- Infection invasive (rare, sauf chez les nouveau-nés)
- Infection à d'autres sites

D'autres souches sont susceptibles d'entraîner une infection extra-intestinale si les barrières intestinales anatomiques normales sont rompues (p.ex., par une ischémie, une maladie intestinale inflammatoire, ou un traumatisme), dans ce cas, le germe peut se propager aux structures adjacentes ou envahir le sang. Des infections hépatobiliaires, péritonéales, cutanées et pulmonaires sont également possibles. Une bactériémie à *E. coli* peut également se manifester sans point de pénétration évident.

Outre le fait qu'il est résistant à l'ampicilline et à la tétracycline, *E. coli* est devenu de plus en plus résistant au TMP/SMX et aux fluoro quinolones. En outre, des souches multi résistantes qui produisent des bêta-lactamases à spectre étendu ont émergé comme une cause importante d'infection urinaire et de sepsis en ville. Les bêta-lactamases à spectre étendu peuvent hydrolyser la plupart des bêta-lactamines, y compris les pénicillines et les céphalosporines et monobactames à large spectre. Chez le nouveau-né, les nourrissons prématurés en particulier, *E. coli* est une cause fréquente de bactériémie ou de méningite (provoquées par les souches qui possèdent une capsule K1, un marqueur de neuro-invasivité

### 2.2.2. La souche *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 :

Les intervalles d'inhibition mesurée pour la souche *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 varient entre 15 à 20 mm donc la bactérie est extrêmement sensible au venin d'abeille

*Pseudomonas aeruginosa* est un bacille Gram négatif, c'est un pathogène opportuniste qui entraîne fréquemment des infections nosocomiales, en particulier chez le patient sous respirateur, les brûlés et les patients fragiles atteints de maladies chroniques. De nombreux sites peuvent être infectés et l'infection est habituellement sévère.

*Pseudomonas* est ubiquitaire et préfère les environnements humides. Chez l'homme, *P. aeruginosa* est le pathogène le plus fréquent.

*P. aeruginosa* est parfois présent dans l'aisselle et les zones anogénitales de la peau normale mais rarement dans les selles sauf si des antibiotiques sont administrés. Dans les hôpitaux, le microorganisme est fréquemment présent dans des milieux humides tels que siphons de vidange, solutions antiseptiques et bocal de recueil d'urines. La transmission aux

patients par le personnel soignant peut survenir, en particulier dans les Unités de Soins Intensifs pour brûlés et de néonatalogie à moins que les pratiques de contrôle des infections soient scrupuleusement respectées.

La plupart des infections dues à *P. aeruginosa* apparaissent chez le patient hospitalisé, particulièrement affaibli ou immunodéprimé. *P. aeruginosa* est une cause fréquente d'infection en unité de soins intensifs (USI). Les patients infectés par le VIH (en particulier ceux qui sont à un stade avancé) et ceux qui présentent une mucoviscidose sont à risque de développer des infections à *P. aeruginosa* contractées en ville.

Les infections à *Pseudomonas* peuvent se développer dans de nombreux sites, notamment la peau, le tissu sous-cutané, les os, les oreilles, les yeux, les voies urinaires, les poumons et les valvules cardiaques. Le siège varie suivant la porte d'entrée et la réceptivité particulière du patient. Chez des patients hospitalisés, le premier signe peut être un speiss fulgurant à Gram négatif.

### 2.2.3. La souche *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 :

Aucune zone d'inhibition n'a été observée dans les boîtes de pétri ensemencées par la souche *Staphylococcus aureus* ATCC 6538.

*Staphylococcus aureus* est le plus pathogène des staphylocoques; généralement responsable d'infections cutanées et parfois de pneumonies, d'endocardites et d'ostéomyélites, il provoque fréquemment la formation d'abcès.

La capacité de coagulation du sang grâce à la production de coagulase distingue le *Staphylococcus aureus*, virulent et pathogène, des espèces de staphylocoques coagulase négatives, moins virulentes. *S. aureus* à coagulase positive fait partie des pathogènes humains les plus ubiquitaires et dangereux, du fait de sa virulence et de sa capacité à développer une résistance aux antibiotiques.

Les infections à *S. aureus* sont plus fréquentes chez les porteurs que chez les non-porteurs et sont généralement causées par la souche colonisatrice.

### 2.2.4. La souche *Staphylococcus sp* ATCC 25923 :

Les zones d'inhibition mesurées, pour la souche *Staphylococcus sp* ATCC 25923 varient entre 15 à 28 mm donc la bactérie est extrêmement sensible au venin d'abeille

Les staphylocoques sont des microorganismes aérobies Gram positifs. Certaines souches élaborent des toxines qui déclenchent une gastro-entérite, un syndrome d'épidermolyse et un syndrome de choc toxique. Le traitement comprend habituellement des bêta-lactamines résistantes à la pénicillinase, mais la résistance aux antibiotiques étant très fréquente, certaines

souches sont partiellement ou totalement résistantes à tous les antibiotiques, sauf aux plus récents dont le linézolide, le tédizolide..

Les espèces coagulase négative telles que *S.epidermidis* sont de plus en plus impliquées dans les infections nosocomiales; *S.saprophyticus* provoque des infections urinaires. *S.lugdunensis*, une espèce coagulase négative, peut être responsable d'une maladie invasive avec une virulence similaire à celle de *S.aureus*. Contrairement à la plupart des espèces de staphylocoques coagulase négatifs, *S. lugdunensis*, reste souvent sensible aux antibiotiques bêta-lactamines résistants à la pénicillinase (c'est-à-dire, sensibles à la méthicilline).

Les staphylocoques pathogènes sont ubiquitaires. Ils sont habituellement portés, de façon transitoire, dans les fosses nasales antérieures chez près de 30% des adultes sains et sur la peau de ceux-ci chez près de 20%; à partir de ces sites, les staphylocoques peuvent provoquer une infection de l'hôte et chez les autres. Les taux de portage sont plus élevés chez les patients et le personnel, hospitaliers, Les staphylocoques sont pathogènes par :

- Invasion tissulaire directe
- Parfois, production d'exotoxine

#### 2.2.5. La souche *Bacillus subtilis* ATCC 6633 :

L'intervalle d'inhibition mesurée pour la souche *Bacillus subtilis* ATCC 6633 varient entre 12 à 18 mm donc la bactérie est extrêmement sensible au venin d'abeille. C'est une bactérie à gram+. Sa longueur varie de 2 à 4 µm et sa largeur de 0,5 à 2 µm. Elle a pour forme cellulaire des bâtonnets droits à bout arrondis. Elle est mobile grâce à une ciliature péritriche (un système de flagelle qui recouvre tous les côtés de la surface d'une bactérie). Elle est aérobic stricte, sa température optimale est de 40 °C (espèce mésophile) et son type trophique est chimio hétérotrophe. Enfin, son temps de génération est d'environ 26 minutes. Les conditions optimales de croissance de cette souche se situent pour un pH compris entre 5,5 et 8,5, et à une température de 10 °C à 50 °C.

Comme d'autres espèces, *B.subtilis* peut se constituer une coque protectrice dure (endospore) lui permettant de tolérer des conditions environnementales difficiles ou extrêmes, mais contrairement à plusieurs autres espèces bien connues, elle est une aérobic stricte.

*B.subtilis* peut produire ou co-produire des biofilms qui peuvent abriter d'autres espèces, éventuellement pathogènes. Elle n'est pas considérée comme pathogène pour l'homme, mais elle peut contaminer des aliments et peut exceptionnellement provoquer une intoxication alimentaire, Ses spores peuvent survivre à de très hautes températures, telles que celles communément

utilisées pour cuire les aliments. Elle peut être responsable de la présence de zones collantes ou gluantes dans le pain. Néanmoins, une souche de *B.subtilis* (anciennement connu sous le nom *Bacillus natto*) est utilisée dans la production commerciale au Japon d'une préparation alimentaire appelée- *natto*.

#### 2.2.6. La souche *Salmonella enterica* ATCC 14028 :

Les zones d'inhibition mesurées, pour la souche *Salmonella enterica* ATCC 14028 varient entre 12 à 23 mm donc bactérie extrêmement sensible au venin d'abeille.

Des cas d'infection à *Salmonella enterica* surviennent partout dans le monde; cependant, certaines maladies sont plus courantes dans différentes régions. La salmonellose non typhique survient plus fréquemment dans les pays industrialisés, tandis que la fièvre entérique touche principalement les pays en développement (surtout en Asie). Chaque année, on enregistre environ 1,3 milliard de cas de salmonellose non typhique dans le monde. L'Organisation mondiale de la Santé estime que 17 millions de cas et plus de 500 000 décès sont attribuables chaque année à la fièvre typhoïde). La maladie atteint un point culminant à l'été et à l'automne, et elle touche principalement les enfants, Dans les pays en développement, la salmonellose est en partie responsable de la morbidité et de la mortalité liée à la diarrhée infantile, car les bactéries sont en cause dans environ 20 % des cas. Des épidémies de salmonellose ont été déclarées dans des établissements comme les hôpitaux et les centres de soins infirmiers.

Par ailleurs, une étude a été réalisée par (Ouatah & Ouchabaa ,2016) sur un autre produit de la ruche, le miel, montre que Les zones d'inhibition mesurées, pour la souche *Escherichia coli*, varient de 10,05 à 12,13 mm par contre le diamètre de zone d'inhibition de venin varie entre 16 à 20 mm, donc le miel présente une activité anti bactérienne plus faible que celle de venin vis à vis la souche *E.Coli* .

Pour la souche *Bacillus subtilis* Aucune zone d'inhibition n'a été observée après traitement avec miel, par contre le venin donne des diamètres d'inhibitions qui varient entre 12 à 18 mm, donc le miel ne présente aucune activité antibactérienne contre les souches *Bacillus subtilis*.

La souche *Staphylococcus aureus* présente un diamètre d'inhibition entre 14 à 18 mm pour le miel alors que le venin n'a aucune activité antibactérienne sur cette souche.

Le miel inhibe la croissance des souches *Pseudomonas aeruginosa* dont un diamètre d'inhibition compris entre 8 à 13 mm contre un diamètre de 15 à 20 mm atteint avec la solution de venin, donc le miel présente une activité anti bactérienne plus faible que celle de venin vis à vis la souche *Pseudomonas aeruginosa*.

La comparaison des moyennes démontre que la zone l'inhibitions est variable d'une bactérie à une autre pour l'ensemble des dilutions de venin analysés avec une bonne activité et plus

importante surtout contre les bactéries gram-négatif ( *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus sp* et *Bacille subtilus*), et moindre contre les gram-négatif ( *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella enterica* et *Escherichia coli* ). Par rapport au miel qui a la même activité : une bonne activité contre les bactéries gram-positifs et moindre contre les gram-négatif, ceci dépend d'une part de la composition du venin et d'autres part à la différence de structure entre les bactéries à Gram positives et Gram négatives : La paroi cellulaire des bactéries gram positives est constituée d'une seule couche alors que la paroi cellulaire des gram négatives a une structure multicouches liée par une membrane cellulaire externe ( **Balentineet al., 1999**).

La Mélittine et la phospholipase A2 qui désorganisent les membranes cellulaires sont principalement responsables de l'activité antibactérienne, plutôt dirigée vers des bactéries à Gram négatif.

# *CONCLUSION*



## Conclusion

L'homme a tout simplement copié les médicaments qu'utilise le petit insecte pour maintenir sa société en bonne santé. Actuellement, la recherche s'intéresse timidement à l'apithérapie. Depuis un demi-siècle, plusieurs propriétés sont reconnues. En effet, le venin, le pollen, la gelée royale et la propolis sont prometteurs en cancérologie et dans plusieurs infections (bactérienne, virale, fongique et parasitaire). Il serait sans aucun doute utile de développer la recherche dans ces domaines.

Notre étude a été dans le but d'évaluer l'efficacité de venin d'abeille par l'évaluation de ces activités biologiques antioxydant et antimicrobiennes.

Cette étude a abouti aux résultats suivants :

L'évaluation de l'activité antioxydant de venin par l'utilisation de test DPPH, a montré que le venin possède une meilleure activité, La comparaison des valeurs des IC50 obtenus avec le standard (acide ascorbique) nous a permis de déduire que l'activité antioxydant de venin local dont la concentration IC50 = 4.48mg/ml est presque égale à l'IC50 de standard (4.5mg/ml), par contre le venin de l'étranger dont la concentration IC50=5.02mg/ml est plus faible par rapport au venin local et à l'acide ascorbique

L'activité antibactérienne de venin d'abeille a été évaluée sur six bactéries par la méthode de diffusion en milieu gélosé, Les résultats de l'analyse, permettent de constater que toutes les Cinq souches bactériennes testées sont sensibles à l'action inhibitrice de venin d'abeille (sauf pour la sixième souche (*Staphylococcus aureus* ATCC 6538 ) dont aucune zone d'inhibition n'a été observée. pour la souche *Escherichia coli* ATCC8739 dont l'intervalle 16 à 20mm, et la souche *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 15 à 20mm, la souche *Staphylococcus sp* ATCC 25923 la zone d'inhibition varient 15 à 28mm, et la souche *Salmonella entira* ATCC 14028 12à23mm et pour la dernier souche *Bacillus subtiliss* ATCC 6633 la zone d'inhibition varient 12à18mm cette résultat montre que les Cinq (5) souches bactéries sont des bactéries extrêmement sensible au venin d'abeille.

En perspective, ces résultats ne constituent qu'une petite partie dans le domaine de la recherche des antioxydants et des antimicrobiens naturels, Il est intéressant également d'effectuer des analyses pour plusieurs types de venin d'abeille dans les différentes régions de notre pays, afin de sélectionner les types les plus actifs pour les utiliser dans les domaines pharmaceutique et cosmétique.

De plus, il sera nécessaire d'identifier et d'isoler les composés bioactifs à tester séparément ou en combinaison avec d'autres médicaments déjà disponibles en vertu de l'utilisation des extraits de venin comme traitement relativement peu coûteux dans différentes maladies.

Malgré les essais *in vitro*, qui fournissent de nouvelles informations précieuses sur les propriétés biologiques de venin, il faudra analyser *in vivo* puis cliniquement l'efficacité de venin, compléter la recherche fondamentale disponible et évaluer le potentiel de venin d'abeille dans la promotion de la santé humaine et vétérinaire.

***BIBLIOGRAPHIE***



**Références bibliographiques :**

**A**

- 01. Ahamet S., 2003.** Etude phytochimique et des activités biologiques de *Balanites aegyptiaca* L. (*Balanitaceae*). Thèse de doctorat en pharmacie. Université de Bamako : 117 P.
- 02. 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, 7286-7292
- 03. Ait B.H. et Chemali A., 2017.** Evaluation de l'activité antioxydant et de l'activité antimicrobienne de l'extrait méthanoïque d'une plante médicinale locale p11-12.
- 04. Albouy V. & LE Conte Y., 2014.** Nos abeilles en péril. Ed. Quae, ISBN : 978-2-7592-2177-6. 190 p.
- 05. Aliaa El Gendy., Maha M., Eitedal M., Khaled, G., Abdel W., Ahmed G. and Hegazi., 2017.** Role of Bee Venom Acupuncture in improving pain and quality in Egyptian Chronic Low Back Pain Patients. *Journal of Applied Pharmaceutical Science* Vol. 7(08), pp. 168-174.
- 06. Al-Mamary, M., Al-Meeri, A. and Al-Hobori, M. 2002.** Antioxidant activities and total phenolics of different types of honeys. *Nutrition Research*, 22:1041-1047
- 07. Alvarez F., Daniel., Noelker., Carmen., Vulinović., Franca., Grünewald., Anne., Chevarin., Caroline., Klein., Christine., Oertel., Wolfgang H., Hirsch., Etienne C., Michel., Patrick P., and Hartmann., Andreas., 2013.** Bee venom and its component apamin as neuroprotective agents in a Parkinson disease mouse model. *PloS one*. 2013. Vol. 8, n° 4, pp.
- 08. Amigou M., 2016.** Les résidus de médicaments vétérinaires et de pesticides dans les produits apicoles alimentaires (miel, pollen, gelée royale et propolis). Thèse de Doctorat Vétérinaire, Faculté de médecine de Créteil, Ecole nationale vétérinaire d'Alfort, pp. 139, 27-41.
- 09. Apimondia standing commission of apitherapy (2001).** *Traité d'Apithérapie, La médecine par les abeilles [cédérom]* v.1.01 PC-Mac Produit par Api-Ar International SA R Brussels. 2001 ISBN: 2-9600270-0-0.

## B

10. **Bacher R., 2008.** Les abeilles, le miel et l'apiculture .Ed.Terre vivante .p14.
- Bae., Gi-Sang., Heo., Kwang-Ho., Park, Kyoung-Chel., Choi., Sun Bok., Jo., IlJoo., Seo., Seung-Hee., Kim., Dong-Goo., Shin., Joon-Yeon., Kang., Dae-Gil., Lee., Ho-Sub., Song., Ho-Joon., Shin., Byung-Cheul., et PARK., Sung-Joo., 2012.** Apamin attenuated ceruleininduced acute pancreatitis by inhibition of JNK pathway in mice. *DigestiveDiseases and Sciences*. October 2013. Vol. 58, n° 10, pp.
11. **Baldensperger P.J., 1923.** Sur l'abeille saharienne. Congrès international d'apiculture. Marseille., 1923 :61-64.
12. **Balentine D.A., Albano Mc. et al., 1999.** role of medicinal plants, herbs, and spices in protecting human health .p 41 – 57.
13. **Behera J. N., Rao J., 2006.** A Ni<sup>2+</sup> (S = 1) Kagome Compound Templated by 1,8-Diazacubane *American of Chemistry Society* 128 (29), 9334 -9335.
14. **Belzunces L.P., Vandame R., Gu X., 1996.** Modulation of honey bee thermoregulation by adrenergic compound. *Neuroreport* 7, 1601–4.
15. **Bertrand B., 2013.** Analyse de la diversité génétique de populations d'abeilles de la lignée *Promotion : 2016-2017 Ouest Méditerranéenne (Apis mellifera mellifera)* : Application à la conservation. Thèse de doctorat en *Biologie Moléculaire et Génétique*. Univ. Paris-Sud. p131.
16. **Blanc M., 2010.** Propriétés et usage médical des produits de la ruche. Thèse pour le diplôme de l'état du docteur en pharmacie. De l'université de limoges. p 24.
17. **Blois M. S., 1958.** Antioxydant de terminations by the use of stable free radical. *Nature*. (181) : 1199-1200.
18. **Bogdanov S., 2016.** Propolis: Composition, Health, Medicine: A Review, Bee Product Science,p 6.
19. **Bossokpi I.P.L., 2002.** Etude des activités biologiques de *Fagara zanthoyloides* Lam (Rutaceae).Thèse de doctorat en pharmacie. Université de Bamako : 9p.
20. **Boyd B., Ford C., Koepke Michael C., Gary K., Hom E., Mc Analley S. et Mc Analley B., 2003.** Etude pilote ouverte de l'effet antioxydant d'Ambrotose AOTM sur des personnes en bonne santé. *GlycoScisnce & Nutrition*. 4 (6) 7p.
21. **Bradbear N., 2010.** Le rôle des abeilles dans le développement rural. Manuel sur la récolte, la transformation et la commercialisation des produits et services dérivés des abeilles. Organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture. Rome, 2010. 238 p.

- 22. Brand W.W., Cuvelier M.E., Berset C., 1995.** Use of a free radical méthode to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie*. (28): 25-30.
- 23. Bruneau E., 2006.** Nutrition et malnutrition des abeilles. Biodiversité des plantes : une clé pour l'alimentation et la survie des abeilles. *Comptes rendus Académie Agriculture de France*, 2006, PP:1-10.
- 24. Bruneau E., 2009.** *Chapitre IX : Les produits de la ruche in Clément H. et al. Le Traité Rustica de l'apiculture Editions Rustica, Paris, 354-387.*
- 25. Buku A., 1999.** Mast cell degranulating (MCD) peptide: a prototypic peptide in allergy and inflammation. *Peptides*. 1999. Vol. 20, n° 3, pp. 415-420.
- 26. Buttel Reepen H., 1906.** *Apistica. Beitrage zur systematic biologie, sowie zur geschichtlichen und geographischen verbreitung der honigbiene (Apis mellifera l.), ihrer varietaten und der anderen Apis-arten. Veroff. Muséum. Berlin. Zoology, pp.: 117-201.*

### C

- 27. Caillas A., 1974.** Qu'est-ce que l'apipuncture ou l'apithérapie, L'abeille de France n°574 Septembre 1974, p.309-310.
- 28. Capasso A., 2013.** Antioxidant action and therapeutic efficacy of *Allium sativum* L. *Molecules* 18: 690-700.
- 29. Celli G. et Maccagnani B., 2002.** Honey bees as bioindicators of environmental pollution. in: proceedings of the 8th international symposium of the ICP-BR Bee protection group. hazards of pest.
- 30. Cheick T.M., 2006.** Etude de la phytochimie et des activités biologiques de quelques plantes utilisées dans le traitement traditionnel de la dysménorrhée au Mali. Thèse de doctorat en pharmacie. Université de Bamako : 72p.
- 31. Cho S.Y., Lee Y.E., Doo K.H., Lee J.H., Jung W., Moon S.K., Park J.M., Ko C.N., Kim H., Rhee H.Y., Park H.J. and Park S.U., 2018.** Efficacy of Combined Treatment with Acupuncture and Bee Venom Acupuncture as an Adjunctive Treatment for Parkinson's Disease. Published Online: 1 Jan 2018 <https://doi.org/10.1089/acm.2016.0250>.
- 32. Cho S.Y., Shim., So-R., Rhee., Hak, Young., Park., Hi-Joon., Jung., Woo-Sang., Moon., Sang-Kwan., Park., Jung-Mi., Ko Chang-Nam., Cho Ki-Ho., and Park Seong-Uk., 2012.** Effectiveness of acupuncture and bee venom acupuncture in idiopathic Parkinson's disease. *Parkinsonism & Related Disorders*. septembre 2012. Vol. 18, n° 8, pp.

- 33. Chott I., 2018.** La thérapie au venin d'abeille p34.
- 37. Clément H., 2011.** Le Traité Rustica de l'Apiculture, 2° Edition, Paris, Editions Rustica.
- 34. Clément H., 2011.** Le traité rustica de l'apiculture. Editions Rustica. 528p.
- 35. Cohen Y et Jacquot C., 2001.** Pharmacologie. 5ème Ed. Masson. Paris. 350p.
- 36. Congo M., 2012.** Etude des propriétés antiradicalaire et antiproliferative d'extraits de feuilles et de rameaux de *Salvadora Persica L.* (Salvadoraceae).Thèse de pharmacie. Université d'Ouagadougou Burkina Faso : 42p.
- 37. Cornuet J.M., Daoudi A., Mohssine, H. et Fresnaye J., 1988.** Etude biométrique de population d'abeilles marocaines. *Apidologie* 19 :355-366.
- 38. Cousin L., 2014.** L'abeille et le conseil à l'officine p8.
- 39. Cousin L., 2014.** L'abeille et le conseil à l'officine, p 41.

#### D

- 40. Daniel Y., 1983.** Le pollen. Ed .mloine.6eme édition. Paris. 11-17p.
- 41. Darrigol J-L., 1979.** Le miel pour votre santé, Saint Jean De Braye, Editions Dangles,p 140.
- 42. David Paterson P., 2008.** L'apiculture, Edition Quae p. 144, 5-142.
- 43. Deregnacourt C. & Schrével J., 2000.** Bee venom phospholipase A2 induces stage-specific growth arrest of the intraerythrocytic *Plasmodium falciparum* via modifications of human serum components. *J. Biol. Chem.* 275, 39973–39980.
- 44. Desmier T., 2016.** Les antioxydants de nos jours : définition et applications p50.
- 45. Diallo A., 2005.** Etude de la phytochimie et des activités biologiques de *syzygium guineense WILLD*(MYRTACEAE). Thèse de doctorat en pharmacie. Univercité de Bamako : 13-14.
- 46. Diarra Y., 2006.** Etude de la phytochimie et des activités biologiques d'*acanthospermum hispidum dc.* (astraracea) et *curculigo pilosa schum .et thonn.* (hypoxidaceae), deux plantes utilisées dans le traitement traditionnel de l'hypertrophie benige de la prostate (hbp). Thèse de doctorat en pharmacie. Universite de Bamako : p47.
- 47. Domerego R. & Blanchard C., 2012.** *La t é r a i e au enin a eille.* (Baroch Editions).
- 48. Domerego R., Imbert G., Blanchard C., 2009.** *Les remèdes de la ruche* Editions Alpens, Monaco, 95p.

**49. Donadiou Y., 2008.** La Propolis Editions Dangles, Paris, 90p

**E**

**50. Elghozi J.L., Duval D., 1992.** Pharmacologie 2ème Ed : Médecine Flammarion. Paris. 289p.

**F**

**51. Fluri P., 1994.** Réflexions des chercheurs en apiculture sur la régulation de la durée de vie des ouvrières. *Journal suisse d'Apiculture*, 91, 19-27.

**52. Fratellone P.M., 2015.** Apitherapy Products for Medicinal Use. *J Nutr Food Sci* 5:423.

**G**

**53. Gauldie J., Hanson J. M., Rumjanek F. D., 1976.** Shipolini, R. A. & Vernon, C. A. The peptide components of bee venom. *Eur. J. Biochem.* 61, 369–376

**54. Ge M., O'Reilly A., Baillie N., Twentyman G., Sturt J., Fitzpatrick M. and Taylor T., 2008.** Vitamin C: Evidence, application and commentary. *Original Scientific Paper* 35(5): 312-318.

**55. Georgieva S., Boyadzhiev L., Angelov G., 2010.** Caractérisation des vins bulgares par leur capacité antioxydant. *Revue de génie industriel.* (5):124-132.

**56. Gharbi M., 2011.** Les produits de la ruche : Origines - Fonctions naturelles - Composition Propriétés thérapeutiques Apithérapie et perspectives d'emploi en médecine vétérinaire. Thèse de Doctorat en Médecine-pharmacie, Université Claude-Bernard - Lyon I, pp. 221.

**57. Gharbi M., 2011.** Les produits de la ruche : origines- fonctions naturelles composition-propriétés thérapeutiques. Apithérapie et perspectives d'emploi en médecine vétérinaire. Thèse de doctorat vétérinaire, Université Claude-Bernard-Lyon I, 247p.

**58. Grassi D., Desideri G. and Ferri C., 2010.** Flavonoids: antioxidants against atherosclerosis. *Nutrients* 2: 889- 902.

**59. Guillaume C., Calzada C., Lagarde M., Schrével J. & Deregnaucourt C., 2006.** Interplay between lipoproteins and bee venom phospholipase A2 in relation to their anti-Plasmodium toxicity. *J. Lipid Res.* , 1493–1506.

**H**

**60. Hardy C., 2012.** *Apis mellifera*, histoire d'une espèce. In abeilles et Cie, 1-2012, n°146, p. 13-14.

**61. Hegazi A., Abd Raboo F., Shaaban D., Shaaban D. and Khader D., 2012.** Bee venom and propolis as a new treatment modality in patients with psoriasis. *Int.J.Med.Med.Sci.* 1: 27-33.

**62. Hennebelle S., 2010.** L'abeille *In* Doc apiculture.

**Hwang D. S., Kim S. K. and Bae H., 2015.** Therapeutic effects of bee venom on immunological and neurological diseases. *Toxins*, 7(7), 2413-2421.

## I

**63. Ivanov A. V., Bartosch B., Smirnova O. A., Isaguliants M. G. and Kochetkov S. N., 2013.** HCV and oxidative stress in the liver. *Viruses* 5: 439-469.

## J

**64. Jean M., 2007.** Le guide de l'apiculture, Aix-en-provence, France, 23, 206, 225, 249p.

**65. Jean P.P. et Le Conte., 2005.** *Apiculture. Connaître l'abeille, conduire le rucher 7ème édition*, Tec & Doc Lavoisier, 698p.

**66. Jean P.P., 2005.** *iculture : connaître l'aeille, con uire le rucer.* (Tec & Doc Lavoisier).

**67. Jean P.P., 2005.** 7e édition revue et complétée par le conte y. *Apiculture : Connaître l'abeille. Conduire le rucher.* 698 p.

**68. Jiri S., Marketa R., Olga K., Petr S., Vojtech J., Libuse T., Ladislav H., Miroslava B., Josef Z., Ivo P., Rene K., 2010.** Fully Automated Spectrometric Protocols for Determination of Antioxidant Activity: Advantages and Disadvantages. *Molécules.* (15): 8618-8640.

**69. Jeong Y., Choi Y., Shin J., Cho H., Kang J., Park K., Choe J., Bae Y., Han S., Kim C., Chang H. and Chang Y., 2014.** Melittin suppresses EGF-induced cell motility and invasion by inhibiting PI3K/Akt/mTOR signaling pathway in breast cancer cells. *Food and Chemical Toxicology*, 68, p.218-225.

## K

**70. Kim H.J. et Jeon B.S., 2014.** Is acupuncture efficacious therapy in Parkinson's disease. *Journal of the neurological sciences*, 341(1), 1-7.

**71. Kim JY., Lee W R., Kim H., An H J., Chang Y C., Han S M., Park Y Y., Pak S. et C.Park K K., 2015.** Effects of bee venom against *Propionibacterium acnes*-induced

inflammation in human keratinocytes and monocytes. *International Journal of Molecular Medicine* 35: 1651-1656.

**72. Kim M.H., Bae S., Kim Y., Cho C., Kim S. J., Kim Y., Lee S., Kim. H., Hwang Y., Kang J. S. and Lee W.J.N., 2013.** Vitamin C prevents the stress-induced damages on the heart caused by the death of cardiomyocytes, through the down-regulation of the excessive production of catecholamine, TNF-  $\alpha$  and ROS production in Gulo(-/-)Vit C-Insufficient. *Free radical biology and medicine*.

**73. Kocsy G., Tari I., Vanková R., Zechmann B., Gulyás Z., Poór P. and Galiba G., 2013.** Redox control of plant growth and development. *Plant Science*.

**74. Koh., Pil, Seong., SEO., Byung Kwan., Cho., Nam Su., Park., Hyung Soon., Park., Dong Suk., and Baek., Yong Hyeon., 2013.** Clinical effectiveness of bee venom acupuncture and physiotherapy in the treatment of adhesive capsulitis: a randomized controlled trial. *Journal of Shoulder and Elbow Surgery / American Shoulder and Elbow Surgeons ...* [et AL]. août 2013. Vol. 22, n° 8, pp.

**75. Krylov V., Agafonov A., Krivtsov N., Lebedev V., Burimistrova L., Oshevskii L. et Sokolski S., 2007.** Theory and agents of apitherapy (in Russian).

## L

**76. Lacube J., 2015.** L'ABC de l'apiculture, Rustica éditions, p. 219-48-52.

**81. Lambrechts C., Karoubi L., Maire P., Houssemaine-Florent H., 2006. & Collectif.** *Le Petit Larousse illustré : En couleurs Version reliée.* (Larousse).

**77. Le Conte Y. et Navajas M., 2008.** Changements climatiques : impact sur les populations d'abeilles et leurs maladies. In *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.*, 27 (2), 485-497.

**78. Le conte Y., 2011.** Mieux connaître l'abeille. La vie sociale de la colonie. In : Bruneau.E ;Barbançon J.-M ; Bonnaffé P. Clément H ; Domerego. R ; Fert G ; Le Conte. Y ; Ratia .G ; Reeb. C ; Vaissière. B. *Le traité Rustica de l'apiculture.* Ed. Rustica. Paris. pp.527.12-83p

**79. Lee H., Park S., Kim T., Jung Y., Park M., Oh S., Yun H., Jun H., Yoo H., Han S., Lee U., Yoon J., Song M. and Hong J., 2015.** Bee venom inhibits growth of human cervical tumors in mice. *Oncotarget*, 6(9), p.7280-7292.

**80. Lee J. D., Park H. J., Chae Y., & Lim S., 2005.** An overview of bee venom acupuncture in the treatment of arthritis. *Evidence-based complementary and alternative medicine* 2 (1): 79- 84.

**M**

- 81. Meda et al., 2005.** Tropical Medicine & International Health, Blackwell Synergy. Volume 11 Issue 2 pp 136- 143.
- 82. Mika A., Minibayeva F., Beckett R., Lüthje S., 2004.** Possible functions of extracellular peroxidases in stress-induced generation and detoxification of active oxygen species. *Phytochemistry Reviews*. (3):173-193.
- 83. Morel Y. et Barouki R., 1999.** Repression of gene expression by oxidation stress. *BiochemicalJournal*. 342 (3), 481-496.
- 84. Munstedt K., 2005.** Thérapie avec le venin d'abeille : quelle preuve sur la santé après diverses déclarations, *American Bee Journal*.

**N**

- 85. Nabti D., 2015.** Impact des Produits Phytosanitaires Utilisés dans les Vergers sur les Abeilles Algérienne et le Miel. Thèse Présentée en vue de l'obtention du diplôme Doctorat 3ème cycle en Biologie, université Bordj badji\_elmokhtar Annaba. (Universite badji mokhtar-annaba). 11 p.
- 86. Nauciel C. and Vildé J.L., 2005.** Bactériologie médicale, 2èmeEd. Masson. Paris. P : 5-10.
- 87. Neukirch A., 1982.** Dependence of the life span of the honeybee (*Apis mellifica*) upon flight performance and energy consumption. *Journal of Comparative Physiology* 146, 35–40.
- 88. Nur A.M., Bristi N., Rafiquzzaman M., 2013.** Review on in vivo and in vitro methods evaluation of antioxidant activity. (21) :145-149.

**O**

- 89. Oldroyd B.P., Smolenski A.J., Cornuet J.-M., Wongsiri S., Estoup A., Rinderer T.E., Crozier R.H., 1995.** Levels of polyandry and intracolony genetic relationships in *Apis florea*. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 37, 329–335.
- 90. Ollerton J., Winfree R. & Tarrant S., 2011.** How many flowering plants are pollinated by animals? *Oikos*, 120: 321-326.
- 91. Ou B, Hampsch W.M., 2001.** Prior RL. Development and Validation of an Improved Oxygen Radical Absorbance Capacity Assay Using Fluorescein as the Fluorescent Probe. *J Agric Food Chem* ; 49(10):4619-26.

## P

- 92. Pallauf K., Bendall J. K., Scheiermann C., Watschinger K., Hoffmann J., Roeder T. and Rimbach G., 2013.** Vitamin C and lifespan in model organisms. *Food and Chemical Toxicology* 58: 255-263.
- 93. Pan D., Misra SK., Ye M., Kim S., 2015.** Defined nanoscale chemistry influences delivery of peptide-toxins for cancer therapy. *PLoS One*. 2015 Jun;10(6):0125908.
- 94. Pankiw T., 2004.** Cued in: honey bee pheromones as information flow and collective decisionmaking. *Apidologie* 35, 217–226.
- 95. Park J.H., Kim K.H., Kim S.J., Lee W.R., Lee K.G. and Park K.K., 2010.** Bee Venom Protects Hepatocytes from Tumor Necrosis Factor-alpha and Actinomycin D. *Archives of Pharmacal Research*, 33(2): 215-223.
- 96. Pascal R., 2009.** les abeilles et la fabrication du miel, *Astronome, Europe*, 17, 22, 24, 27, 36p.
- 97. Pellegrini N, Serafini M, Colombi B, Del Rio D, Salvatore S, Bianchi M, et al., 2003.** Total antioxidant capacity of plant foods, beverages and oils consumed in Italy assessed by three different in vitro assays. *J Nutr* ; 133(9):2812-9.
- 98. Penna C., Mancardi D., Rastaldo R. and Pagliaro P., 2009.** Cardioprotection: A radical view free radicals in pre and postconditioning. *Biochimica et Biophysica Acta* 1787: 781-793.
- 99. Pérez P. E., Vit P. and Huq F., 2013.** Flavonoids and polyphenols in studies of honey antioxidant activity. *International Journal of Medicinal Plant and Alternative Medicine* 1(4): 63-72.
- 100. Popovici C., Saykova I., Tylkowski B., 2009.** Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. *Revue de Génie Industriel*.p8.
- 101. Prigent C., Lejeune P., 1999.** La génétique de la formation du développement des biofilms. *Bull. Soc. Fr. Microbiol.* 14(2) : 121-126.

## R

- 102. Ram S. K. M., Jayapal N., Nanaiah P., Aswal G. S., Ramnarayan B. K. & Taher S. M., 2014.** The therapeutic benefits of bee venom. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci*, 3(11), 377-381.

**103. Rasolofoarivao H., 2014.** *Apis mellifera unicolor* (Latreille, 1804, Hymenoptera: Apidae) et *Varrroa destructor* (Anderson and Trueman, 2000, Acari : Varroidae) à Madagascar : diversité génétique, impact et comportement hygiénique. Thèse doctorat en Sciences.pp.144.

**104. Richard M.J., Belleville F., Chalas J., Ceballos P.I., Vitoux D., Boyer M.J., et al., 1997.** Les glutathion peroxydases : intérêt de leur dosage en biologie clinique. *Ann Biol Clin (Paris)* ; 55 (3):195-208.

**105. Rochette L., Lorin J., Zeller M., Guillard J. C., Lorgis L., Cottin Y. and Vergely C., 2013.** Nitric oxide synthase inhibition and oxidative stress in cardiovascular diseases: Possible therapeutic targets? *Pharmacology & Therapeutics*.

**106. Rothschild A. M., 1965.** Histamine release by bee venom phospholipase a and mellitin in the rat. *Br J Pharmacol Chemother* 25, 59–66.

**107. Russo M.F., 1998.** L'inflammation. John Libbey Eurotext; 580 p.

## S

**108. Sablonnière B., 2006.** Réussir le BEP biologie microbiologie.

**109. Sanchez-Moreno C., 2002.** Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. *Int. J. of Foods Sci. Tech.* 8: 121-137.

**110. Savilov K., 2010.** Bee venom: physico-chemical properties. Biological and pharmacological effects. Use in medical practice (in Russian), In Rakita, D; Krivtsov, N; Uzbekova, D G (eds) *Theoretical and practical basics of apitherapy (Russian)*, Roszdrav; Ryazan; p 135-162.

**111. Savini I., Catani M.V., Evangelista D., Gasperi V. and Avigliano L., 2013.** Obesity-associated oxidative stress: strategies finalized to improve redox state. *Int. J. Mol. Sci.* 14: 10497-10538.

**112. Senel E., Kuyucu M. & Suslu, I., 2014.** Honey and bee venom in dermatology: A novel possible alternative or complimentary therapy for psoriasis vulgaris. *Anc. Sci. Life.* 2014;33:192-193.

**113. Smedal B., Brynem M., Kreibich C.D., Amdam G. V., 2009.** Brood pheromone suppresses physiology of extreme longevity in honeybees (*Apis mellifera*). *The Journal of experimental biology* 212, 3795–801.

**114. Son DJ., Lee JW., Lee YH., 2007.** Therapeutic application of anti-arthritis, painreleasing, and anti-cancer effects of bee venom and its constituent compounds. *Pharmacol Ther* 2007;115:246–70.

#### T

**115. Toullec A.N.K., 2008.** Abeille noire, *Apis mellifera*, historique et sauvegarde. Thèse de doctorat faculté de médecine de CRETEIL.seine Martine. 85p.

**116. Treki A.S., Merghem R. et Dehimat L., 2009.** Etude phytochimique et évaluation de l'activité antibactérienne d'une Labiée: *Thymus hirtus*. *Sciences & Technologie*, 29: 25-29

#### V.

**117. Valko M., Rhodes CJ., Moncol J., Izakovic M., Mazur M., 2006.** Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem Biol Interact*; 160(1):1-40.

#### W

**118. Wang C., Chen T., Zhang N., Yang M., Li B., Lü X. and Ling, C., 2009.** Melittin, a major component of bee venom, sensitizes human hepatocellular carcinoma cells to tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL)-induced apoptosis by activating CaMKII-TAK1-JNK/p38 and inhibiting I $\kappa$ B $\alpha$  kinase-NF $\kappa$ B. *Journal of Biological Chemistry*, 284(6).

**119. Winston 1993.** La biologie de l'abeille. Traduit de l'anglais par G. Lambermont. Ed. Frison Roche. Paris. p.276. In : Aymé, Alizée. (2014). Synthèse des connaissances sur l'apiculture réunionnaise et enjeux pour la filière. Thèse d'exercice, Médecine vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse - ENVT, 2014.22p.

**120. Winston M., 1993.** La biologie de l'abeille. Editions Nauwelaerts et Frison-Roche. 276p.

#### Y

**121. Yoon S.S., Eun J.Y., Bong H.L., Eun Y.J., Hee Y.K., Sun-M. C., 2012.** Effects of acupuncture on stress-induced relapse to cocaine-seeking in rats. *Psychopharmacology*.012, Volume 222, Issue 2, pp 303–311.

**122. Yves Roberti L., 2011.** Les sept produits de la ruche p8.

#### Z

**123. Zheng J., Lee H. L., Ham Y. W., Song H.S., Song M. J. & Hong J. T., 2015.** Anti-cancer effect of bee venom on colon cancer cell growth by activation of death receptors and inhibition.

**Les sites d'internet :**

**(i) :** (i) <https://www.ialo.fr>

**(ii) :** <https://www.beeyvenom.com>

**(iii) :** <https://www.cdiscount.com>

**(iiii) :** <https://cosmeto-nature.com>

## RÉSUMÉ

Le venin d'abeille est un composé biologique très complexe, d'une très grande diversité, lui conférant une multitude de propriétés, aussi que sur le plan thérapeutique. Une grande partie de l'intérêt des recherches actuelles porte sur l'étude de molécules antioxydants d'origine naturelles.

L'objectif de notre travail vise à étudier les activités antioxydants et antibactériennes de venin d'abeille.

Le pouvoir anti radical de DPPH montre que le venin possède une forte activité anti oxydante avec des concentrations très faibles. D'autre part, l'Acide ascorbique a montré une activité antioxydant avec une  $IC_{50}=4.5\text{mg/ml}$  donc très proche par rapport à nos extraits surtout Le venin local dont la concentration  $IC_{50}=4.48\text{mg/ml}$  par contre le venin de l'étranger dont la concentration plus élevée égal  $5.02\text{mg/ml}$

Les résultats obtenus montrent clairement l'impact du venin sur la sensibilité des six souches bactériennes étudiées sauf la souche *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 (aucune zone d'inhibition), pour la souche *Escherichia coli* ATCC8739 dont l'intervalle 16 à 20mm, et la souche *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 15 à 20mm, la souche *Staphylococcus sp* ATCC 25923 la zone d'inhibition varient 15 à 28mm, et la souche *Salmonella entira* ATCC 14028 12à23mm et pour la dernier souche *Bacillus subtiliss* ATCC 6633 la zone d'inhibition varient 12à18mm cette résultat montre que les Cinq (5) souches bactéries sont des bactéries extrêmement sensible au venin d'abeille.

**Mots-clés :** abeille, venin, activité antioxydante, activité antibactérienne, bactérie.

## ABSTRACT:

Bee venom is a very complex biological compound of great diversity, giving it a multitude of properties, as well as therapeutically. Much of the current research interest is in studying antioxidant molecules of natural origin.

The aim of our work is to study the antioxidant and antibacterial activities of bee venom.

The anti-radical power of DPPH shows that the venom has a strong anti-oxidant activity with very low concentrations. On the other hand, Ascorbic acid showed an antioxidant activity with an  $IC_{50} = 4.5\text{mg / ml}$  so very close compared to our extracts especially the local venom whose concentration  $IC_{50} = 4.48\text{mg / ml}$  against the venom of the foreigner whose higher concentration equals  $5.02\text{mg / ml}$

The results obtained clearly show the impact of the venom on the sensitivity of the six bacterial strains studied, except the strain *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 (no inhibition zone), for the strain *Escherichia coli* ATCC8739 whose interval 16 to 20 mm, and the strain *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 at 20mm, the strain *Staphylococcus sp* ATCC 25923 the zone of inhibition vary 15 to 28mm, and the strain *Salmonella will* ATCC 14028 12 to 23mm and for the last strain *Bacillus subtiliss* ATCC 6633 the zone of inhibition vary 12 to 18mm this result shows that the five (5) strains bacteria are extremely sensitive bacteria to bee venom.

**Keywords:** bee, venom, antioxidant activity, antibacterial activity, bacteria

## الملخص

سم النحل هو مركب ذو تنوع بيولوجي كبير و خصائص علاجية كثيرة حيث يحظى اليوم بالكثير من الاهتمام من طرف الباحثين عن عناصر طبيعية مضادة للأكسدة الهدف الرئيسي من عملنا التطبيقي هو دراسة النشاط المضاد للأكسدة و البكتيريا لسم النحل و ذلك من خلال استعمالنا للجرر الحر DPPH حيث اظهرت النتائج وجود نشاط قوي مضاد للأكسدة بتراكيز صغيرة حيث ان قيمة  $IC_{50} = 4.48\text{ mg/ml}$  لسم المحلي مقارنة لقيمة  $4.5\text{ mg/ml}$  =  $IC_{50}$  الحمض الاسكوربيك ومن جهة اخرى السم الغربي الذي يحمل اصغر قيمة تقدر ب  $IC = 5.02\text{ mg/ml}$  . تظهر النتائج بشكل واضح تأثير السم على حساسية السنته سلالات البكتيرية المختبرة، ماعدا المكورات العنقودية الذهبية اما بالنسبة لباقي الخمس سلالات الاخرى فمنطقة التثبيط تختلف من نوع بكتيريا لآخر و تظهر حساسية كبيرة لهاته الانواع لسم النحل

**الكلمات المفتاحية :** السم، النحل، البكتيريا، النشاط المضادة للأكسدة، نشاط مضاد للبكتيريا.