

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE UNIVERSITE AKLI MOHAND OULHADJ – BOUIRA
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET DES SCIENCES
DE LA TERRE DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



Réf :/UAMOB/F.SNV.ST/DEP.BIO/2021

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES
EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME MASTER

Domaine : SNV Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Microbiologie Appliquée

Présenté par :

ABBAS Fatma Hanine & BOUZIANE Besma

Thème

Etude de la sensibilité d' *Escherichia coli* , *Listeria monocytogenes* et *Staphylococcus aureus* à la propolis

Soutenance : 14/07/2021

Devant le jury composé de :

Nom et Prénom

Mme Lezzoum-AteK .S ,grade MCB

Université d'Alger1

Promotrice

Mme Medboua. C , grade MCB

Université de bouira

Co-promotrice

Mme Messad .S ,grade MCB

Université de bouira

Examinatrice

Mme Hadidi , grade MCB

Université de bouira

Présidente

Année Universitaire : 2020/2021

REMERCIEMENTS

*Ce mémoire n'aurait pas pu être ce qu'il est, sans l'aide
d'ALLAH qui
nous a donné la force afin de l'accomplir.*

*Nous tenons à exprimer nos profonds remerciements et nos
vives
reconnaissances à notre promotrice, Madame **LEZZOUM-ATEK
Sara**, qui a su, à sa façon, nous conseiller et nous orienter tout
au long de la réalisation de ce travail.*

*Nous tenons à remercier notre Co-promotrice, Madame
Medbouaa, pour toute l'aide que vous nous avez apportée.*

Nous remercions les membres de jury:

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

*Madame **Messad Sara**, Merci pour avoir accepté de faire
partie du jury de ce mémoire, pour l'intérêt que vous
portez à notre travail et pour le temps consacré afin de
l'évaluer.*

Nous remercions également

*Dr **BOUAYAD Leïla** pour sa contribution et son aide pour
la réalisation de ce travail.*

*Le Directeur du Laboratoire de recherche **HASAQ** de
l'Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire d'Alger Pr
HAMDI Taha-Mossadak ainsi que **Louïza** l'ingénieur de
laboratoire.*

*Que toute personne ayant participé de près ou de loin dans
l'élaboration de ce travail, trouve ici l'expression de nos très
vifs remerciements.*

DEDICACE

Tout d'abord, je tiens à remercier le bon Dieu le tout Puissant de m'avoir donné la force et le courage de mener à bien ce modeste travail.

*Je dédie ce travail à mon rock l'homme de ma vie mon père et mon trésor **Rabah ABBAS**.*

*A mon inspiration et modèle, cette femme plus forte que la vie elle-même, ma mère et mon diamant **El Aléja OMARI**.*

*A mon protecteur et mon sang, mon frère **El Hadj ABBAS**, sa femme **Wassila SERRAYA**, et leurs enfants que j'aime trop **AbdEllah** et **Meriam**.*

A l'ensemble de ma famille oncles tantes, cousin(e)s,

*A la patriarce de notre famille ma grand-mère, mami **Turkia SOUSOU** et toute la famille **ABBAS** et **OMARI**.*

*A ma sœur qui a toujours été à mes côtés, l'amie de ma vie, ma sosie et ma binôme **Bessma BOUZIANE** que j'aime trop et toute la famille **BOUZIANE**.*

*A mes copines et mes sœurs que j'aime trop **Nour El houda**, **Manel**, **Feriel** pour m'avoir toujours soutenu.*

*A **Imane BOUZIANE** et **Sanaa BOUZIANE** pour leur aide constante tout au long de mon parcours scolaire.*

A tous mes amis et à toute la promo de Microbiologie Appliquée.

Que ce travail soit l'accomplissement de vos vœux tant allégués, et le fruit de votre soutien infaillible.

Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours eu pour vous.

Merci d'être toujours là pour moi.

Hanine

DEDICACE

Avant tout, je remercie mon Dieu qui m'a aidé et m'a donné la force pour terminer ce travail.

*Je dédie ce travail à mes chers parents, mes anges, mes amours **Ghanía GUERROUDJ** et **Morad BOUZIANE**, pour tous leurs sacrifices, leur amour, leur tendresse, leur soutien et leurs prières tout au long de mes études.*

*A ma très chère sœur **Imane**, son mari **Hamza** et leurs fille **Léne** pour leurs encouragements permanents, et leur soutien moral.*

*A mes sœurs, mes amours, mes chéries **Sanaa** et **Feriel** qui étaient toujours à mes côtés.*

*A mes chers frères **Fethi** et **Lotfi** pour leur appui et leur encouragement.*

*A mes légendes, ma grand-mère **Oum elkhir AMARA** et mon grand-père **Miloud GUERROUDJ** pour leur amour et leur soutien.*

*En hommage à mes grands parents qui nous ont quitté **Keira BAAZIZ** et **Lakhdar BOUZIANE**.*

*A toute ma famille, oncles, tantes, cousins, cousines et toute la famille **BOUZIANE** et **GUERROUDJ**.*

*A ma sœur, ma copine, mon bijou et ma binôme **Hanine ABBAS** qui m'a toujours soutenu, et à toute la famille **ABBAS**.*

*A mes sœurs **Nour El houda** et **Manel** qui m'ont apporté tout leur soutien.*

A tous mes collègues et à toute la promo de Microbiologie Appliquée.

bessma

Liste des abréviations

CAPE : Ester phényléthylque de l'acide caféique.

E.coli : *Escherichia coli*.

EHEC : Entérohémorragique *Escherichia coli*.

EIEC : Entéro-invasif *Escherichiacoli*.

EPEC : Entéropathogène *Escherichia coli*.

ETEC : Entérotoxinogène *Escherichia coli*.

GN : Gélose nutritive.

LCD : Liquide céphalorachidien.

L.monocytogenes : *Listeria monocytogenes*.

MH : Mueller Hinton.

NaCl : Chlorure de sodium.

PA : Propolis alcoolisée.

PA ½ : Propolis alcoolisée dilué au ½ .

Pas : Propolis sans alcool.

pH : Potentiel hydrogène.

PG : Propolis glycolique.

PG ½ : Propolis glycolique dilué au ½ .

S. aureus : *Staphylococcus aureus*.

Liste des figures

Figures	Titre	Page
Figure 1	Extrait de propolis brute.	04
Figure 2	Chêneliège.	06
Figure 3	Chênezeen.	06
Figure 4	Cyprés (Cupressus sp).	06
Figure 5	Châtaignier.	06
Figure 6	La récolte de la propolis par l'abeille.	08
Figure 7	Butineuses de propolis dans la ruche.	08
Figure 8	Récolte de la propolis par l'homme au niveau de la ruche.	08
Figure 9	Grille en inox.	08
Figure 10	Grille en plastique.	09
Figure 11	Propolis pure.	09
Figure 12	Différentes couleurs de propolis.	09
Figure 13	Composition moyenne de la propolis.	11
Figure 14	Aspect morphologique d' <i>Escherchia coli</i> observé au microscope électronique.	16
Figure 15	Aspect morphologique du <i>Listeria monocytogenes</i> . observé au microscope électronique.	19
Figure 16	Aspect morphologique du <i>Staphylococcus aureus</i> observé au microscope électronique.	21
Figure 17	Solutions de propolis préparées.	25
Figure 18	Aspect des colonies de <i>S.aureus</i> sur gélose nutritive.	27
Figure 19	Aspect des colonies de <i>E.coli</i> sur gélose nutritive.	27
Figure 20	Aspect des colonies de <i>L.monocytogenes</i> sur le milieu Aloa.	27
Figure 21	Variation diamètres d'inhibition des isolats de <i>E.coli</i> ; <i>S.aureus</i> et <i>L.monocytogenes</i> vis-à-vis des solutions de propolis testées.	29
Figure 22	Variation des rayons d'inhibition des isolats de <i>E.coli</i> vis-à-vis des solutions de propolis testées.	30

Figure 23	Variation des rayons d'inhibition des isolats de <i>L.monocytogenes</i> vis-à-vis des solutions de propolis testées.	30
Figure 24	Variation des rayons d'inhibition des isolats de <i>S.aureus</i> vis-à-vis des solutions de propolis testées.	32
Figure 25	Résultats des tests d'inhibition d' <i>E. coli</i> en utilisant les différentes solutions de propolis.	32
Figure 26	Résultats des tests d'inhibition de <i>L.monocytogenes</i> en utilisant les différentes solutions de propolis.	33
Figure 27	Résultats des tests d'inhibition de <i>S.aureus</i> en utilisant les différentes solutions de propolis.	33
Figure 28	Effet inhibiteur de la PG sur les isolats de <i>E. coli</i> .	34
Figure 29	Effet inhibiteur de la PG sur les isolats de <i>L.monocytogenes</i> .	35
Figure 30	Effet inhibiteur de la PG sur les isolats de <i>S.aureus</i>	36
Figure 31	Effet inhibiteur de la PG ½ sur les isolats de <i>E. coli</i> .	37
Figure 32	Effet inhibiteur de la PG ½ sur les isolats de <i>L.monocytogenes</i> .	38
Figure 33	Effet inhibiteur de la PG ½ sur les isolats de <i>S.aureus</i> .	39
Figure 34	Effet inhibiteur de la PA sur les isolats de <i>E.coli</i> .	40
Figure 35	Effet inhibiteur de la PA sur les isolats de <i>L.Monocytogenes</i> .	41
Figure 36	Effet inhibiteur de la PA sur les isolats de <i>S.aureus</i> .	42
Figure 37	Effet inhibiteur de la PA ½ sur les isolats d' <i>E.coli</i> .	43
Figure 38	Effet inhibiteur de la PA ½ sur les isolats de <i>L.Monocytogenes</i> .	44
Figure 39	Effet inhibiteur de la PA ½ sur les isolats de <i>S.aureus</i> .	45
Figure 40	Effet inhibiteur de la PAS sur les isolats de <i>E.coli</i> .	46
Figure 41	Effet inhibiteur de la PAS sur les isolats de <i>L.monocytogenes</i> .	47
Figure 42	Effet inhibiteur de la PAS sur les isolats de <i>S.aureus</i> .	48

Liste des tableaux

Tableau	Titre	page
Tableau 1	Origine botanique de la propolis.	05
Tableau 2	Diamètres des zones d'inhibition des isolats d' <i>E.coli</i> , <i>S.aureus</i> et <i>L.monocytogenes</i> vis-à-vis des solutions de propolis testées.	28
Tableau 3	Rayons des zones d'inhibition des isolats de <i>E.coli</i> vis-à-vis des solutions de propolis testées.	29
Tableau 4	Rayons des zones d'inhibition des isolats de <i>L.monocytogenes</i> vis-à-vis des solutions de propolis testées.	31
Tableau 5	Rayons des zones d'inhibition des isolats de <i>S.aureus</i> vis-à-vis des solutions de propolis testées.	33
Tableau 6	Rayons des zones d'inhibition des isolats d' <i>E.coli</i> vis-à-vis la PG .	34
Tableau 7	Rayons des zones d'inhibition des isolats de <i>L.monocytogenes</i> vis-à-vis la PG .	34
Tableau 8	Rayons des zones d'inhibition des isolats de <i>S.aureus</i> vis-à-vis la PG .	36
Tableau 9	Rayons des zones d'inhibition des isolats de <i>E.coli</i> vis-à-vis la PG $\frac{1}{2}$.	36
Tableau 10	Rayons des zones d'inhibition des isolats de <i>L.monocytogenes</i> vis-à-vis la PG $\frac{1}{2}$.	37
Tableau 11	Rayons des zones d'inhibition des isolats de <i>S. aureus</i> vis-à-vis la PG $\frac{1}{2}$.	38
Tableau 12	Rayons des zones d'inhibition des isolats d' <i>E.coli</i> vis-à-vis PA .	39
Tableau 13	Rayons des zones d'inhibition des isolats De <i>L.Monocytogenes</i> vis-à-vis la PA .	40
Tableau 14	Rayons des zones d'inhibition des isolats de <i>S.aureus</i> vis-à-vis la PA $\frac{1}{2}$.	41
Tableau 15	Rayons des zones d'inhibition des isolats d' <i>E.coli</i> vis-à-vis PA $\frac{1}{2}$.	42
Tableau 16	Rayons des zones d'inhibition des isolats de <i>L.Monocytogenes</i> vis-à-vis la PA $\frac{1}{2}$.	43
Tableau 17	Rayons des zones d'inhibition des isolats de <i>S.aureus</i> vis-à-vis la PA $\frac{1}{2}$.	44

Tableau 18	Rayons des zones d'inhibition de isolat de <i>E.coli</i> vis-à-vis la Pas.	45
Tableau 19	Rayons des zones d'inhibition des isolats de <i>L. monocytogenes</i> vis-à-vis la Pas.	46
Tableau 20	Rayons des zones d'inhibition des isolats de <i>S.aureus</i> vis-à-vis la Pas.	47

Table des matières

Remerciements	
Dédicaces	
Liste des Figures	
Liste des tableaux	
Liste des abréviations	
Résumé – Abstract– ملخص	
Introduction	
Partie bibliographique	
Chapitre I : la propolis	
I.1.Histoire de la propolis.....	03
I.2.Définition de la propolis.....	04
I.3.Origines botanique de la propolis.....	04
I.3.1.L'origine botanique de la propolis provenant des différents pays du monde.....	04
I.3.2. L'Origine botanique de la propolis d'Algérie.....	06
I.4.Récolte de la propolis.....	06
I.4.1.Récolte de la propolis par les abeilles.....	06
I.4.2.Récolte de la propolis par l'homme.....	08
I.5.Caractéristiques physiques et organoleptiques de la propolis.....	09
I.5.1.Caractéristiques organoleptiques.....	09
I.5.2. Caractéristiques physiques.....	09
I.6.Composition de la propolis.....	10
I.7.Propriétés thérapeutiques de la propolis.....	11
I.7.1.Activité antimicrobienne.....	11
I.7.2.Propriété antioxydante.....	12
I.7.3. Propriété anticancéreux et immuno-modulatrice.....	12
I.7.4. Propriété anti-inflammatoire.....	13
I.7.5. Propriété anesthésique.....	13
I.7.6.Propriété cicatrisant et régénératrice.....	13
I.7.7.Activité antiallergique.....	13

I.8.Utilisation de la propolis.....	13
I.8.1. Utilisation par les abeilles.....	13
I.8.2.Utilisation de la propolis par l’homme.....	13
I.9.Forme galénique.....	14
I.10. Conservation.....	15
Chapitre II : Généralités sur les bactéries étudiées	
II.1. <i>Escherichia coli</i>	16
II.1.1. Historique.....	16
II.1.2. Caractéristiques bactériologiques de l’espèce.....	16
II.1.2.1. Caractères morphologiques.....	16
II.1.2.2. Caractères cultureux.....	16
II.1.3. Classification.....	17
II.1.3.1. Classification selon Bergey.....	17
II.1.3.2. Classification selon les sérotypes.....	17
II.2. <i>Listeria monocytogenes</i>	18
II.2.1. Historique.....	18
II.2.2. Caractères bactériologiques.....	19
II.2.2.1. Caractères morphologiques.....	19
II.2.2.2. Caractères cultureux.....	19
II.2.3. Classification.....	20
II.3. <i>Staphylococcus aureus</i>	20
II.3.1. Historique.....	20
II.3.2. Caractères bactériologiques.....	20
II.3.2.1. Caractères morphologiques.....	20
II.3.2.2. Caractères cultureux.....	21
II.3.3. Classification.....	21
Partie expérimentale	
Chapitre I : Matériel et méthodes	
Objectif.....	22
I.1. Matériel biologique.....	22
I.2. Matériel et équipement.....	22
I.3. Méthode d’analyse.....	23

I.3.1. Préparation des milieux de cultures.....	23
I.3.1.1. Préparation de la gélose nutritive.....	23
I.3.1.2. Préparation du milieu chromogénique Aloa.....	23
I.3.1.3. Préparation du milieu Mueller Hinton.....	23
I.3.2. Repiquage des isolats.....	23
I.3.3. Préparation des suspensions.....	23
I.3.4. Préparation des solutions de propolis.....	24
I.3.5. Etude de la sensibilité des bactéries à la propolis.....	25
Chapitre II : Résultats et discussion	
II.1. Résultats	
II.1.1. Revivification des bactéries.....	27
II.1.2. Etude de la sensibilité des bactéries à la propolis.....	28
II.1.2.1. <i>Escherichia coli</i>	29
II.1.2.2. <i>Listeria monocytogenes</i>	30
II.1.2.3. <i>Staphylococcus aureus</i>	32
II.1.3. Etude de l'effet inhibiteur de solutions de propolis testées.....	34
II.1.3.1. propolis glycolique concentrée.....	34
II.1.3.1.1. <i>Escherichia coli</i>	34
II.1.3.1.2. <i>Listeria monocytogenes</i>	34
II.1.3.1.3. <i>Staphylococcus aureus</i>	36
II.1.3.2. propolis glycolique diluée au ½.....	36
II.1.3.2.1. <i>Escherichia coli</i>	36
II.1.3.2.2. <i>Listeria monocytogenes</i>	37
II.1.3.2.3. <i>Staphylococcus aureus</i>	38
II.1.3.3. propolis alcoolisée concentré.....	39
II.1.3.3.1. <i>Escherichia coli</i>	39
II.1.3.3.2. <i>Listeria monocytogenes</i>	40
II.1.3.3.3. <i>Staphylococcus aureus</i>	41
II.1.3.4. propolis alcoolisée diluée au ½.....	42
II.1.3.4.1. <i>Escherichia coli</i>	42
II.1.3.4.2. <i>Listeria monocytogenes</i>	43
II.1.3.4.3. <i>Staphylococcus aureus</i>	44
II.1.3.5. propolis alcoolisée après évaporation de l'alcool.....	45

II.1.3.5.1. <i>Escherichia coli</i>	45
II.1.3.5.2. <i>Listeria monocytogenes</i>	46
II.1.3.5.3. <i>Staphylococcus aureus</i>	47
II.2. Discussion	49
II.2.1.Revivification des bactéries.....	49
II.2.2. Etude de la sensibilité des bactéries à la propolis.....	49
II.2.3. Etude de l'effet inhibiteur de solutions de propolis testées.....	52
Conclusion.....	54
Références bibliographiques	

Résumé

La présente étude a été menée pour évaluer l'effet inhibiteur de différentes solutions commercialisées de propolis vis-à-vis trois espèces bactériennes : *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*.

Les isolats utilisés sont issus du milieu agroalimentaire et hospitalier. La technique utilisée pour l'estimation de l'effet inhibiteur des solutions est la méthode de Kirby-Bauer qui repose sur la diffusion, à travers un gel de gélose, de substances antimicrobiennes imprégnées sur des disques de papiers. Pour la lecture, la méthode utilisée est celle décrite par Wandja et al (2020) avec une adaptation des valeurs critiques aux conditions de l'étude.

Les résultats ont montré que l'effet de la propolis variait en fonction de la solution et de l'espèce bactérienne testées. Les pourcentages des isolats ayant développé des zones d'inhibition ont été calculés pour chaque solution, ils étaient de 0% concernant *E.coli* pour

toutes les solutions, 56,25% et 33,33 % pour la PG ; 68,75% et 66,67 % pour la PG

1/2 ; 100% et 100% pour la PA et la Pas vis-à-vis *Listeria monocytogenes* et *Staphylococcus aureus* respectivement.

En étudiant les rayons d'inhibition, les résultats laissent supposer que la PG a eu un effet inhibiteur moindre par rapport aux autres solutions testées et que la PA a eu l'effet inhibiteur le plus important en comparaison avec les autres solutions ($p \leq 0,05$). Les isolats de *Staphylococcus aureus* ont eu une sensibilité plus importante à la propolis par rapport aux isolats de *Listeria monocytogenes* et *E.coli* ($p \leq 0,05$).

Cette étude nous a permis de confirmer l'effet inhibiteur de la propolis contre certaines bactéries. Plus de travaux de recherches sont nécessaires pour maîtriser d'avantage les concentrations et les formulations adéquates pour permettre à la propolis d'exprimer son effet antibactérien.

Mots clés : Propolis, effet inhibiteur, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*.

Abstract

The present study was conducted to evaluate the inhibitory effect of different commercialized propolis solutions against three bacterial species: *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*.

The isolates used are from the food industry and hospitals. The technique used for the estimation of the inhibitory effect of the solutions is the Kirby-Bauer method which is based on the diffusion, through an agar gel, of antimicrobial substances impregnated on paper discs. For the reading, the method used is the one described by Wandja et al (2020) with an adaptation of the critical values to the conditions of the study.

The results showed that the effect of propolis varied according to the solution and the bacterial species tested. The percentages of isolates that developed zones of inhibition were calculated for each solution, they were 0% for E.coli for all solutions, 56.25% and 33, 33% for PG; 68, 75% and 66, 67% for PG ½; 100% and 100% for PA and Pas towards *Listeria monocytogenes* and *Staphylococcus aureus* respectively.

Investigating the radii of inhibition, the results suggest that PG had a lesser inhibitory effect compared to the other solutions tested and PA had the greatest inhibitory effect compared to the other solutions ($p \leq 0.05$). *Staphylococcus aureus* isolates had a greater sensitivity to propolis compared to *Listeria monocytogenes* and *E.coli* isolates ($p \leq 0.05$).

This study allowed us to confirm the inhibitory effect of propolis against certain bacteria. More research work is needed to further master the concentrations and adequate formulations to allow propolis to express its antibacterial effect.

Key words : Propolis, inhibitory effect, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*.

الملخص

أجريت الدراسة الحالية لتقييم التأثير التثبيطي لمحاليل العكبر التجارية المختلفة ضد ثلاثة أنواع من البكتيريا:

Listeria monocytogenes, *Staphylococcus aureus* , *Escherichia coli*.

العزلات المستخدمة مصدرها الصناعات الغذائية والمستشفيات. التقنية المستخدمة لتقدير التأثير التثبيطي للمحاليل هي طريقة كيربي-باور التيد على نشر المواد المضادة للميكروبات المشربة على أقراص ورقية من خلال هلام أجار. للقراءة ، الطريقة المستخدمة هي تلك التي وصفها (Wandja et al (2020 مع تكييف القيم الحرجة لظروف الدراسة.

أظهرت النتائج أن تأثير العكبر يختلف باختلاف المحلول ونوع البكتيريا المختبرة. تم حساب النسب المئوية للعزلات التي طورت مناطق التثبيط لكل محلول ، وكانت 0% *Escherichia coli* لجميع المحاليل ، 56.25% و 33,33% لـ PG. و 66,67% و 68,75% لـ 1/2 PG و 100% لـ PA و Pas نحو: *Listeria monocytogenes* et

Staphylococcus aureus على التوالي.

من خلال حساب نصف قطر التثبيط ، تشير النتائج إلى أن PG كان له تأثير تثبيط أقل مقارنة بالمحاليل الأخرى التي تم اختبارها وأن PA كان له أكبر تأثير مثبط مقارنة بالمحاليل الأخرى. ($p \leq 0.05$) كان لعزلات *Staphylococcus aureus* حساسية أكبر للعكبر مقارنة بعزلات *Listeria monocytogenes* et *Escherichia coli* المعزولة. ($p \leq 0.05$)

سمحت لنا هذه الدراسة بتأكيد التأثير المثبط للعكبر ضد بكتيريا معينة. هناك حاجة إلى مزيد من العمل البحثي لإتقان التركيز بشكل أكبر والتركيبات المناسبة للسماح للعكبر بالتعبير عن تأثيره المضاد للبكتيريا.

الكلمات المفتاحية: عكبر ، تأثير كايح ، *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* ،

Escherichia coli .

La nature nous offre une importante variété d'espèces. Cette diversité est possible grâce à la faculté qu'ont les êtres vivants à assurer leur survie. Les stratégies pour atteindre ce but sont multiples, mais le principe de base est de former un groupe solide [1].

Tout comme les fourmis, les abeilles vivent en société. Elles sont organisées pour survivre en coopération et ainsi lutter contre certains prédateurs. Cependant cette concentration d'individus dans un espace restreint présente aussi des dangers. La ruche est exposée à de nombreuses agressions microbiennes qui représentent une menace bien plus importante que les dits prédateurs [2].

La ruche est une société organisée avec des tâches bien réparties pour chaque individu, les butineuses récoltent nectar et pollen, les gardiennes garantissent l'entrée de la ruche, la reine assure la ponte des œufs, des ventileuses assurent même la climatisation.

Depuis plus de 50 millions d'années les abeilles résistent aux micro-organismes. La population d'une ruche peut croître jusqu' à 60000 spécimens et, dans ce milieu confiné il y a beaucoup de germes pathogènes. Afin de se protéger contre ceci, les abeilles ont appris à fabriquer une substance miraculeuse : la propolis [3].

En produisant la propolis, les butineuses jouent un rôle primordial pour le nettoyage et l'entretien de la ruche. Elles récoltent sur les bourgeons des arbres et arbustes, des résines et des baumes qu'elles transforment avec une enzyme sécrétée par leurs systèmes glandulaires et les mélangent avec la cire obtenant ainsi une pâte appelée propolis [1].

Dès leurs retours à la ruche elles appliquent ce matériau au niveau des fissures et fontes de chaque rayon et aussi enduisent d'une couche de propolis, elles confectionnent également un tapis de propolis à l'entrée de la ruche obligeant chaque abeille qui entre à franchir cette barrière. La colonie est alors protégée contre les germes [3].

Tout aux longs des siècles passés on trouve la trace de l'utilisation de la propolis. Elle fut délaissée à un moment laissant place aux antibiotiques et réapparut dans les années 60 où la science moderne permit de comprendre la complexité de cet amas de

substance et d'identifier les principes actifs qui lui confèrent ses propriétés antimicrobiennes [3].

Actuellement, les effets inhibiteurs de la propolis vis-à-vis différentes bactéries sont de plus en plus étudiés afin de trouver éventuellement des alternatives à l'utilisation des antimicrobiens chimiques et de privilégier les produits naturels présentant beaucoup d'effets bénéfiques et pas d'effets indésirables, surtout, que nous sommes actuellement confronté de plus en plus aux problèmes d'adaptation et de résistance des bactéries aux agents antimicrobiens utilisés (antibiotiques).

L'objectif de ce travail est d'évaluer la sensibilité de trois bactéries : *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli* à deux extraits de propolis commercialisée en testant ainsi leurs effets inhibiteurs.

Ce travail est organisé en :

- Une partie bibliographique incluant un chapitre sur la propolis et un chapitre sur les bactéries étudiées.
 - Une partie pratique structurée en deux grands chapitres : matériel et méthodes, résultats et discussion.
 - Une conclusion.
-

I. La propolis**I.1. Histoire de La propolis**

La propolis existe depuis que l'abeille est apparue sur terre, il y a 50 à 60 millions d'années [1].

Elle est considérée comme un remède naturel utilisé depuis l'Antiquité. Son usage remonte probablement à l'Égypte antique. Les prêtres de l'Égypte antique l'utilisaient sur le plan médical, mais surtout pour l'embaumement des cadavres dans le processus de momification [2].

Cette résine nommée la propolis est utilisée depuis les temps les plus reculés à cause de ces propriétés antibactériennes, immunostimulantes, cicatrisantes, etc.. Les anciens Grecques l'ont utilisé pour les "suppurations" comme on a découvert dans les anciens livres (Aristote) [3].

Au cours du I^{er} siècle avant Jésus Christ, le célèbre savant Latin Varron en fait état dans ses travaux ainsi que le poète Virgil dans ses écrits. A Rome, la propolis était très recherchée où elle se vendait plus cher que le miel [4].

Au II^{ème} siècle, c'est au tour du célèbre médecin grec Galien d'en faire mention dans ses traités et d'en recommander l'usage.

Au XI^{ème} siècle, le médecin iranien Avicenne note qu'elle « a la qualité de faire éliminer les pointes de flèches et les épines, raréfie, nettoie facilement et amollit fortement » [2].

En France, c'est au cours des XVIII^{ème} et XIX^{ème} siècles que l'on fait de nouveau référence à la propolis pour le pansage et le soin des plaies.

A la fin du XIX^{ème} siècle, la propolis était en plein essor grâce à ses vertus anti infectieuses, cicatrisantes et anti-inflammatoires, employée sous forme d'onguent, d'emplâtre, de lotion ou de fumigation. De nos jours, elle est utilisée surtout en Europe de l'est, en Asie et notamment au Japon [5].

Les applications de ce fameux produit sont de même très intéressantes dans la médecine vétérinaire empirique pour le traitement des hémorragies et des plaies de toute nature. Son utilisation donc, sans avoir été permanente, s'est maintenue au fil des siècles et est à nouveau redécouverte de façon relativement récente par de nombreux chercheurs qui s'attachent et s'efforcent progressivement, depuis quelques années, d'expérimenter scientifiquement l'ensemble des données empiriques de ce produit [6].

I.2. Définition de la propolis

La propolis est une substance produite par les abeilles qui constitue un mélange de cire et de matériel botanique comme les bourgeons et les résines végétales (**Figure 1**). Elle est utilisée par les ouvrières pour colmater les trous et les fissures de leur ruche pour la protéger contre les conditions météorologiques défavorables et comme c'est une substance antiseptique, elle protège ainsi la ruche contre les contaminations bactériennes ainsi que les invasions étrangères [7].



Figure 1 : Extrait de propolis brute [7].

I.3. Origines botanique de la propolis

I.3.1. L'origine botanique de la propolis provenant des différents pays du monde

Il existe plusieurs types de propolis qui diffèrent les unes par rapport aux autres en fonction de la zone géographique de la ruche, des végétaux présents sur cette zone, de la disponibilité des végétaux pendant la saison et de l'espèce de l'abeille [8].

Les principales essences d'arbres connues pour être productrices de propolis sont représentées par différents conifères (pin, sapin, épicéa) et plusieurs espèces de peupliers (**Tableau 1**) [9].

Tableau 1: Origine botanique de la propolis selon les différentes régions [9].

Genre et / ou espèces	Régions géographiques
Peuplier(<i>Populusnigra</i> , <i>Populusitalica</i> , <i>Populustremula</i>)	Bulgarie
Peuplier (<i>Populusnigra</i>)	Albanie
Peuplier (<i>Populussuaveolens</i>)	Mongolie
Peuplier (<i>Populusfremontii</i>)	USA (Mainland)
Plumeria (<i>Plumeriaacuminata</i> , <i>Plumeriaacutifolia</i>)	USA (Hawaiian,Islands)
Peuplier (<i>Populuseuramericana</i>)	United Kigdom
Bouleau (<i>Betulasp.</i>), Peuplier (<i>Populus</i> sp), Pin (<i>Pinus</i> sp), <i>Prunus</i> sp,Acacia	Hungary
Bouleaux (<i>Betulasp</i>), Aulnes (<i>Alnus</i> sp)	Poland
Clusia(<i>Clusiasp</i>), <i>Delchampsiasp</i>	Région Equatorial
Clusia (<i>Clusia minor</i> et <i>Clusia major</i>)	Venezuela
Xanthorrhoea (<i>Xanthorrhoeasp</i>)	Australie
Peuplier (<i>Populus</i> sp), Bouleaux (<i>Betulasp</i>), Orme (<i>Ulmus</i> sp) et les Conifères.	La Zone tempérée Du Nord
Romarin des champs (<i>Baccharisdracunculifolia</i>), Peuplier (<i>Populus</i> sp)	Brésil
Peuplier (<i>Populus</i> sp), Eucalyptus (<i>Eucalyptus sp</i>) et le Châtaignier (<i>Castaneasativa</i>)	Turquie
Bouleaux (<i>BetulaVerrucosa</i>)	Russie
Mahang (<i>Macaranganarius</i>)	Okinawa
Eucalyptus (<i>Eucalyptus sp</i>), Bouleaux (<i>Betulasp</i>), peupliers (<i>Popolus</i> sp), Saule (<i>Salix</i> sp)	Uruguay

I.3.2. L'Origine botanique de la propolis d'Algérie

En Algérie, selon la flore botanique disponible, la propolis peut avoir comme origine : le pin (*Pinus* sp) qui occupe les zones semi arides, le chêne (chêne liège et chêne zeen) qu'on trouve au nord-est du pays, la châtaignier, le cyprès (*Cupressus* sp), le casuarina, et le peuplier (*Populus* sp) [6].

Quelques plantes source de la propolis en Algérie sont représentées dans les **figures** 2,3,4 et 5.



Figure 2 :Chêneliège [6].



Figure 3 :Chênezeen [6].



Figure 4 :Cyprès (*Cupressus* sp) [6].



Figure 5 : Châtaignier [6].

I.4. Récolte de la propolis

I.4.1. Récolte de la propolis par les abeilles

- la butineuse utilise ses antennes pour situer la partie la plus intéressante de la source.
- Après, cette butineuse attaque la partie intéressante avec ses mandibules (**figure 6**).
- Avec une tête redressée, la butineuse se recule pour attirer le morceau de résine jusqu'à ce qu'il soit transformé en un fil et que celui-ci se rompe.

- Elle travaille cette résine avec les mandibules et la prélève avec les pattes antérieures.
- Elle la transfère de ses pattes antérieures aux pattes centrales;
- Enfin elle la transfère dans la corbeille située du même côté. Cette séquence se répète jusqu'à ce que la corbeille soit chargée (**figure 7**) [10].

Tout cela prend de sept minutes à une heure en fonction de nombreux facteurs, parmi lesquels nous pouvons analyser les plus notables [6].

I.4.1.1. L'âge de l'abeille

La propolis est récoltée par les abeilles les plus âgées donc les plus expérimentées. L'étude histologique réalisée sur leurs tissus montre que leurs glandes cirières sont grandes. L'âge minimal des abeilles qui participent à la récolte est de dix-huit jours [6].

I.4.1.2. La race

L'abeille grise des montagnes appelée encore Caucasienne (*Apis mellificacaucasia*) et certaines autres races d'Asie Mineure (celle d'Anatolie centrale en particulier) propolisent en général davantage que les autres, c'est le cas de l'abeille carniolienne (*Apis mellificacarnica*) et l'abeille Tellienne (*Apis mellifira*) [9]. Mais dans de nombreux autres cas, les informations concernant ce facteur sont encore insuffisantes pour établir des comparaisons précises [6].

I.4.1.3. La saison

La récolte se fait en général en début de printemps, ou à l'approche de l'automne au moment où la colonie commence ses préparatifs d'hivernage [6].

I.4.1.4. Le climat (la température)

Généralement, les abeilles récolteuses de la propolis sont actives au cours des journées chaudes (température le plus souvent supérieure à 20°C), et cela, pendant les heures les mieux exposées à cette chaleur (entre 10 et 15h 30 min en moyenne), ceci du fait que les substances ramassées sont trop dures pour être exploitées en dehors de ces horaires [6].

I.4.1.5. La géographie

Les ruches situées dans les régions boisées propolisent davantage que les ruches de plaine [6].



Figure 6 : La récolte de la propolis par l'abeille [11].



Figure 7: Butineuses de propolis dans la ruche [10].

I.4.2. Récolte de la propolis par l'homme

La propolis peut être récoltée en utilisant diverses techniques :

- Par raclage et grattage des cadres ou des parois de la ruche, de préférence a une température assez basse, la propolis est alors dure et friable, se détachant mieux (**figure 8**).
- Par des grilles spécialement conçues à cet effet. Ce procédé donne une propolis de meilleure qualité (**figure 9 et 10**).

Une fois récoltée, On élimine les déchets les plus grossiers, la propolis est ensuite dissoute à froid dans l'alcool éthylique à 70 % ce qui permet l'élimination de la cire [6] et l'obtention par la suite de propolis pure (**figure 11**).



Figure 8 : Récolte de la propolis par l'homme au niveau de la ruche [10].

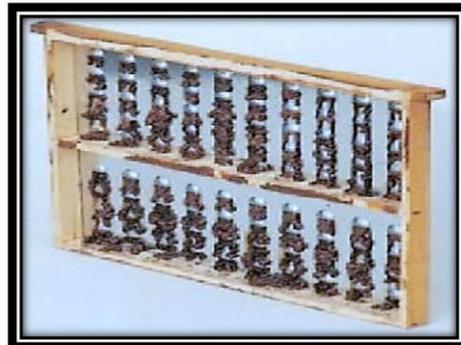


Figure 9: Grille en inox [10].



Figure 10 : Grille en plastique [1].



Figure 11 : Propolis pure [1].

I.5. Caractéristiques physiques et organoleptiques de la propolis

I.5.1. Caractéristiques organoleptiques

La propolis est une substance résineuse, d'aspect hétérogène qui présente les caractères suivants :

I.5.1.1. Couleur

Elle varie selon la provenance de la propolis, allant de jaune clair au brun très foncé, presque noire en passant par toutes les gammes des bruns (brun jaune, brun vert et brun rouge) (**figure 12**) [1].



Figure 12 : Différentes couleurs de propolis [1].

I.5.1.2. Odeur

L'odeur est variable suivant l'origine de la propolis, en général, on sent un arôme agréable douceâtre, mélangé à celui du miel, de la cire et d'autres produits (cannelle, vanille, etc...) [2].

I.5.1.3. Saveur

Elle est souvent amère et âcre [1].

I.5.2. Caractéristiques physiques

Les principales caractéristiques physiques étudiées de la propolis sont : la consistance, la densité, la solubilité et le point de fusion.

I.5.2.1. Consistance

La propolis est une substance de consistance variable suivant la température :

- 15 °C, elle est dure et friable ;
- 30 °C elle est molle et malléable.
- Entre 30 °C et 60 °C elle est coulante et gluante [12].

I.5.2.2. Solubilité

La propolis est soluble de façon partielle dans l'Alcool, l'Acétone, l'Ether, le chloroforme, le benzène...etc.

La partie insoluble est constituée de tissus végétaux, de grains de pollen, de débris de cuticule et de soie d'abeille ...etc [6].

I.5.2.3. Densité

Elle est de l'ordre de 1,2 en moyenne [9].

I.5.2.4. Point de fusion

Le point de fusion est variable, il se situe vers 60 à 70 °C en moyenne mais peut atteindre 100 °C et plus, qui divise la propolis en deux parties :

- Une partie visqueuse qui tombe au fond du récipient.
- Une partie liquide appelée cire de propolis qui reste en surface [6].

I.6. Composition de la propolis

La composition de la propolis est variable selon la source végétale visitée par les Abeilles [9].

La propolis contiendrait 50 à 55% de résines et de baumes, 20 à 35% de cires végétales ou de cire d'abeille, 5 à 10% d'huiles essentielles (anéthol, eugénol, inène etc...), 5% de pollen et 5% d'autres substances diverses d'origine organique ou minérale [13 ;14] (**figure 13**).

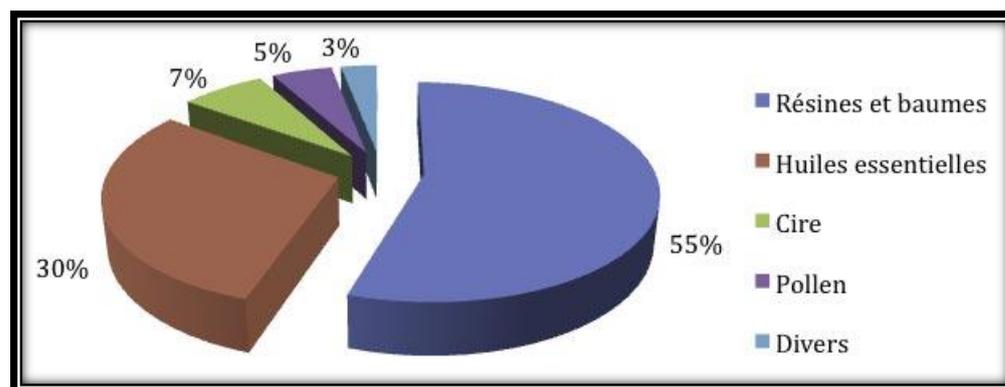


Figure 13 : Composition moyenne de la propolis [15].

La propolis est constituée aussi de plus de 40 flavonoïdes, de composés phénoliques, d'aldéhydes aromatiques, d'acides gras aliphatiques, de sucres, d'acides aminés, d'oligo-éléments (fer, cuivre, manganèse), de vitamines (vitamine A et vitamines du groupe B) [15].

I.7. Propriétés thérapeutiques de la propolis

I.7.1. Activité antimicrobienne

Elle concerne les différents microorganismes à titre d'exemple contre bactéries, virus, levures et parasites [9].

I.7.1.1. Action antibactérienne

La propolis est bactéricide efficace pour les germes comme *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus*, *Escherchia faecalis*, *Escherchia coli*, *Salmonellatyphimurium*, *Listeria innocua*, *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Candida krusei*, et enfin *Pseudomonas aeruginos* [16 ;17].

On attribue cette activité au groupe de flavonoïdes en particulier la galangine qui semble avoir un effet anti-staphylococcique très important [16], mais aussi aux acides caféique, férulique, gallique et salicylique.

La propolis est souvent nommée « antibiotique naturel ». Un grand nombre d'études ont montré les résultats suivants :

- La propolis de l'Argentine a montré un effet positif contre *Staphylococcus aureus*, ainsi que sur *Escherichia coli*.
- La *Salmonella Typhimurium* a été inhibée par la propolis du Brésil et de la Bulgarie
- La propolis de la région de la Grèce a montré un effet positif sur un nombre important des germes [20].

I.7.1.2. Action antiviral

L'action de la propolis contre les virus est bien démontrée et ce notamment grâce aux flavonoïdes. Cette activité antivirale a été fortement documentée [9 ;17].

En effet, les études ont montré que la propolis et/ou ses constituants étaient efficaces contre de nombreux virus : les poliovirus, les adénovirus, l'hépatite B et virus de la grippe [7 ;9].

I.7.1.3. Action antifongique et antimycosique

La propolis a une activité antifongique importante contre *Candida albicans*, *Trichophyton*, *Microsporum*, *Canis* et *Cryptococcus*. Ce sont la galangine, le kaempférol, la pinocembrine et l'acide caféique et l'acide coumarique qui lui confèrent cette activité. Associée à des médicaments antimycosiques, la propolis a de meilleurs effets sur les mycoses de la peau ou des muqueuses [6 ; 18].

I.7.1.4. Action antiparasitaire

La propolis serait efficace contre la plupart des parasites répandus essentiellement dans les pays tropicaux et subtropicaux, tel que :

- *Trichomonas* (Trichomose uro-génitale)
- *Trypanosomacruzi* (maladie de Chagas)
- *Les leshmania* (Leishmaniose)
- *Le giardia lamblia* (Lamblia) [9].

I.7.2. Propriété antioxydante

L'activité antioxydante d'un composé ou d'un extrait correspond à sa capacité à diminuer ou à empêcher les réactions d'oxydation.

Plusieurs études ont montré que l'activité antioxydante de la propolis était positivement corrélée avec sa teneur en polyphénols.

Les composés phénoliques responsables de cette activité sont principalement le caféate de phényléthyle (CAPE), le Kaempférol mais aussi l'acide coumarique, caféique et Férulique [19].

I.7.3. Propriété anticancéreux et immuno-modulatrice

Elles sont dues aux flavonoïdes et à l'acide caféique identifié comme étant un inhibiteur tumoral [5].

La propolis possède aussi une action immuno-modulatrice grâce à l'acide caféique et une action bénéfique a été observée dans le traitement de l'asthme ainsi que dans les cas de cancers du sein [19].

I.7.4. Propriété anti-inflammatoire

L'inhibition de la synthèse des prostaglandines par les flavonoïdes de la propolis lui confère cette action anti-inflammatoire, utile dans les inflammations de la cornée, de la trachée, du pharynx ou dans l'arthrite rhumatismale [12 ; 17].

I.7.5. Propriété anesthésique

Grâce aux huiles volatiles de celle-ci. Cette action n'a pas d'effets indésirables comme la cocaïne [5].

I.7.6. Propriété cicatrisante et régénératrice

La propolis possède un effet stimulant sur le métabolisme cellulaire, la circulation, et la formation du collagène. De plus, elle répare en un temps record l'épiderme abîmé (régénération de tissu) [13].

I.7.7. Activité antiallergique

La propolis Inhibe la libération d'histamine par les mastocytes grâce aux flavonoïdes [14].

I.8. Utilisation de la propolis

I.8.1. Utilisation par les abeilles

A l'intérieur de la ruche, la propolis sert de mastic, de ciment ou de baume. Les abeilles l'emploient pour :

- Assurer une meilleure isolation thermique.
- Obturer les fissures.
- Réduire l'ouverture de trou de vol dans les régions à climat froid.
- Recouvrir les corps étrangers (souris, cétoines, frelons.....etc.) qu'elles ne peuvent pas évacuer [6].

I.8.2. Utilisation de la propolis par l'homme

I.8.2.1. Utilisation traditionnelle

La propolis a été employée comme agent médicinal depuis des périodes antiques. Elle était utilisée dans la médecine folklorique dès 300 Avant Jésus Christ pour des buts cosmétiques, ses propriétés anti-inflammatoires, et pour soigner les blessures. Elle a été employée intérieurement et extérieurement pour ces vertus antibactériennes,

antivirales, fongicides, anesthésique local, anti-inflammatoires, immunostimulant, hypotenseur, et propriétés cytostatiques [16].

I.8.2.2. Utilisation actuelle

La propolis est largement utilisée dans plusieurs domaines tels que :

a. Cosmétique

La propolis et ses extraits ont été largement utilisés dans la dermatologie et la cosmétique. Ses effets sur la régénération et la rénovation des tissus ont été bien étudiés. Avec ses caractéristiques bactéricides et fongicides, elle offre de nombreux bénéfices dans diverses applications [16].

b. Médecine

La propolis est utilisée dans divers traitements tels que :

- Les problèmes cardio-vasculaires.
- Les infections de l'appareil respiratoire.
- Les soins dentaires.
- Les ulcères.
- Les infections des muqueuses et les lésions.
- Le cancer.

Elle est utilisée aussi dans le soutien et l'amélioration du système immunitaire [16].

c. Technologie alimentaire

Les activités anti-oxydantes, antifongiques et antibactériennes de la propolis lui offre une place de choix dans ce domaine. Les résidus des propolis semblent avoir un effet généralement bénéfique sur la santé humaine. Seulement, très peu d'études ont été faites sur les effets secondaires possibles sur une plus grande consommation de la propolis.

La propolis peut être aussi utilisée comme agent conservateur [16].

I.9. Forme galénique

Sous sa forme pure, on la retrouvera en fragments, en pâte, en poudre ou en granulés.

Dans d'autres formes telles que les extraits mous, les pommades, les comprimés, les ovules, les gels, les sirops, les crèmes, les émulsions et les sprays, elle sera transformée lors du conditionnement et/ou en vue d'une meilleure conservation [14].

Nous pouvons aussi trouver la propolis en association avec des produits naturels comme le miel, la gelée royale, différentes plantes médicinales et huiles essentielles [12].

I.10. Conservation

La propolis se conserve assez facilement, dans de bonnes conditions, sans précautions. Mais il paraît préférable de la garder dans des récipients opaques, bien fermés et à l'abri de la lumière et de la chaleur (à 10 ou 12°C de préférence) [13 ;14].

II. Généralités sur les bactéries étudiées

II.1. *Escherichia coli*

II.1.1. Historique

En 1885, *E.coli* a été décrite par le pédiatre allemand Theodor Escherich (1857-1911) dans les excréments d'un enfant souffrant de diarrhée et l'a nomma *Bacterium coli* commune. Le vétérinaire Danish a supposé en 1893, que cette espèce comprend différentes souches, certaines étant pathogènes, d'autres non pathogènes. En 1919, Castellani et Chalmers donna un nom définitif à cette bactérie qui est *Escherichia coli* (*E.coli*) en hommage à Escherich.

Dans les années 40, Kauffmann a développé le sérotypage d'*E.coli*. Il a mis en évidence la présence des antigènes de surface somatiques (antigènes O), antigènes capsulaires (antigènes K) et antigènes flagellaires (antigènes H). Certains sérotypes sont en effet associés à des syndromes cliniques spécifiques.

Depuis 1960, plusieurs propriétés spécifiques qui différencient les souches d'*E.coli* pathogènes des souches non pathogènes ont été développées [22 ;23].

II.1.2. Caractéristiques bactériologiques de l'espèce

II.1.2.1. Caractères morphologiques

E. coli est un bacille de forme cylindrique (bâtonnet) ou coccobacillaire, à Gram négatif, mobile, non sporulé, capsulé. Les colonies développées par cette bactérie ont un aspect bombé, lisse, homogène et ronde (**figure 14**) [24 ;25].

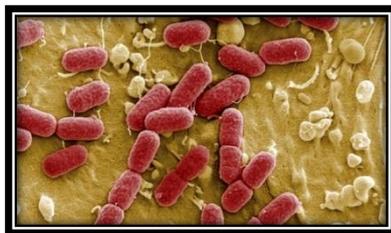


Figure 14: Aspect morphologique d'*Escherichia coli* observé au microscope électronique [24].

II.1.2.2. Caractères cultureux

La culture des *E.coli* sur un milieu ordinaire et facilement réalisable, compte tenu du fait qu'ils n'ont pas d'exigences particulières pour leur multiplication. Ils sont caractérisés par une croissance rapide à 37°C [24 ;34].

II.1.3. Classification

II.1.3.1. Classification selon Bergey

La classification d'*E.coli* selon la seconde Edition de Bergey of Systematic bacteriology (2004) est la suivante :

Phylum : Proteobacteria.

Classe : Gammaproteobacteria.

Ordre : Enterobacteriale.

Famille : Enterobacteriaceae.

Genre : Escherichia.

Espèce : *Escherichia coli*.

Le genre Escherichia comprend cinq espèces : *E. coli*, *E. blattae*, *E. fergusonii*, *E. hermanni*, *E. velneris* [24].

II.1.3.2. Classification selon les sérotypes

Les *Escherichia coli* pathogènes sont subdivisés en souches à tropisme intestinal et en souches à tropisme extra-intestinal, sur la base de la possession de propriétés ou de la production de facteurs spécifiques responsables de leur pouvoir pathogène [21].

Il existe différents sérotypes d'*Escherichia coli* responsable d'infection intestinales :

- **ECET** : *Escherichia coli* Enterotoxinogène responsable de la diarrhée des voyageurs ou turista et des syndromes épidémique dans les pays du Tiers – monde.
- **ECEI** : *Escherichia coli* Entero-invasif ,encore appelé *Escherichia coli Shigella-like* responsable de syndromes dysentérique avec invasion de la muqueuse intestinale.
- **ECEH** : *Escherichia coli* Enterohaemorragique responsable de diarrhées sanglantes liées à la production de toxine.
- **ECEP** : *Escherichia coli* Enteropathogène responsable de gastro-entérites infantiles.

II.2. *Listeria monocytogenes*

II.2.1. Historique

Le nom *Listeria* lui a été donné par Pirle en 1940 en l'honneur du chirurgien Lister [35].

Elle est caractérisée par une élévation anormale du taux de monocytes d'où son nom de monocytogenes [35].

Hulphers, vétérinaire Suédois, fut le premier auteur à avoir décrit cette infection chez un lapin atteint de méningite en 1911 [36].

En 1926, elle a été décrite par Murray -Webb et Swann, lors d'une épizootie chez des lapins et des cobayes qui présentaient une mononucléose sanguine et des lésions de nécrose au niveau du foie. Ils lui donnèrent alors le nom de *Bactérium monocytogenes* [36].

Dumon et Cotoni, isolèrent la même souche à partir d'un liquide céphalorachidien (LCR) chez homme et cette souche demeure toujours conservée au niveau de l'Institut Pasteur de Paris depuis 1921 [36].

D'autres chercheurs isolèrent la même bactérie dans des circonstances différentes à partir de 1926, parmi lesquels :

-Prie, chez la gerbille en Afrique, décrite sous le nom de *Lister ellahepatolyticaen* 1927.

-Nyfeld, chez l'homme lors d'un syndrome mononucléosique, décrite sous le nom De *Bactérium monocytogenes hominis* en 1929.

- Burn, démontre le rôle de la bactérie dans l'infection périnatale en 1933.

- Sohier et coll., ont mis en évidence, à partir d'un sang de boeuf cuit, une seule souche de *Listeria* qui se différencie de *Listeria monocytogenes* par la réduction des nitrates et l'ont décrites sous le nom de *Listeria denitrificans* en 1948. Toutefois, cette dernière a été définitivement exclue du genre *Listeria* lors de la récente révision de la taxonomie. Cette bactérie corynéforme a été transférée dans le nouveau genre *Jonesia* dont elle constitue l'unique espèce [36].

- Reiss ,Potel et Krebs (Allemands) décrivent la forme septicémique du nouveau – né , et les travaux de Seeliger ont montré que *Listeria monocytogenes* joue un rôle assez important aussi bien en pathologie humaine qu'en pathologie animale à partir de 1951.

Par ailleurs, ce n'est qu'en 1960 que les infections humaines à *Listeria* ont été diagnostiquées, et qu'en 1981 qu'on a observé les premières flambées de Listériose

et démontré que la bactérie responsable de la maladie pouvait être transmise par certains aliments, en plus des modes habituels de transmission. Le centre pour le contrôle et la prévention estime à 1850 cas d'infection causés annuellement aux USA, dont 425 cas mortels soit 23 % [37].

II.2.2. Caractères bactériologiques

II.2.2.1. Caractères morphologiques

Listeria monocytogenes est un bacille à Gram positif, régulier, non sporulé, de 0,4 à 0,5 µm de diamètre sur 0,5 à 2 µm de longueur (**figure 15**). Les cellules sont isolées ou regroupées en courtes chaînes, non acido-alcool résistants, non capsulées, aérobies anaérobies facultatifs. immobiles à 37° C et mobile à 22- 25° C, la ciliature est de type péritriche, avec un nombre de flagelles compris entre 1-5 [26 ;27 ;29].



Figure 15: Aspect morphologique du *Listeria monocytogenes* observé au microscope électronique [27].

II.2.2.2. Caractères cultureux

Cette bactérie est aérobio-anaérobie facultative et n'est pas exigeante [27 ;29 ;52].

Sa croissance est stimulée par l'addition de glucose ou de sang. Sa température optimale de croissance se situe entre 30 à 37°C.

Le pH optimal de sa croissance est de 7 ou légèrement alcalin. *Listeria monocytogenes* présente une halotolérance, certaines souches tolèrent des concentrations en sel supérieures à 10 %.

Les colonies sont circulaires, après 24H d'incubation sur gélose au sang.

L'isolement de *Listeria monocytogenes* est réalisé sur milieux sélectifs comme la gélose au sang dans les recherches médicales et comme la gélose type PALCAM ou Oxford dans l'agro-alimentaire [26 ;28 ;51].

II.2.3. Classification

La classification hiérarchique du genre *Listeria* basée sur l'analyse phylogénétique de l'ADN 16S est [30 ;49].

Règne : Bacteria.

Phylum : Firmicutes.

Classe : Bacilli.

Ordre : Bacillales.

Famille : Listeriaceae.

Genre : *Listeria*.

Espèce : *Listeria monocytogenes*.

II.3. *Staphylococcus aureus*

II.3.1. Historique

Ennemi intime et permanent depuis la nuit des temps, le *Staphylocoque* fut démasqué à la fin du XIX^{ème} siècle, l'observation au microscope faisant apparaître des « amas de grains » dans le pus de furoncles. D'abord observé par Robert Koch en 1878, il fut reconnu par Louis Pasteur deux ans plus tard. En 1881, Alexander Ogston isola la bactérie à partir d'abcès post-opératoires et reproduisit l'infection chez l'animal. Ces amas furent à l'origine du nom qu'il lui donna, Staphyle désignant la grappe de raisin en grec. Ogston différencie ainsi *Staphylococcus* de *Streptococcus* [33 ;35 ; 50].

Et ce fut en 1884 qu'Anton Rosenbach cultiva le *Staphylocoque* in vitro et en décrivit la première espèce connue : *Staphylococcus aureus* (*S.aureus*), ou bien *Staphylocoque* doré, ainsi nommé en raison de la couleur des colonies obtenues en culture [44 ;33].

II.3.2. Caractères bactériologiques

II.3.2.1. Caractères morphologiques

Les *Staphylocoques* sont des coques immobiles, Gram positif et non sporulés, isolés ou groupés en diplocoques ou, le plus souvent, en amas, de 0,8 à 1 µm de diamètre (**figure 16**) [32 ;31 ;29].

Non capsulés, mais les souches isolées dans les infections humaines et animales possèdent des microcapsules non visibles en microscope optique [30 ; 36].

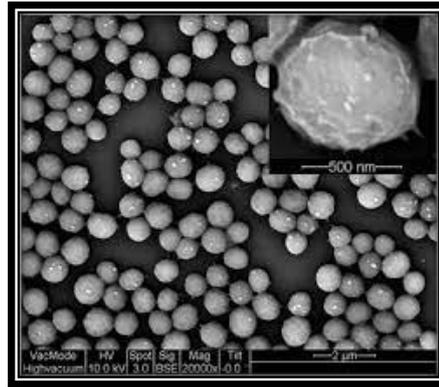


Figure 16: Aspect morphologique du *Staphylococcus aureus* observé au microscope électronique [29 ;30].

II.3.2.2. Caractères cultureux

Staphylococcus aureus est une bactérie aéro-anaérobie facultative , halotolérante (tolère jusqu'à 6.5 % de NaCl) [39 ;40].

La température optimale de croissance des *staphylocoques* est de 37°C et le pH 7,2 à 7,4 [34 ;37].

Les milieux de culture d'usage courant sont : Gélose nutritive , Gélose trypticase soja.

Les colonies sont : lisses, arrondies et bombées après 24H d'incubation [38 ;42].

On peut utilisés aussi des milieux d'isolement ou d'enrichissement sélectifs tel que la gélose de Baird-Parker et milieu Chapman [41 ;43 ;45].

II.3.3. Classification

Il existe plusieurs types de classification de *S. aureus* dont la plus utiliser est la Classification de Bergey [46 ;47 ;48] :

Règne : Bacteria ou Eubacteria.

Phylum : Firmicutes.

Classe : Bacilli.

Ordre : Bacillales.

Famille : *Staphylococcaceae*.

Genre : *Staphylococcus*.

Espèce : *Staphylococcus aureus*.

Objectif

L'objectif principal de ce travail est d'étudier l'effet de différentes solutions de propolis testée à différentes concentrations sur ces bactéries :

- *Escherchia coli* qui est souvent utilisé comme organisme indicateur d'hygiène des procédés.
- *Listeria monocytogenes* qui est un critère de sécurité des aliments.
- *Staphylococcus aureus* qui est impliqué dans les infections nosocomiales et responsables de toxi-infection alimentaires.

Nous avons choisi de travailler sur des produits prêt à l'emploi afin d'évaluer leur effet sur des bactéries qui contaminent les surfaces et les équipements du milieu médical et industriel.

I. Matériel et méthodes

I.1. Matériel biologique

-*Escherchia coli* (4 isolats) et *Listeria monocytogenes* (16 isolats) isolés lors d'une étude précédente [53] à partir des prélèvements de surfaces d'un abattoir de viande et des mains des employés.

- Souches de *Staphylococcus aureus* (3 souches) issue d'un milieu médicale [54].

I.2. Matériel de laboratoire, milieux de cultures et réactifs

- Propolis
 - Propolis glycolique : produit issu du commerce, prêt à l'emploi à base de glycol.
 - Propolis alcoolisée : issu du commerce, prêt à l'emploi à base d'alcool.
- Agitateur.
- Etuve.
- Autoclave.
- Balance.
- Densitomètre.
- Bain marie.
- Tubes à essais.
- Pincettes.
- Ecouvillons.
- Hanse de platines.

- Becher.
- Flacons.
- Bec de benzen.
- Gélose nutritive agar.
- Mueller Hinton Agar.
- Milieu chromogène Aloa agar.

I.3. Méthode d'analyse

I.3.1. Préparation des milieux de cultures

I.3.1.1. Préparation de la gélose nutritive

-Mettre en suspension 28 grammes d'agar dans 1 litre d'eau distillée et chauffer jusqu'à dissolution complète.

-Stériliser en autoclave à 121°C pendant 15 minutes.

-Mélanger et verser dans des boites de pétri stériles.

I.3.1.2. Préparation du milieu chromogénique Aloa

-Mettre en suspension 55,8 grammes d'agar dans 1 litre d'eau distillée et chauffer jusqu'à dissolution complète.

-Stériliser en autoclave à 121°C pendant 15 minutes. Ajouter les suppléments.

-Mélanger et verser dans des boites de pétri stériles.

I.3.1.3. Préparation du milieu Mueller Hinton

-Mettre en suspension 38 grammes d'agar dans 1 litre d'eau purifiée ou distillée.

-Porter à ébullition pour assurer la dissolution complète du milieu.

-Stériliser à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes.

-Bien mélanger et verser dans des boites de pétri stériles.

I.3.2. Repiquage des isolats

A partir des tubes de conservation, les différentes bactéries ont été repiquées et ensemencées sur :

- Gélose nutritive pour les isolats d'*Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*.
- Milieu chromogénique Aloa (bioMérieux) pour les isolats de *Listeria monocytogenes*. Les boites ont été incubées pendant 24 h à 37°C.

I.3.3. Préparation des suspensions

Après 24 h d'incubation, des suspensions bactériennes de 0,5 Mac Farland ont été préparées à partir des colonies des bactéries ayant poussées sur la gélose nutritive ou Aloa.

A l'aide d'une pipette pasteur, une colonie est repiquée et mise en suspension dans de l'eau physiologique stérile, la suspension est homogénéisée et le calcul de la densité est réalisé en utilisant un densitomètre (Densi check, bioMérieux).

Les suspensions préparées doivent être utilisées dans l'immédiat afin d'éviter la modification de la charge bactérienne suite à la croissance des bactéries.

I.3.4. Préparation des solutions de propolis

Nous avons utilisé 2 types de propolis :

- Propolis glycolique.
- Propolis alcoolisée.

A partir de ces deux produits, plusieurs solutions ont été préparées :

- a. Propolis glycolique concentrée (produit tel qu'il est commercialisé) :** à partir du flacon du produit, 10 ml sont transvasés dans un tube à essai. La propolis sera testé tel quel et représentera la forme concentré du produit.
- b. Propolis glycolique diluée au ½ :** 10 ml du même produit sont transvasés dans un deuxième tube à essai. On rajoute à la propolis 5 ml d'eau physiologique stérile afin d'obtenir une solution diluée au ½.
- c. Propolis alcoolisée :** à partir du produit commercialisé, trois solutions sont préparées :
 - c.1. Propolis alcoolisée concentrée (produit tel qu'il est commercialisé) :** à partir du flacon du produit, 10 ml sont transvasés dans un tube à essai. La propolis sera testé tel quel et représentera la forme concentré du produit.
 - c.2. Propolis alcoolisée diluée au ½ :** 10 ml du produit sont transvasés dans un tube à essai. On rajoute à la propolis 5 ml d'eau physiologique stérile afin d'obtenir une solution diluée au ½.
 - c.3. Propolis alcoolisée après évaporation de l'alcool :** Afin d'estimer l'impact de l'utilisation de l'alcool comme excipient, nous avons utilisé le produit après avoir réalisé l'opération de l'évaporation de l'alcool. 10 ml de la propolis alcoolisée sont mis dans un tube. Ce dernier est introduit dans un bain marie à agitation. L'évaporation totale de l'alcool s'est faite au bout de 3 heures de temps. La propolis ainsi obtenue est sans alcool (**figure 17**).



Figure 17 : Solutions de propolis préparées.

I.3.5. Etude de la sensibilité des bactéries à la propolis

L'étude de la sensibilité des bactéries aux différentes solutions de propolis est réalisée en appliquant le protocole suivant :

I.3.5.1. Principe

La méthode de diffusion en milieu gélosé a été appliquée suivant la norme NF U47-107. Elle est basée sur l'observation de la croissance bactérienne en présence d'un gradient de concentration d'un produit antibactérien obtenu par diffusion des disques déposés sur le milieu gélosé.

I.3.2.2. Milieu utilisé

La gélose Mueller Hinton (MH) est coulé dans des boîtes de Pétri avec une épaisseur de 4 mm.

I.3.2.3. Technique utilisée

I.3.2.3.1. Principe de la méthode de Kirby-Bauer

La méthode de Kirby-Bauer repose sur la diffusion, à travers un gel de gélose, de substances antimicrobiennes imprégnées sur des disques de papiers. Contrairement à d'autres méthodes qui utilisent des disques à concentrations élevées et faibles en antimicrobiens, et la présence ou l'absence des zones d'inhibition pour leur interprétation, cette méthode emploie des disques comportant une concentration unique d'agents antimicrobiens. Le diamètre de la zone d'inhibition déterminera après incubation le degré d'inhibition de l'agent antibactérien.

I.3.2.3.2. Ensemencement

L'ensemencement des bactéries contenues dans les suspensions préparées à 0,5 Mac Farland se fait sur le milieu MH. Un écouvillon stérile est introduit dans les tubes contenant les suspensions bactériennes. L'écouvillon est par la suite essoré sur la paroi du tube afin d'éliminer le surplus. Il est enfin déchargé sur le milieu de culture, un ensemencement en stries serrés est réalisé sur la première partie de la boîte. Cette dernière est tournée à deux reprises en respectant un angle de rotation de 60°.

Cette technique permet d'avoir un tapis bactérien. L'observation par la suite d'une éventuelle inhibition de la multiplication bactérienne par l'agent antibactérien testé peut être observée.

I.3.2.3.3. Application des disques et incubation

A l'aide d'une pince stérile, les disques sont imbibés des différentes solutions de propolis préparées. Ils sont par la suite placés à la surface de la gélose à une distance de 3cm les uns des autres. 5 disques correspondant aux 5 solutions préparées sont donc déposés. Les boîtes sont incubées à 37°C pendant 16 heures.

I.3.2.3.4. Lecture

Pour la lecture, nous nous sommes inspirés de la méthode décrite par Wandja et *al* (2020) [55] avec une adaptation des valeurs critiques aux conditions de l'étude.

Après 16 heures d'incubation, les rayons sont mesurés à partir du centre du disque jusqu'au bord externe de la zone d'inhibition(en millimètres) à l'aide d'un pied à coulisse ; puis comparés aux valeurs critiques.

Les solutions testées sont classées par la suite en :

- Faiblement inhibitrices si le rayon (R) d'inhibition est $0 \leq R \leq 8,5$ mm.
- Moyennement inhibitrices si le rayon (R) d'inhibition est $8,5 < R \leq 12,5$ mm.
- Forte inhibitrices si le rayon (R) d'inhibition est $12,5 < R \leq 17,5$ mm.
- Très forte inhibitrices si le rayon (R) d'inhibition est $R > 17,5$ mm.

I.4. Analyse statistique

L'analyse statistique a été réalisée à l'aide du logiciel XLStat 2018 pour Windows dans le but de comparer entre les différentes valeurs des rayons observées lors de l'utilisation de chaque solution de propolis.

La différence entre les valeurs comparées est significative si $p \leq 0,05$.

II.1.Résultats

II.1.1.Revivification des bactéries

Toutes les bactéries revivifiées ont poussées sur les différents milieux ensemencés. Des colonies caractéristiques ont été obtenues pour chaque espèce bactérienne (figures 18,19,20) : *Listeria monocytogenes*, les colonies sont vertes entourées d'un halo transparent ; *Staphylococcus aureus*, les colonies sont grandes d'environ 1 mm de diamètre, rondes, régulières, bombées, lisses et brillantes, de couleur crème; *Escherchia coli*, les colonies sont de forme circulaire, de taille irrégulière, de couleur blanc-opaque.



Figure 18 : Aspect des colonies de *S.aureus* sur gélose nutritive.



Figure 19 : Aspect des colonies de *E.coli* sur gélose nutritive.

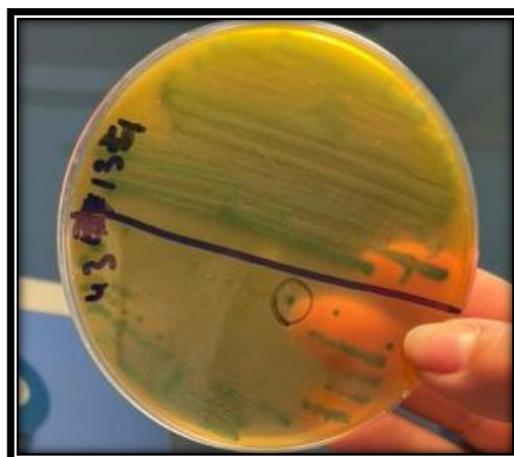


Figure 20 : Aspect des colonies de *L.monocytogenes* sur le milieu ALOA.

II.1.2. Etude de la sensibilité des bactéries à la propolis

Les résultats obtenus sont représentés dans le **Tableau 2** et la **figure 21**.

Tableau 2 : Diamètres des zones d'inhibition des isolats d'*E.coli*, *S.aureus* et *L.monocytogenes* vis-à-vis des solutions de propolis testées.

Isolats	Diamètres en mm				
	PG	PG ½	PA	PA ½	Pas
EC1	0	0	0	0	0
EC2	0	0	0	0	0
EC3	0	0	0	0	0
EC4	0	0	0	0	0
ST1	0	8	19	9	12
ST2	0	9	20	9	10
ST3	8	0	19	9	11
LM1	8	9	15	14	13
LM2	0	9	12	11	10
LM3	0	9	15	14	12
LM4	0	8	12	12	11
LM5	8	8	12	11	11
LM6	8	9	13	11	10
LM7	11	9	13	12	13
LM8	0	9	16	15	15
LM9	0	8	12	9	10
LM10	11	10	12	11	14
LM11	8	0	10	9	8
LM12	0	0	9	8	10
LM13	10	8	12	10	9
LM14	0	0	12	10	9
LM15	8	0	11	10	9
LM16	8	0	12	11	13

PG ½ : propolis glycolique diluée au ½ , PG : propolis glycolique concentrée,

PAS : propolis sans alcool ,PA ½ : propolis alcoolisée diluée au ½ ,

PA : propolis alcoolisée concentrée ,LM : *L.monocytogenes*, ST: *S.aureus*,

EC : *E.coli* .

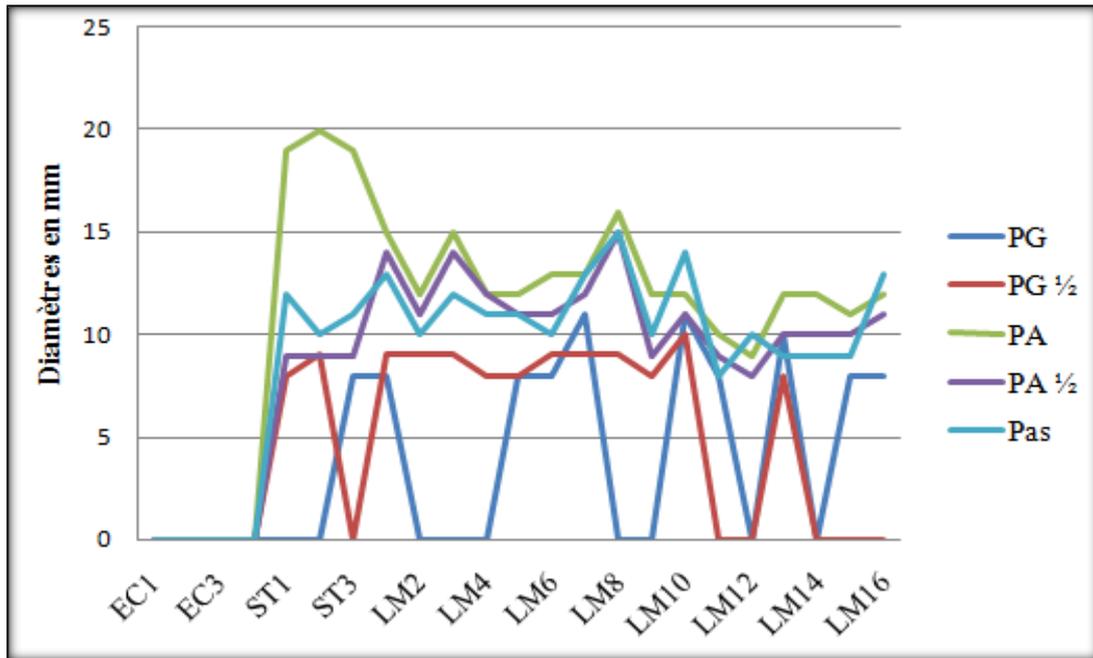


Figure 21 : Variation des diamètres d’inhibition des isolats d’*E.coli* ; *S.aureus* et *L.monocytogenes* vis-à-vis des solutions de propolis testées.

II.1.2.1. *Escherichia coli*

Les résultats des tests de sensibilité aux différentes solutions de propolis testées sont représentés dans le **Tableau 3**, la **figure 22** et la **figure 23**.

Les résultats montrent une absence totale de zones d’inhibition.

Tableau 3 : Rayons des zones d’inhibition des isolats de *E.coli* vis-à-vis des solutions de propolis testées.

Isolats	Rayons en mm				
	PG	PG 1/2	PA	PA 1/2	Pas
EC1	0	0	0	0	0
EC2	0	0	0	0	0
EC3	0	0	0	0	0
EC4	0	0	0	0	0

PG 1/2 : propolis glycolique diluée au 1/2 ,PG : propolis glycolique concentrée , PAS : propolis sans alcool, PA 1/2 : propolis alcoolisée diluée au 1/2 ,PA :propolis alcoolisée concentrée , LM : *L.monocytogenes* , ST : *S.aureus* , EC : *E.coli* .

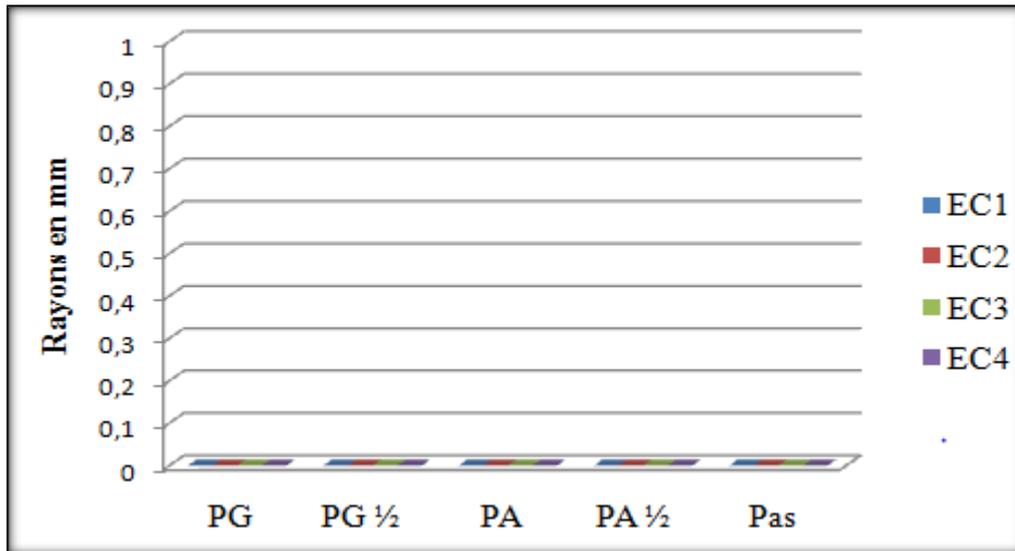


Figure 22 : Variation des rayons des zones d'inhibition des isolats de *E.coli* vis-à-vis des solutions de propolis testées.



Figure 23: Résultat des tests d'inhibition d'*E. coli* en utilisant les différentes solutions de propolis.

II.1.2.2. *Listeria monocytogenes*

Les résultats des tests de sensibilité aux différentes solutions de propolis testées sont représentés dans le **Tableau 4**, la **figure 24** et la **figure 25**.

Les résultats montrent que les isolats de *L.monocytogenes* ont généré l'apparition de zones d'inhibitions avec un rayon de 4 à 7,5mm.

Les profils des bactéries n'ayant pas généré de zones d'inhibition sont les suivants : (PG), (PG 1/2, PG), (PG 1/2) ; le profil le plus commun étant : (PG).

Tableau 4 : Rayons des zones d'inhibition des isolats de *L.monocytogenes* vis-à-vis des solutions de propolis testées.

Isolats	Diamètres en mm				
	PG	PG ½	PA	PA ½	Pas
LM1	4	5,5	7,5	7	6,5
LM2	0	5,5	6	5,5	5
LM3	0	5,5	7,5	7	6
LM4	0	4	6	6	5,5
LM5	4	4	6	5,5	5,5
LM6	4	5,5	6,5	5,5	5
LM7	5,5	5,5	6,5	6	6,5
LM8	0	5,5	8	7,5	7,5
LM9	0	4	6	5,5	5
LM10	5,5	5	6	5,5	7
LM11	4	0	5	4,5	4
LM12	0	0	5,5	4	5
LM13	5	4	6	5	4,5
LM14	0	0	6	5	4,5
LM15	4	0	5,5	5	4,5
LM16	4	0	6	5,5	6,5

PG ½ :propolis glycolique diluéeau ½ , **PG** : propolis glycolique concentrée ,

PAS : propolis sans alcool, **PA ½** : propolis alcoolisée diluée au ½ ,**PA** : propolis alcoolisée,

LM :*L.monocytogenes* , **ST** : *S.aureus* , **EC** : *E.coli*

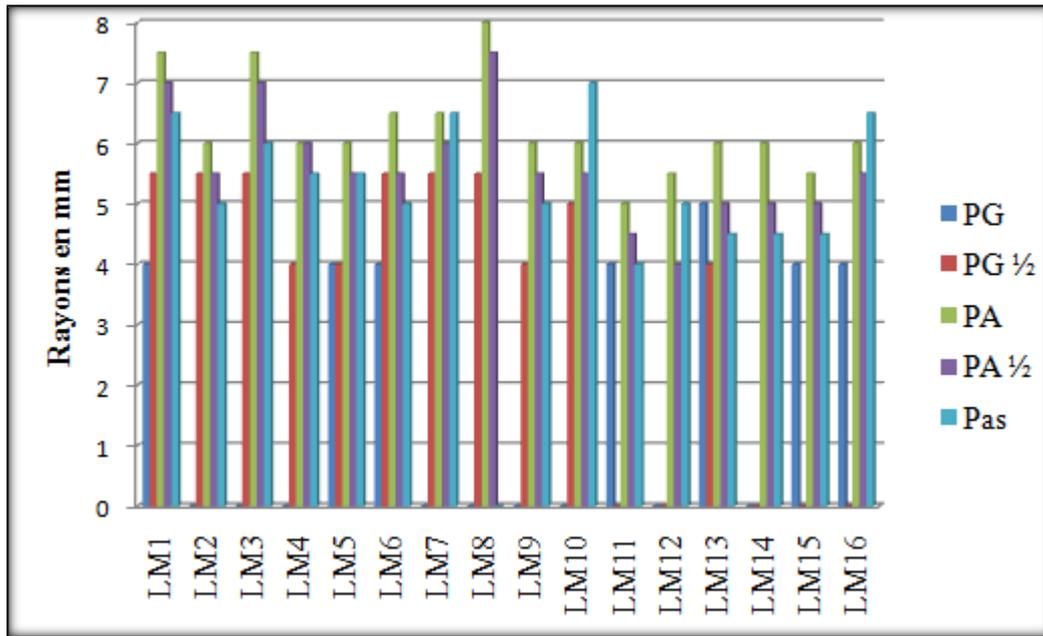


Figure 24 : Variation des rayons des zones d’inhibition des isolats de *L.monocytogenes* vis-à-vis des solutions de propolis testées.

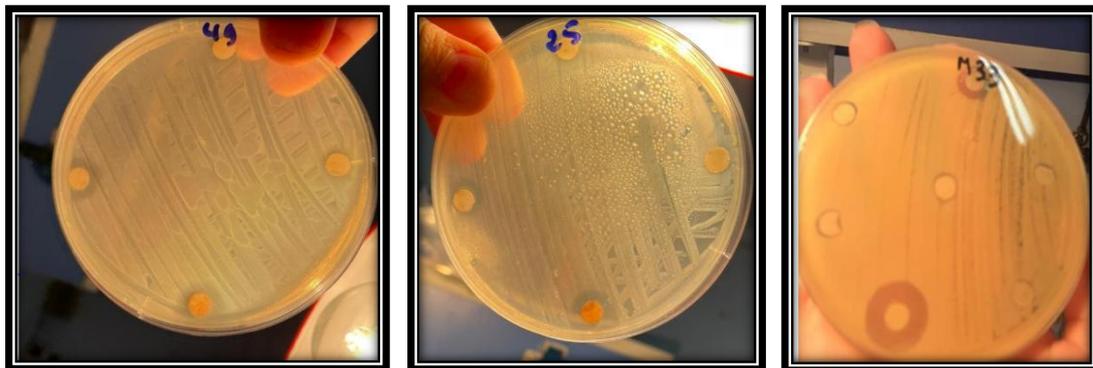


Figure 25 : résultats des tests d’inhibition de *L.monocytogenes* en utilisant les différentes solutions de propolis.

II.1.2.3. *Staphylococcus aureus*

Les résultats des tests de sensibilité aux différentes solutions de propolis testées sont représentés dans le **Tableau 5**, la **figure 26** et la **figure 27**.

Les résultats montrent que les isolats de *S.aureus* ont généré l’apparition de zones d’inhibitions avec des rayons 4 à10 mm.

Les profils des bactéries n’ayant pas généré de zones d’inhibition sont les suivants: **(PG,PG 1/2)**. Nous avons remarqué que le profile le plus commun est : **(PG)**.

Tableau 5 : Rayons des zones d'inhibition des isolats de *S.aureus* vis-à-vis des solutions de propolis testées.

Isolats	Rayons en mm				
	PG	PG ½	PA	PA ½	Pas
ST1	0	4	9,5	4,5	6
ST2	0	4,5	10	4,5	5
ST3	4	0	9,5	4,5	5,5

PG ½ : propolis glycolique diluée au ½ ,PG : : propolis glycolique concentrée ,

PAS : propolis sans alcool,PA ½ :propolis alcoolisée diluée au ½ ,PA : propolis alcoolisée concentrée,ST : *S.aureus*,LM : *L.monocytogenes*,EC :*E.coli* .

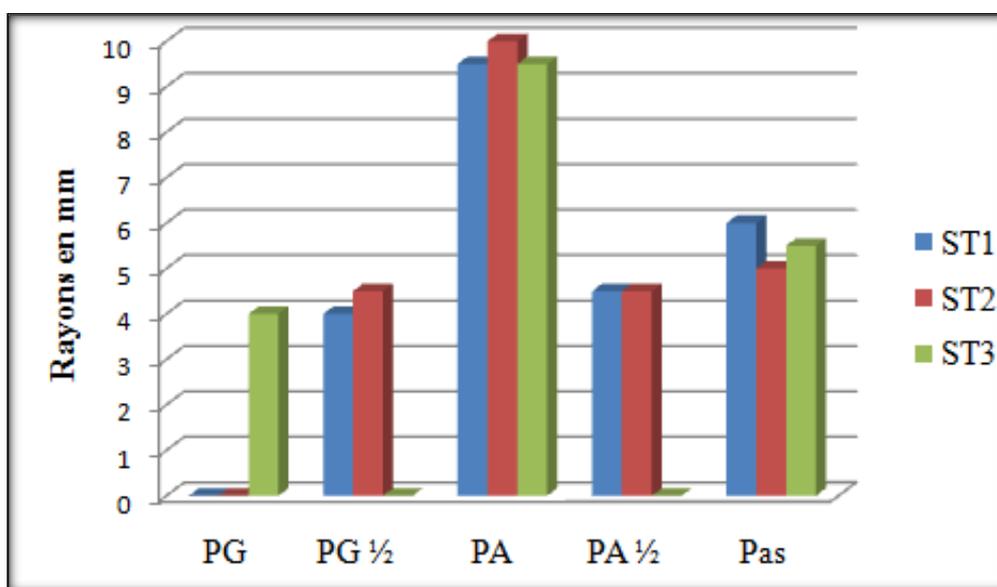


Figure 26 : Variation des rayons des zones d'inhibition des isolats de *S.aureus* vis-à-vis des solutions de propolis testées.

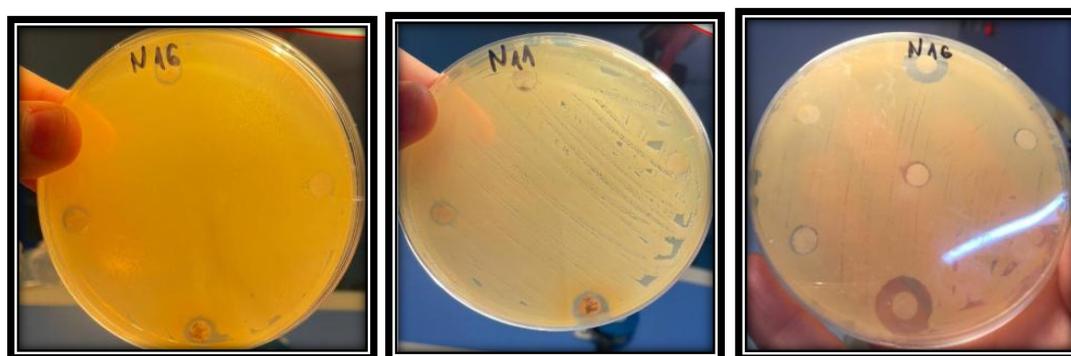


Figure 27: résultats des tests d'inhibition de *S.aureus* en utilisant les différentes solutions de propolis.

II.1.3. Etude de l'effet inhibiteur de solutions de propolis testées

II.1.3.1. propolis glycolique concentrée

II.1.3.1.1. *Escherichia coli*

Les résultats de l'effet inhibiteur sont représentés dans le **Tableau 6** et la **figure 28**.

Tableau 6: rayons des zones d'inhibition des isolats d' *E.coli* vis-à-vis la PG.

Isolats	Rayons de la zone d'inhibition (mm)
EC1	0
EC2	0
EC3	0
EC4	0

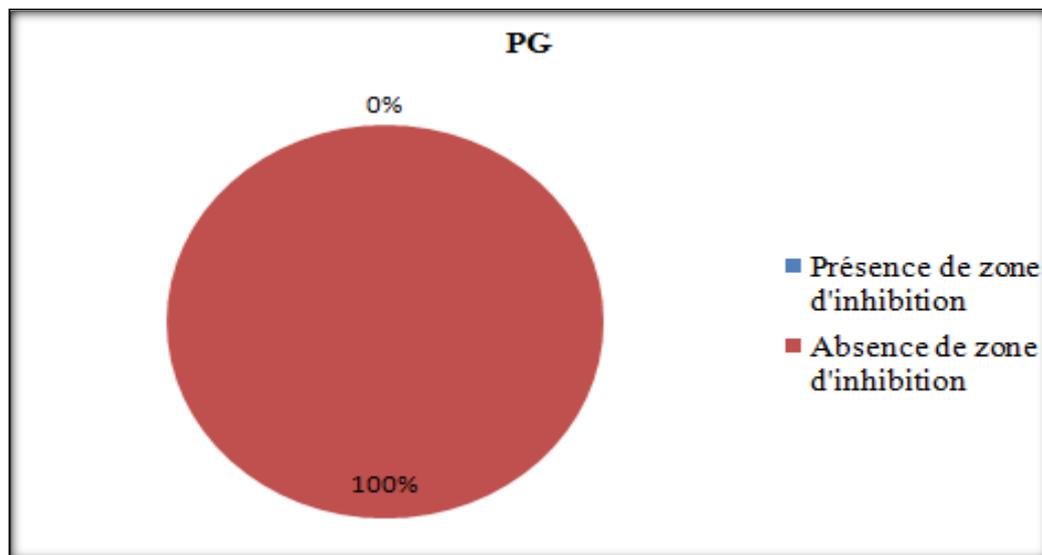


Figure 28 : Effet inhibiteur de la PG sur les isolats de *E .coli* .

Les résultats montrent que le pourcentage des isolats qui ont présenté une zone d'inhibition est de 0% . De ce fait, le pourcentage des isolats qui n'ont pas présenté de zones d'inhibition est de 100%.

II.1.3.1.2. *Listeria monocytogenes*

Les résultats de l'effet inhibiteur sont représentés dans le **Tableau 7** et la **figure 29**.

Tableau 7: rayons des zones d'inhibition des isolats de *L.monocytogenes* vis-à-vis la PG.

Isolats	Rayons de la zone d'inhibition (mm)
LM1	4

LM2	0
LM3	0
LM4	0
LM5	4
LM6	4
LM7	5,5
LM8	0
LM9	0
LM10	5,5
LM11	4
LM12	0
LM13	5
LM14	0
LM15	4
LM16	4

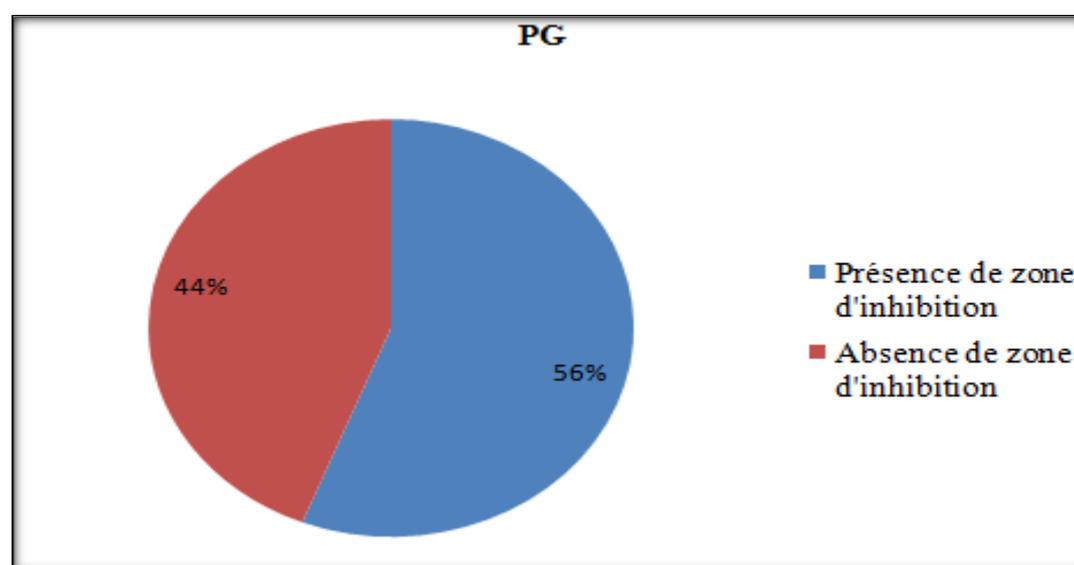


Figure 29 : Effet inhibiteur de la PG sur les isolats de *L.monocytogenes*.

Les résultats montrent que le pourcentage des isolats qui ont présenté une zone d'inhibition est de 56,25% et celui des isolats qui n'ont pas présenté de zone d'inhibition est de 43,75%.

II.1.3.1.3. *Staphylococcus aureus*

Les résultats de l'effet inhibiteur sont représentés dans le **Tableau 8** et la **figure 30**.

Tableau 8 : Rayons des zones d'inhibition des isolats de *S.aureus* vis-à-vis la PG.

Isolats	Rayons de la zone d'inhibition (mm)
ST1	0
ST2	0
ST3	4

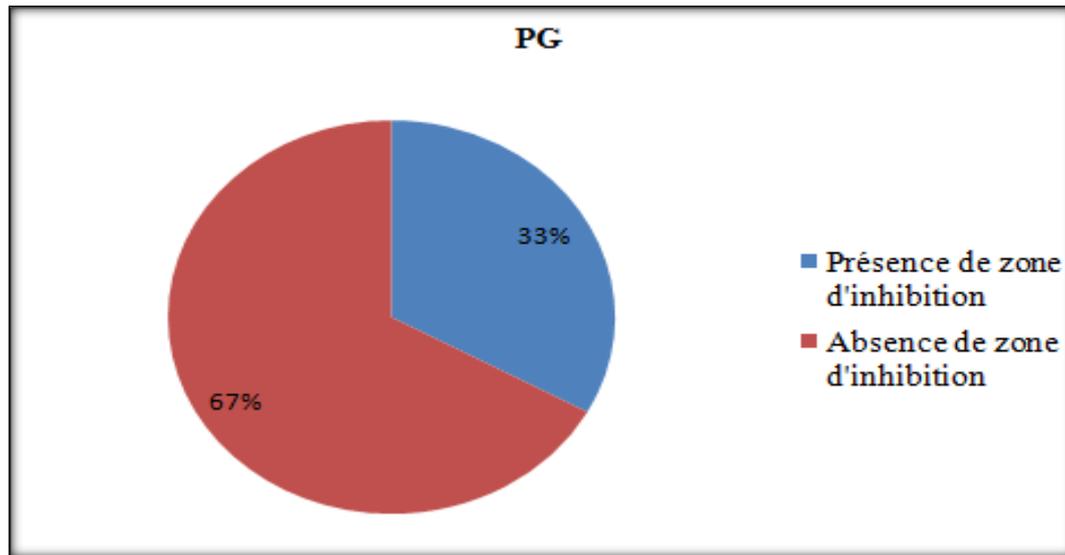


Figure 30 : Effet inhibiteur de la PG sur les isolats de *S.aureus*.

Les résultats montrent que le pourcentage des isolats qui ont présenté une zone d'inhibition est de 33,33% et celui des isolats qui n'ont pas présenté de zones d'inhibition est de 66,67%.

II.1.3.2. Propolis glycolique diluée au 1/2

II.1.3.2.1. *Escherichia coli*

Les résultats de l'effet inhibiteur sont représentés dans le **Tableau 9** et la **figure 31**.

Tableau 9 : Rayons des zones d'inhibition des isolats de *E.coli* vis-à-vis la PG^{1/2}.

Isolats	Rayons de la zone d'inhibition (mm)
EC1	0
EC2	0
EC3	0

EC4	0
-----	---

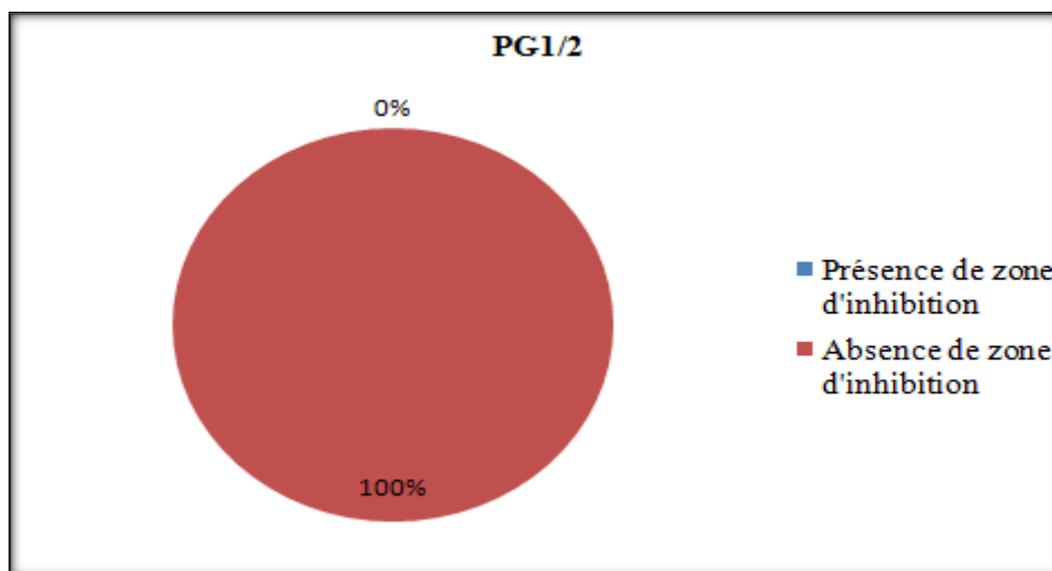


Figure 31 : Effet inhibiteur de la PG $\frac{1}{2}$ sur les isolats de *E. coli* .

Les résultats montrent que le pourcentage des isolats qui ont présenté une zone d'inhibition est de 0%. De ce fait, le pourcentage des isolats qui n'ont pas présenté de zone d'inhibition est de 100%.

II.1.3.2.2. *Listeria monocytogenes*

Les résultats de l'effet inhibiteur sont représentés dans le **Tableau 10** et la **figure 32**.

Tableau10 : rayons des zones d'inhibition des isolats de *L.monocytogenes* vis-à-vis la PG $\frac{1}{2}$.

Isolats	Rayons de la zone d'inhibition (mm)
LM1	4,5
LM2	4,5
LM3	4,5
LM4	4
LM5	4
LM6	4,5
LM7	4,5
LM8	4,5
LM9	4

LM10	5
LM11	0
LM12	0
LM13	4
LM14	0
LM15	0
LM16	0

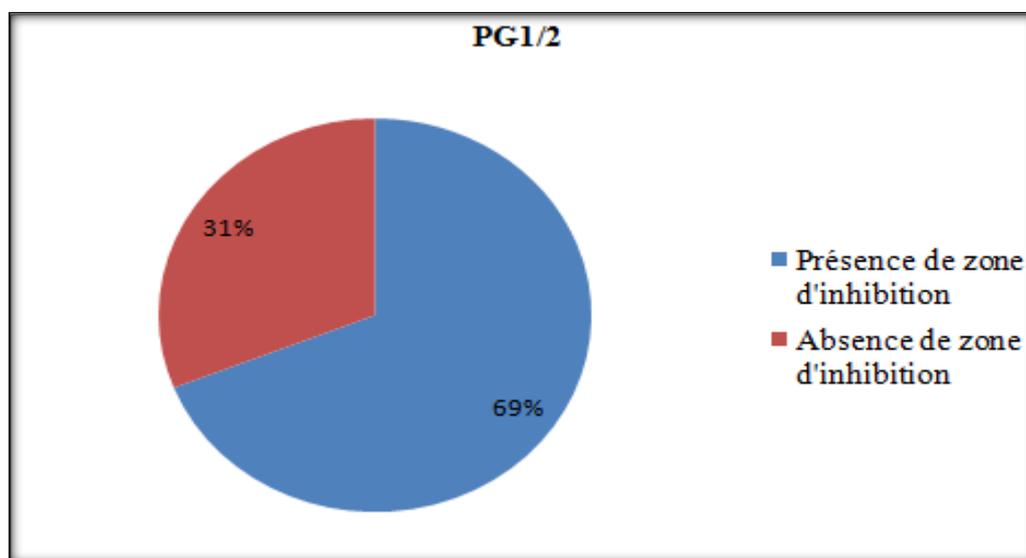


Figure 32 : Effet inhibiteur de la PG $\frac{1}{2}$ sur les isolats de *L.monocytogenes*.

Les résultats montrent que le pourcentage des isolats qui ont présenté une zone d'inhibition est de 68,75% et ceux qui n'ont pas présenté de zone d'inhibition est de 31,25%.

II.1.3.2.3. *Staphylococcus aureus*

Les résultats de l'effet inhibiteur sont représentés dans le **Tableau 11** et la **figure 33**.

Tableau 11 : rayons des zones d'inhibition des isolats de *S. aureus* vis-à-vis la PG $\frac{1}{2}$

Isolats	Rayons de la zone d'inhibition (mm)
ST1	4
ST2	4,5
ST3	0

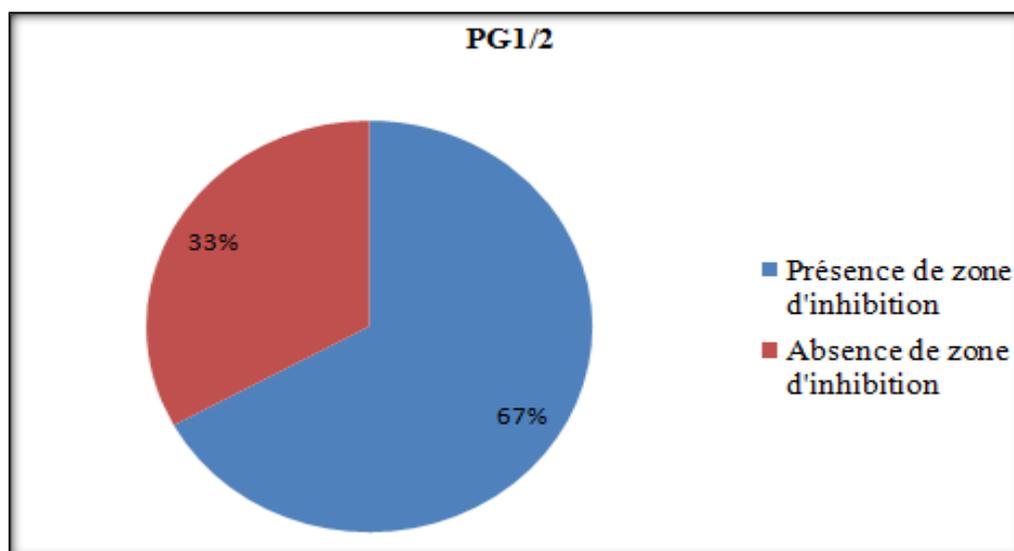


Figure 33 : Effet inhibiteur de la PG $\frac{1}{2}$ sur les isolats de *S.aureus*.

Les résultats montrent que le pourcentage des isolats qui ont présenté une zone d'inhibition est de 66.67% et ceux qui n'ont pas présenté de zones d'inhibition est de 33,33%.

II.1.3.3. Propolis alcoolisée concentré

II.1.3.3.1. *Escherichia coli*

Les résultats de l'effet inhibiteur sont représentés dans le **Tableau 12** et la **figure 34**.

Tableau 12 : Rayons des zones d'inhibition des isolats d'*E.coli* vis-à-vis PA.

Isolats	Rayons de la zone d'inhibition (mm)
EC1	0
EC2	0
EC3	0
EC4	0

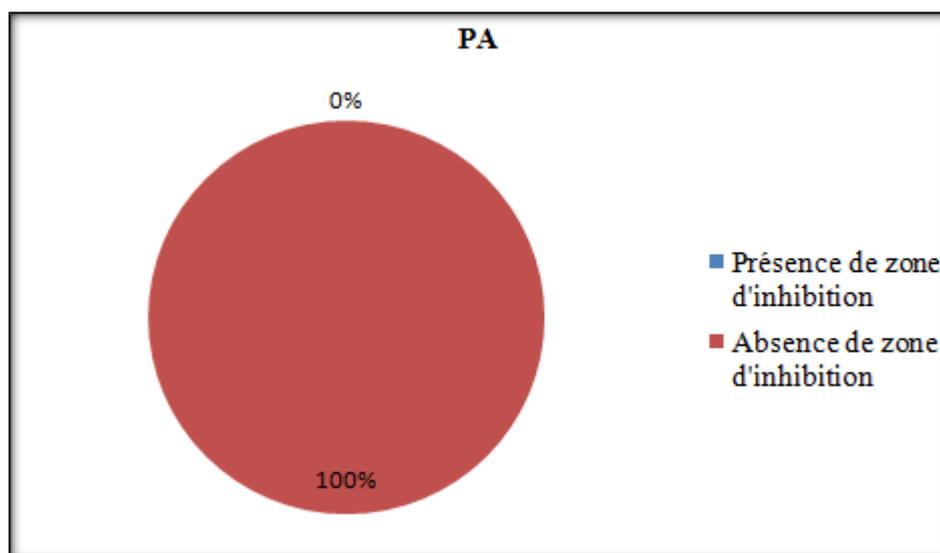


Figure 34 : Effet inhibiteur de la PA sur les isolats de *E.coli* .

Les résultats montrent que le pourcentage des isolats qui ont présenté une zone d'inhibition est de 0% . De ce fait, le pourcentage des isolats qui n'ont pas présenté de zones d'inhibition est de 100%.

II.1.3.3.2. *Listeria monocytogenes*

Les résultats de l'effet inhibiteur sont représentés dans le **Tableau 13** et la **figure 35**.

Tableau 13 : rayons des zones d'inhibition des isolats de *L.Monocytogenes* vis-à-vis la PA.

Isolats	Rayons de la zone d'inhibition (mm)
LM1	7,5
LM2	6
LM3	7,5
LM4	6
LM5	6
LM6	6,5
LM7	6,5
LM8	8
LM9	6
LM10	6
LM11	5
LM12	5,5

LM13	6
LM14	6
LM15	5,5
LM16	6

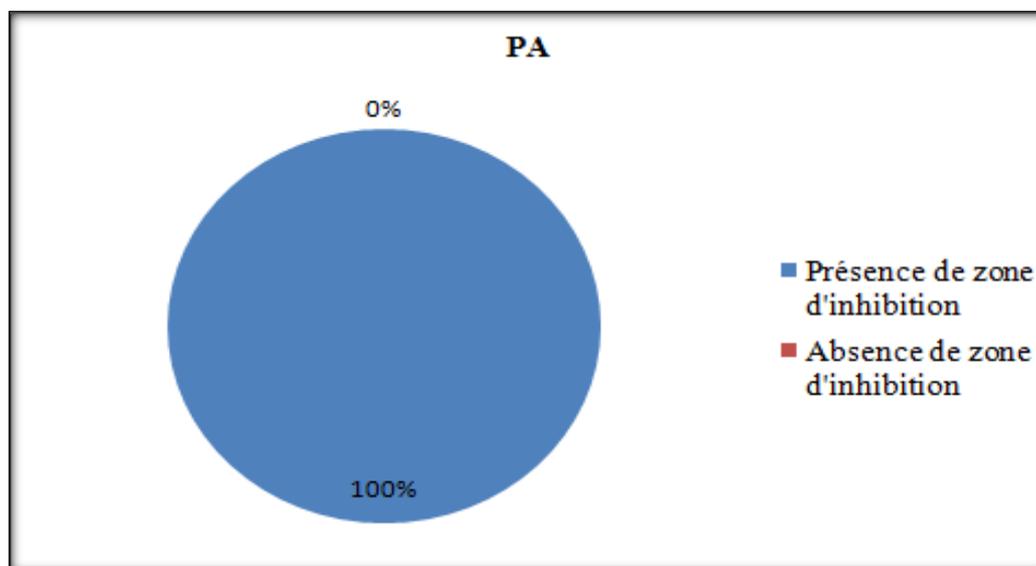


Figure 35 : Effet inhibiteur de la PA sur les isolats de *L.Monocytogenes*.

Les résultats montrent que le pourcentage des isolats qui ont présenté une zone d'inhibition est de 100%. De ce fait, le pourcentage des isolats qui n'ont pas présenté de zone d'inhibition est de 0%.

II.1.3.3.3. *Staphylococcus aureus*

Les résultats de l'effet inhibiteur sont représentés dans le **Tableau 14** et la **figure 36**.

Tableau 14 : Rayons des zones d'inhibition des isolats de *S.aureus* vis-à-vis la PA ½.

Isolats	Rayons de la zone d'inhibition (mm)
ST1	9,5
ST2	10
ST3	9,5

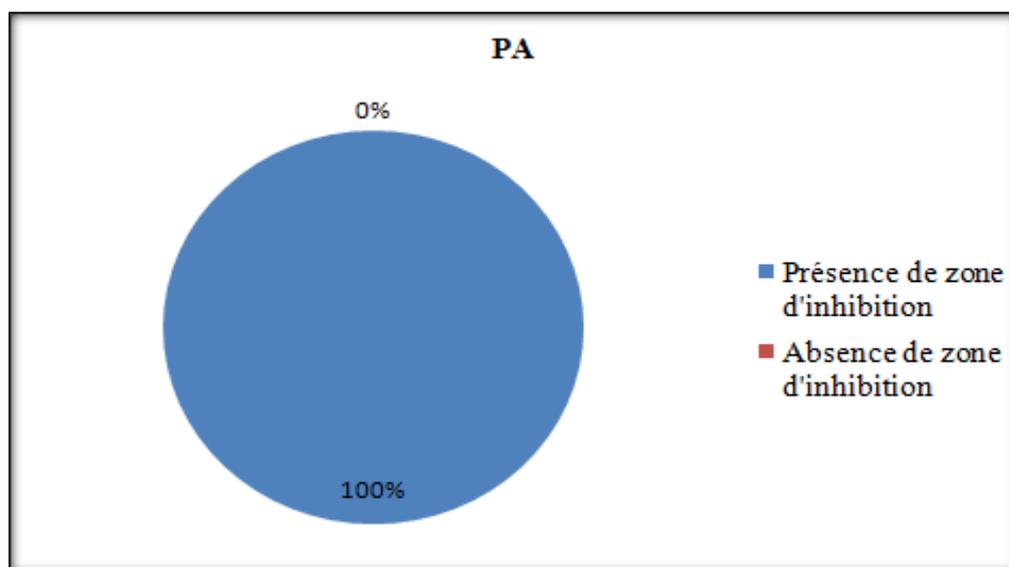


Figure 36 : Effet inhibiteur de la PA sur les isolats de *S.aureus*.

Les résultats montrent que le pourcentage des isolats qui ont présenté une zone d'inhibition est de 100%. De ce fait, le pourcentage des isolats qui n'ont pas présenté de zone d'inhibition est de 0%.

II.1.3.4. propolis alcoolisée diluée au 1/2

II.1.3.4.1. *Escherichia coli*

Les résultats de l'effet inhibiteur sont représentés dans le **Tableau 15** et la **figure 37**.

Tableau 15 : Rayons des zones d'inhibition des isolats d'*E.coli* vis-à-vis PA^{1/2}.

Isolats	Rayons de la zone d'inhibition (mm)
EC1	0
EC2	0
EC3	0
EC4	0

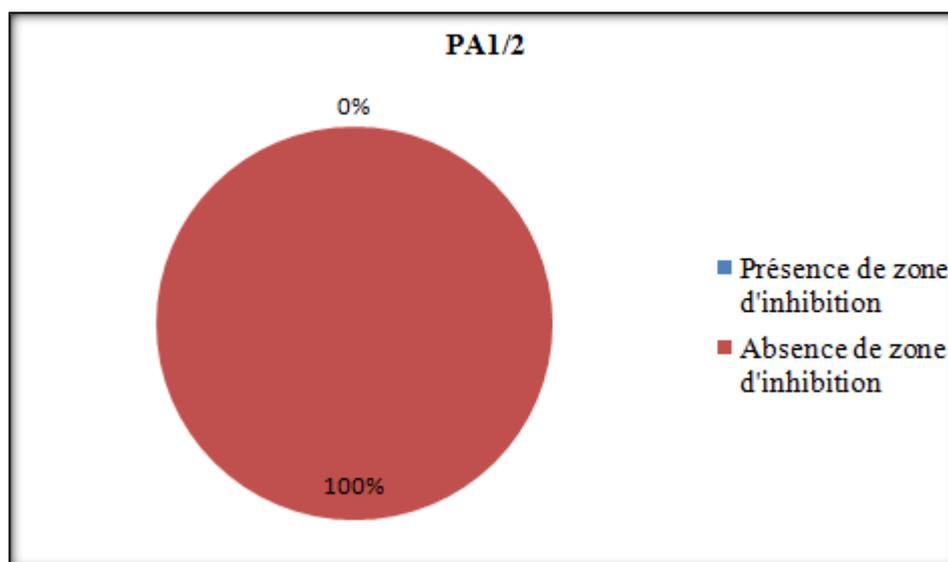


Figure 37 : Effet inhibiteur de la PA $\frac{1}{2}$ sur les isolats d'*E.coli* .

Les résultats montrent que le pourcentage des isolats qui ont présenté une zone d'inhibition est de 0% . De ce fait, le pourcentage des isolats qui n'ont pas présenté de zones d'inhibition est de 100%.

II.1.3.4.2. *Listeria monocytogenes*

Les résultats de l'effet inhibiteur sont représentés dans le **Tableau 16** et la **figure 38**.

Tableau 16: Rayons des zones d'inhibition des isolats de *L.Monocytogenes* vis-à-vis la PA $\frac{1}{2}$.

Isolats	Rayons de la zone d'inhibition (mm)
LM1	7
LM2	5,5
LM3	7
LM4	6
LM5	5,5
LM6	5,5
LM7	6
LM8	7,5
LM9	4,5
LM10	5,5
LM11	4,5

LM12	4
LM13	5
LM14	5
LM15	5
LM16	5,5

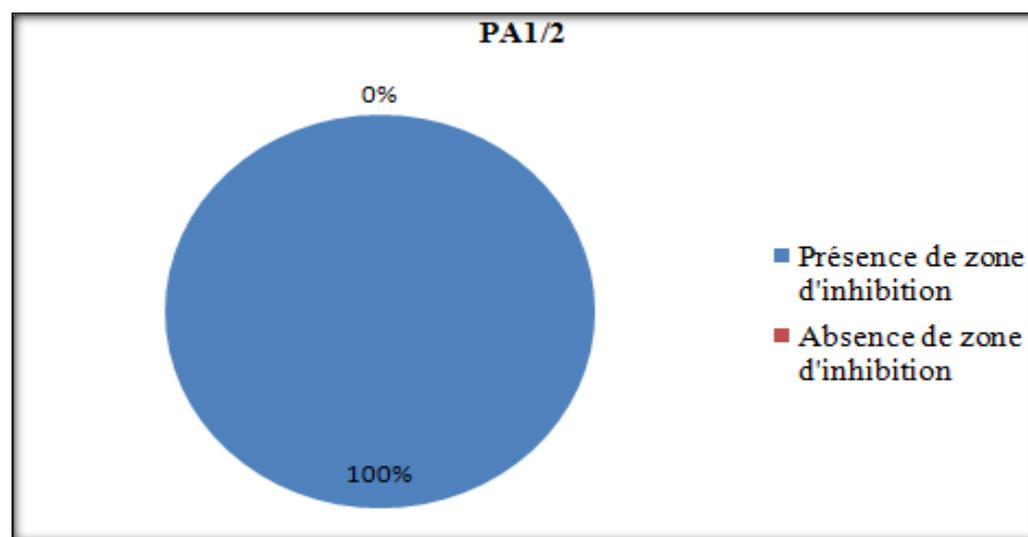


Figure 38 : Effet inhibiteur de la PA 1/2 sur les isolats de *L.Monocytogenes*.

Les résultats montrent que le pourcentage des isolats qui ont présenté une zone d'inhibition est de 100%. De ce fait, le pourcentage des isolats qui n'ont pas présenté de zone d'inhibition est de 0%.

II.1.3.4.3. *Staphylococcus aureus*

Les résultats de l'effet inhibiteur sont représentés dans le **Tableau 17** et la **figure 39**.

Tableau 17 : Rayons des zones d'inhibition des isolats de *S.aureus* vis-à-vis la PA 1/2.

Isolats	Rayons de la zone d'inhibition (mm)
ST1	4,5
ST2	4,5
ST3	4,5

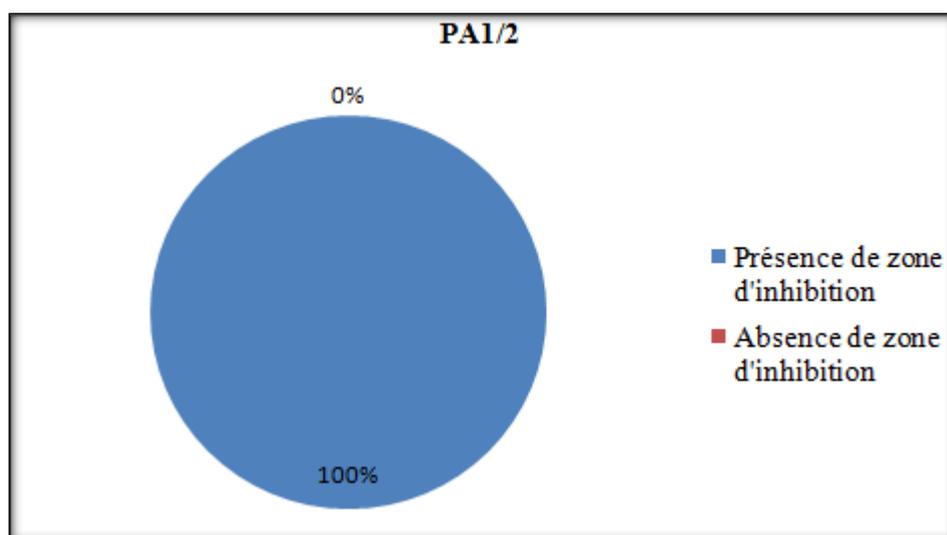


Figure 39 : Effet inhibiteur de la PA $\frac{1}{2}$ sur les isolats de *S.aureus*.

Les résultats montrent que le pourcentage des isolats qui ont présenté une zone d'inhibition est de 100%. De ce fait, le pourcentage des isolats qui n'ont pas présenté de zone d'inhibition est de 0%.

II.1.3.5. Propolis alcoolisée après évaporation de l'alcool

II.1.3.5.1. *Escherichia coli*

Les résultats de l'effet inhibiteur sont représentés dans le **Tableau 18** et la **figure 40**.

Tableau 18: Rayons des zones d'inhibition de isolat de *E.coli* vis-à-vis la **Pas**.

Isolats	Rayons de la zone d'inhibition (mm)
EC1	0
EC2	0
EC3	0
EC4	0

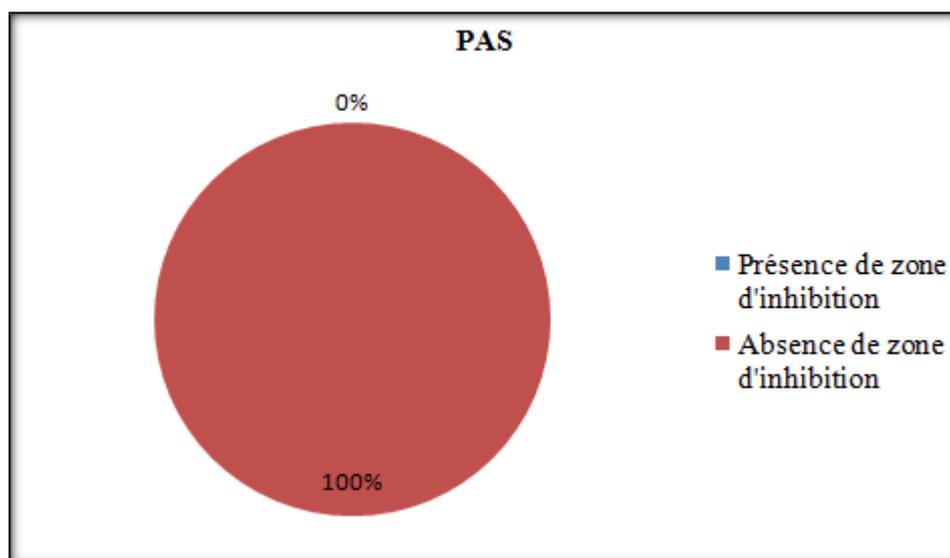


Figure 40 : Effet inhibiteur de la Pas sur les isolats de *E.coli* .

Les résultats montrent que le pourcentage des isolats qui ont présenté une zone d'inhibition est de 0%. Par conséquent, ceux qui n'ont pas présenté de zones d'inhibition est de 100%.

II.1.3.5.2. *Listeria monocytogenes*

Les résultats de l'effet inhibiteur sont représentés dans le **Tableau 19** et la **figure 41**.

Tableau 19 : Rayons des zones d'inhibition des isolats de *L. monocytogenes* vis-à-vis la Pas.

Isolats	Rayons de la zone d'inhibition (mm)
LM1	6,5
LM2	5
LM3	6 ,5
LM4	5,5
LM5	5,5
LM6	5
LM7	6,5
LM8	7,5
LM9	5
LM10	7
LM11	4
LM12	5
LM13	4,5

LM14	4,5
LM15	4,5
LM16	6,5

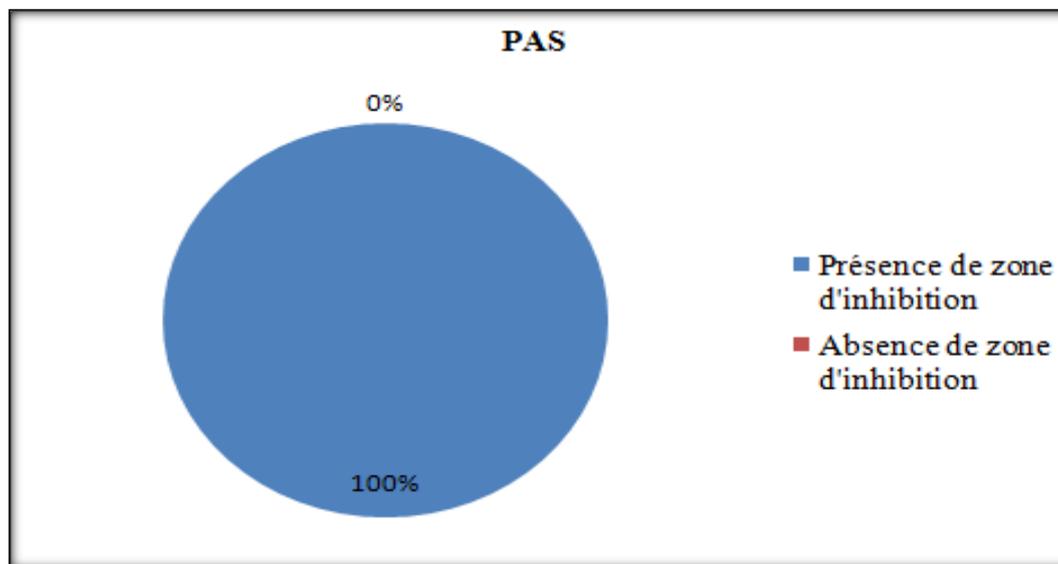


Figure 41 : Effet inhibiteur de la Pas sur les isolats de *L.monocytogenes*.

Les résultats montre que le pourcentage des isolats qui ont présenté une zone d'inhibition est de 100% par conséquent qui ne présenté pas une zone d'inhibition est de 0%.

II.1.3.5.3. *Staphylococcus aureus*

Les résultats de l'effet inhibiteur sont représentés dans le **Tableau 20** et la **figure 42**.

Tableau 20: Rayons des zones d'inhibition des isolats de *S.aureus* vis-à-vis la Pas.

Isolats	Rayons de la zone d'inhibition (mm)
ST1	6
ST2	5
ST3	5,5

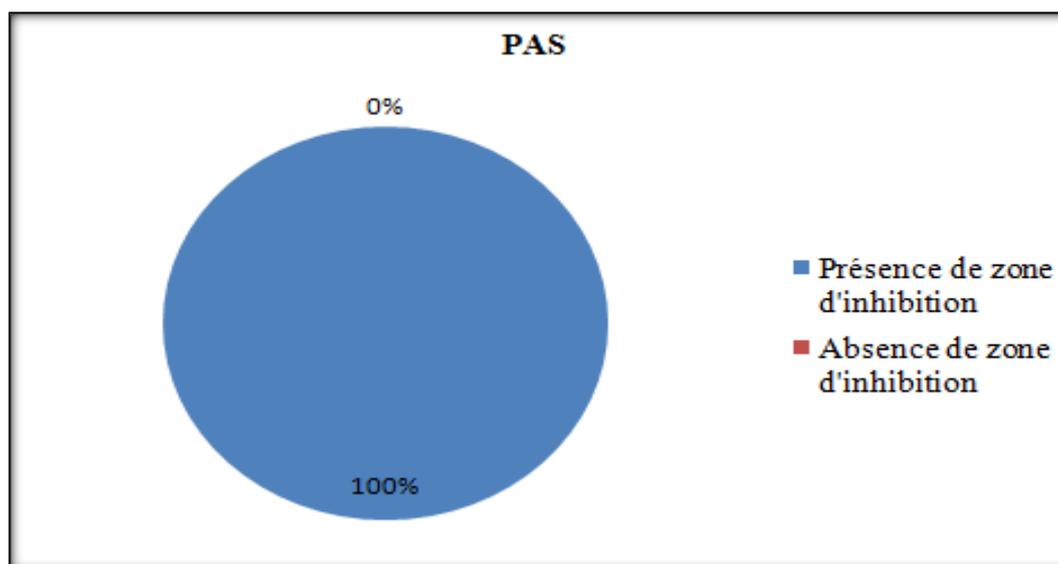


Figure 42 : Effet inhibiteur de la Pas sur les isolats de *S.aureus*.

Les résultats montrent que le pourcentage des isolats qui ont présenté une zone d'inhibition est de 100%. De ce fait, le pourcentage des isolats qui n'ont pas présenté de zone d'inhibition est de 0%.

II.2. Discussion**II.2.1. Revivification des bactéries**

Les résultats de la revivification des bactéries montrent qu'elles sont pures et exemptes de toute contamination, attestant d'une maîtrise des techniques de conservation des isolats et du respect des bonnes pratiques de laboratoire.

L'utilisation de milieux sélectifs et spécifiques (tel que les milieux chromogènes) est souhaité lors de la revivification des isolats conservés afin de s'assurer de l'utilisation des espèces bactériennes sélectionnées pour l'étude.

L'utilisation de milieux non spécifiques est possible à condition d'avoir une maîtrise totale de l'aspect des colonies sur ces dernier afin de réaliser une lecture correcte des boite et d'éviter de travailler sur des éventuels contaminants.

II.2.2. Etude de la sensibilité des bactéries à la propolis

Lors de cette étude, trois types de solutions de propolis ont été testée sous leur forme commerciale concentrée (PG et PA), sous une forme diluée (PG ½ , PA ½) et en faisant évaporer l'excipient principale qui est l'alcool pour une des solutions (Pas).

Le choix s'est porté sur ces produits car ils sont disponibles dans le commerce et vendus -entre autre- pour leur éventuel effet antibactérien.

Nous avons choisi de travailler aussi sur ces solutions en faisant une dilution au demi afin de comparer l'effet inhibiteur de la propolis contenue dans ces produits à l'égard des bactéries étudiées par rapport aux produits concentrés et, de voir si nous pouvant préconisé la consommation de cette forme diluée afin d'avoir un meilleur rapport qualité/prix.

Sachant que ces produits contiennent un excipient à base d'alcool, et que ce dernier peut être utilisé comme agent antimicrobien, solvant ou autre, nous avons sélectionné un des deux produits, à savoir, la propolis alcoolisée, nous avons travaillé sur ce produit après avoir fait évaporé l'alcool qu'il contient (manipulation réalisée au laboratoire par une autre équipe de recherche) et nous avons testé son effet inhibiteur afin de pouvoir constater l'effet généré par la propolis seule sans être en synergie avec un autre antibactérien.

Les résultats ont montré que les effets inhibiteurs ont été différents en fonction de la nature du produit et de l'espèce bactérienne étudiée.

Plusieurs auteurs tel que Hegazi et *al* (2000) [57] ont confirmé que la propolis peut avoir des effets inhibiteurs qui varie en fonction de l'origine de la propolis, sa composition et l'espèce bactérienne.

Les isolats d'*Escherichia coli* n'ont pas été inhibés par aucune des solutions testées. Ce résultats nous laisse supposer que ces bactéries ne présentent pas de sensibilité vis-à-vis la propolis sous les formes testés.

Selon Tosi et *al* (2007) [58], l'effet bactéricide et/ou bactériostatique de la propolis à l'égard des souches d'*E.coli* diffère en fonction de la composition du produit ainsi que la concentration du principe actif au sein de la solution. Une augmentation de la concentration de la propolis active dans les produits peut générer un effet bactéricide ou, à concentration moindre, un effet bactériostatique. Cette constatation a aussi été rapportée par Rahman et *al* (2010) [59]. Ces derniers ont suggéré que la propolis peut avoir un effet inhibiteur contre *E.coli* si les concentrations minimales inhibitrices sont respectées.

Nos résultats se rapprochent aussi de ceux obtenus par Lavigne et *al* (2020) [60] qui ont constaté que la propolis avait un effet bactériostatique sur des *Escherichia coli* uro-pathogènes.

La sensibilité des isolats de *Listeria monocytogenes* variait d'une solution à une autre. Des zones d'inhibition ont été observées témoignant de la présence d'un effet inhibiteur de la propolis et de la sensibilité des *Listeria* étudiées. Ces résultats corroborent ceux de Thamnopoulos, et *al* (2018) [61]. Ces derniers ont constaté que la propolis avait un effet inhibiteur du développement de *Listeria monocytogenes*.

Les rayons des zones d'inhibition variaient entre 0 à 5,5 mm pour la PG et la PG ½, 5 à 8 mm pour la PA, 4 à 7,5 mm pour la PA ½ et la Pas.

Les solutions testées peuvent être par conséquent classées comme faiblement inhibitrices.

Nous avons constaté que certains isolats ont pu se développer en présence de la propolis, notamment la PG (07 isolats) et la PG ½ (05 isolats). Nous pouvons supposer que ces derniers sont éventuellement résistants à la propolis sous cette forme.

Pour les solutions PA, PA ½ et Pas, tous les isolats ont été plus au moins sensibles. Ce résultat nous laisse supposé que l'alcool utilisé comme excipient n'a pas été à l'origine d'une synergie avec la propolis et que l'activité inhibitrice est propre à cette dernière.

Concernant les dilutions effectuées, nous n'avons pas constaté de différence significative entre les valeurs de la PA et PA ½ observées ($p > 0,05$), la forme diluée a eu le même effet que celui de la solution pure. Cela est probablement dû à la composition chimique de l'excipient qui a permis à la solution de garder la même efficacité. Les valeurs obtenus en utilisant les solutions de PG et PG ½ ont été significativement différentes ($p \leq 0,05$). Certains isolats qui n'ont pas été inhibés par la solution concentrée de la PG, ont présenté des zones d'inhibition lors de l'utilisation de la PG ½. Cette différence peut être expliquée par la formation d'une émulsion (après l'ajout d'eau) avec la présence de particules ou des grains de tailles inférieures à celles présentes dans la forme concentrée du produit comme celles décrites par Perrin (1909) [62] en étudiant les mouvements brownien et les réalités moléculaires, particulièrement dans la partie : émulsions appropriées aux recherches. Cette forme a probablement facilité les phénomènes de diffusion du principe actif lui permettant ainsi d'exercer un effet inhibiteur sur les bactéries étudiées.

Les résultats que nous avons obtenus sont similaires à ceux obtenus par Todorov et al(2018) [66] qui ont constaté que la propolis avait un effet inhibiteur contre *Listeria monocytogenes* et que d'ordre général, l'efficacité de la propolis dépendait de sa composition chimique et de la bactérie étudiée.

Les isolats de *Staphylococcus aureus* sont présentés des zones d'inhibitions avec des rayons entre 0 et 10 mm. Ces résultats montrent que les différentes solutions de propolis ont eu un effet inhibiteur plus ou moins important sur les bactéries étudiées. Les solutions de PG et PG ½ étaient à l'origine d'un effet inhibiteur moindre par rapport à la PA et PAS ($p \leq 0,05$) et pratiquement similaire à celui de la PA ½ (rayons de 0 à 4,5 mm). Nous avons constaté aussi que la solution PG n'a pas été efficace sur 2 isolats sur 3 et que la PG ½ n'a pas été efficace sur 1 isolat sur 3. Ce même résultat a été au paravent constaté chez les isolats de *Listeria monocytogenes* où les solutions de PG qui n'ont pas eu d'effet inhibiteur sous leur forme concentrée, ont réussi à être à l'origine de zones d'inhibition après leur dilution. Ces résultats nous laissent supposer que la PG aurait un effet meilleur en étant diluée.

Les résultats obtenus nous permettent de classer la PG, PG ½, PA ½ et la Pas en solution faiblement inhibitrices.

Les résultats montrent aussi que la PA était la solution la plus efficace par rapport aux autres

($p \leq 0,05$) avec des rayons de 9,5 à 10 mm nous permettant de la classer comme moyennement inhibitrices.

La dilution de la PA a rendu son efficacité moindre sur les *Staphylococcus aureus*. Rappelons que sur les *Listeria monocytogenes*, aucune différence significative n'a été constatée.

La Pas a donné un résultat similaire à celui obtenu en utilisant la PA (pas de différence significative). Ce résultat a été aussi constaté chez les isolats de *Listeria monocytogenes* laissant supposer encore une fois que l'origine de l'effet inhibiteur est la propolis non pas l'excipient utilisé.

Nos résultats corroborent les constatations réalisées par Todorov et al (2018) [63] concernant la variation de l'effet de la propolis en fonction de la composition chimique et du type de bactérie étudiée ; et ceux de Rahman et al (2010) [59] qui ont suggéré que la propolis aurait un meilleur effet sur les gram positive par rapport aux gram négatives.

Une partie de nos résultats sont en accord avec ceux obtenus par Noori et al (2012) [64] qui ont confirmé que la présence d'alcool éthylique peu potentialisé l'effet antimicrobien de la propolis.

Ils sont différents de ceux obtenus par Pedonese, et al (2019) [65] qui ont constaté que la PA avait un effet inhibiteur meilleur sur les *Listeria monocytogenes* par rapport au *Staphylococcus aureus*.

II.2.3. Etude de l'effet inhibiteur de solutions de propolis testées

D'une manière globale, les solutions de propolis testées ont eu des effets inhibiteurs différents :

La PG n'a eu aucun effet sur *E.coli* avec 100% des isolats qui ont présenté des zones d'inhibition. Elle a eu un effet inhibiteur faible sur *Listeria monocytogenes* et *Staphylococcus aureus* avec des pourcentages d'isolats ayant présenté des zones d'inhibition de 56,25% et 33,33 % respectivement.

La PG $\frac{1}{2}$ n'a pas eu d'effet inhibiteur sur *E.coli* avec 100% des isolats qui ont présenté des zones d'inhibition. Elle a eu un effet inhibiteur faible sur *Listeria monocytogenes* et *Staphylococcus aureus* avec des pourcentages d'isolats ayant présenté des zones d'inhibition de 68,75% et 66,67 % respectivement.

La PA n'a pas eu d'effet inhibiteur sur *E.coli* avec 100% des isolats qui ont présenté des zones d'inhibition. Elle a eu un effet inhibiteur faible sur *Listeria*

monocytogenes et moyen sur *Staphylococcus aureus* avec des pourcentages d'isolats ayant présenté des zones d'inhibition de 100%.

La PA ½ n'a pas eu d'effet inhibiteur sur *E.coli* avec 100% des isolats qui ont présenté des zones d'inhibition. Elle a eu un effet inhibiteur faible sur *Listeria monocytogenes* et *Staphylococcus aureus* avec des pourcentages d'isolats ayant présenté des zones d'inhibition de 100%.

Et enfin, la Pas n'a pas eu d'effet inhibiteur sur *E.coli* avec 100% des isolats qui ont présenté des zones d'inhibition. Elle a eu un effet inhibiteur faible sur *Listeria monocytogenes* et *Staphylococcus aureus* avec des pourcentages d'isolats ayant présenté des zones d'inhibition de 100%.

Les résultats nous laissent supposer que la PG a eu un effet inhibiteur moindre par rapport aux autres solutions testée et que le PA a eu l'effet inhibiteur le plus important en comparaison avec les autres solutions.

Les isolats de *Staphylococcus aureus* ont eu une sensibilité plus importante à la propolis par rapport aux isolats de *Listeria monocytogenes* et de *E.coli*.

Plusieurs auteurs ont confirmé que la propolis a un effet inhibiteur sur les bactéries et particulièrement les gram + (Park et al,2008 ; Chen et al, 2018) [66 ;67]. La sensibilité des gram – diffèrait d'une étude à une autre (Sforcin et al 2000 ; Marghitas et al,2010 ;Almuhayawi, 2020) [68 ;69 ;70].

L'utilisation de la propolis doit être valorisée d'avantage, elle doit être bien étudiée in vitro pour pouvoir l'évaluer par la suite dans des essais cliniques afin de mieux maîtriser son application dans divers domaines de la médecine. Le potentiel antibactérien clinique et son utilisation dans de nouveaux médicaments et dans des produits biotechnologiques devraient être menés (Almuhayawi,2020) [70].

L'utilisation des produits d'origine naturelle est de plus en plus recommandée de nos jours. La médecine douce ou médecine alternative n'a jamais été autant convoitée car elle procure des remèdes et des solutions à des maux, pathologie ou dysfonctionnement des différents systèmes.

La propolis constitue un des produits qui dispose de plusieurs vertus et qui a été utilisé par nos ancêtres depuis des milliers d'années. Parmi ses propriétés, son activité antibactérienne constitue une des caractéristiques qui lui permet d'être proposé au consommateur comme remède ou même à titre préventif contre plusieurs maladies.

Dans ce travail, nous avons essayé de tester l'effet inhibiteur de différentes solutions de propolis commercialisées à l'égard de trois bactéries : *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* et *Staphylococcus aureus*.

Les résultats ont montré que l'effet de la propolis variait en fonction de la solution et de l'espèce bactérienne testées. Toutes les solutions ont été inefficaces sur *E.coli*.

La propolis glycolique concentrée et diluée au 1/2, la propolis alcoolique diluée au 1/2 ainsi que la propolis sans alcool ont eu un effet inhibiteur faible sur *Listeria monocytogenes* et *Staphylococcus aureus*.

La propolis alcoolisée a eu un effet inhibiteur faible sur *Listeria monocytogenes* et moyen sur *Staphylococcus aureus*.

Les résultats obtenus nous ont permis de confirmer l'effet inhibiteur de la propolis contre certaines bactéries.

La maîtrise du pouvoir antibactérien de la propolis serait étroitement liée à la formulation de la solution et aux concentrations auxquelles elle sera utilisée.

Plus de travaux de recherches doivent être réalisés afin d'acquérir un savoir-faire plus important dans la fabrication des solutions de propolis destinées à la consommation humaine afin d'adapter sa formulation en fonction des critères antimicrobiens souhaités.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1] Kwakman, P. H., Velde, A. A. T., de Boer, L., Speijer, D., Christina Vandenburg-Grauls, M. J., & Zaat, S. A. (2010). How honey kills bacteria. *The FASEB Journal*, 24(7), 2576-2582.
- [2] Alexandre, M. C. Miel, Propolis, Gelée royale: Les abeilles alliées de notre système immunitaire.
- [3] Aouabdia, S., Berkani, C., & Adoui, M. (2018). Evaluation de l'activité antibactérienne de la propolis vis-à-vis des *S. aureus* résistantes à la métilicine SARM.
- [4] حميدي. (2020). *Étude comparative de l'activité antioxydante de l'extrait de propolis Algérienne et la biosynthèse de NPs-ZnO à base de l'un ces extraits.* بشرى, رزاق, عبد القادر, زاوش, لمام
- [5] Blanc, M., & Chulia, A. (2010). Propriétés et usage médical des produits de la ruche. *Th. Doc. En.*
- [6] Ferhoum, F. (2010). *Analyses physico chimiques de la propolis locale selon les étages bioclimatiques et les deux races d'abeille locales (Apis mellifica intermissa et Apis mellifica sahariensis)* (Doctoral dissertation, Boumerdés, Université M'hamed Bougara. Faculté des Sciences de L'ingénieur).
- [7] Donadieu, Y. (2008). La Propolis Editions Dangles. *Paris, 90p E.*
- [8] Bankova, V. S., de Castro, S. L., & Marcucci, M. C. (2000). Propolis: recent advances in chemistry and plant origin. *Apidologie*, 31(1), 3-15.
- [9] El Housseini, N. (2013). *Intérêts et applications cliniques de la propolis en médecine bucco-dentaire* (Doctoral dissertation, UNIVERSITÉ DE NANTES).

- [10] Yang, X. Y., Yang, D. S., Wang, J. M., Li, C. Y., Lei, K. F., Chen, X. F., ... & Wang, J. G. (2010). 10-Hydroxy-2-decenoic acid from royal jelly: a potential medicine for RA. *Journal of ethnopharmacology*, 128(2), 314-321.
- [11] Ziane, H., & Brikat, M. (2020). *Enquête sur la situation de la filière apicole en Algérie, cas de la wilaya de M'sila* (Doctoral dissertation, UNIVERSITE MOHAMED BOUDIAF-M'SILA).
- [12] la propolis. <http://apiculture-populaire.com/propolis.html>. Site consulté le 20/03/2016.
- [13] Segueni, N. (2011). Contribution à l'étude de la composition chimique et des propriétés biologiques de la propolis.
- [14] Henen, A. M. E., & Oumaima, T. I. F. O. U. T. I. (2018). L'effet antibactérien du miel et de la propolis sur les bactéries impliquées dans les infections nosocomiales.
- [15] Benhammou, N. (2012). Activité antioxydante des extraits des composés phénoliques de dix plantes médicinales de l'Ouest et du Sud-Ouest Algérien. *Université Abou Bakr Belkaid-Tlemcen, Algérie: Thèse de Doctorat*, 30.
- [16] Flurin, C. B. (2009). Miels et gelée royale: leur origine, leur nature, leur composition et leurs propriétés reconnues. *Phytothérapie*, 7(2), 87-90.
- [17] Abir, C., Nor-el-houda, A. T. A. M. N. A., & Djamila, C. (2020). Etude de l'effet de la consommation à long terme de la propolis sur le système immunitaire.
- [18] Ghedira, K., Goetz, P., & Le Jeune, R. (2009). Propolis. *Phytothérapie*, 7(2), 100-105.
- [19] Siham, H., & Aicha, M. (2019). *Identification des bactéries probiotiques présente dans la propolis (lactobacille)* (Doctoral dissertation).

- [20] Gomes, S., Dias, L. G., Moreira, L. L., Rodrigues, P., & Estevinho, L. (2010). Physicochemical, microbiological and antimicrobial properties of commercial honeys from Portugal. *Food and Chemical Toxicology*, 48(2), 544-548.
- [21] Malek, K., Lacombe, K., & Mino, J. C. (1996). *Santé publique: médecine légale, médecine du travail*. De Boeck Secundair.
- [22] Candan, E. D., & Aksöz, N. (2017). Escherichia coli: characteristics of carbapenem resistance and virulence factors. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 60.
- [23] Zeggane, C., Fella, S. E., & Titouah, H. (2017). Effet de traitement thermique sur les paramètres de la cinétique de croissance de *Candida apicola* isolée sur la surface de Deglet-Nour.
- [24] Joly, B., & Reynaud, A. (2003). Entérobactéries: systématique et méthodes de diagnostic (Coll. Monographie de microbiologie).
- [25] Vaish, R., Pradeep, M. S. S., Setty, C. R., & Kandi, V. (2016). Evaluation of virulence factors and antibiotic sensitivity pattern of *Escherichia coli* isolated from extraintestinal infections. *Cureus*, 8(5).
- [26] Burkinshaw, B. J., Deng, W., Lameignère, E., Wasney, G. A., Zhu, H., Worrall, L. J., ... & Strynadka, N. C. (2015). Structural analysis of a specialized type III secretion system peptidoglycan-cleaving enzyme. *Journal of biological chemistry*, 290(16), 10406-10417.
- [27] Rocourt, J., & Jacquet, C. (2000). *Listeria et listériose. Précis de bactériologie clinique, 2nd ed. ESKA Editions, Paris, France*, 943-946.
- [28] Abd El-Ghaffar, S. K., & Abd-Elgwad, A. M. (1997). Some studies on *Listeria monocytogenes* in rabbits. *ASSIUT VETERINARY MEDICAL JOURNAL*, 38, 15-27.
- [29] Adams, T. J., Vartivarian, S., & Cowart, R. E. (1990). Iron acquisition systems of *Listeria monocytogenes*. *Infection and immunity*, 58(8), 2715-2718.
- [30] Adams, T. J., Vartivarian, S., & Cowart, R. E. (1990). Iron acquisition systems of *Listeria monocytogenes*. *Infection and immunity*, 58(8), 2715-2718.

- [31] Avril, J. L., Dabernat, H., Denis, F., & Monteil, H. (2003). *Bactériologie clinique*. 3^{ème} édition. ellipses.
- [32] Federighi, M. (2005). *Bactériologie alimentaire, Compendium d'hygiène des aliments* (p. 290p). Lavoisier.
- [33] Larpent, J. P. (2000). *Introduction à la nouvelle classification bactérienne: les principaux groupes bactériens*. Tec & Doc.
- [34] Schlemmer, B. (2003). Comment améliorer la qualité de l'antibiothérapie dans les établissements de soins?: Qualité= préserver l'intérêt collectif sans nuire à l'intérêt individuel du patient (Texte long). *Médecine et maladies infectieuses*, 33(11), 593-610.
- [35] Arimi, S. M., Ryser, E. T., Pritchard, T. J., & Donnelly, C. W. (1997). Diversity of *Listeria* ribotypes recovered from dairy cattle, silage, and dairy processing environments. *Journal of food protection*, 60(7), 811-816.
- [36] Nies, D. H. (1999). Microbial heavy-metal resistance. *Applied microbiology and biotechnology*, 51(6), 730-750.
- [37] Suzuki, Y., Kelly, S. D., Kemner, K. M., & Banfield, J. F. (2003). Microbial populations stimulated for hexavalent uranium reduction in uranium mine sediment. *Applied and environmental microbiology*, 69(3), 1337-1346.
- [38] Berche, P., Gaillard, J. L., Simonet, M., & Simonet, M. (1988). *Bactériologie: bactéries des infections humaines*. Flammarion médecine-sciences.
- [39] Louiza, B., & Madiha, L. (2014). Evaluation de l'activité antibactérienne d'une plante médicinale «*Lavandula stoechas* L.».
- [40] Arnal, P. (2003). *Sources et caractère entérotoxigène des staphylocoques en élevage ovin laitier* (Doctoral dissertation).
- [41] Ammari, S. (2019). Etude de potabilité de l'eau naturelle et filtrée.

- [42] Asma, B., & Nour-Elhouda, B. (2017). Mémoire En Vue de l'Obtention du Diplôme de Master.
- [43] Baba, T., Bae, T., Schneewind, O., Takeuchi, F., & Hiramatsu, K. (2008). Genome sequence of *Staphylococcus aureus* strain Newman and comparative analysis of staphylococcal genomes: polymorphism and evolution of two major pathogenicity islands. *Journal of bacteriology*, *190*(1), 300-310.
- [44] Fiquet, A. Le staphylocoque doré (*Staphylococcus aureus*) un état des lieux.
- [45] Djaidjai, S., & Amir, N. E. (2016). Caractérisation de la résistance des souches de *Staphylococcus aureus* aux antibiotiques isolées au niveau du CHU de Sétif.
- [46] Leclerc, H., Gaillard, J. L., & Simonet, M. (1995). *Microbiologie générale: la bactérie et le monde bactérien*. Doin.
- [47] Feßler, A., Scott, C., Kadlec, K., Ehricht, R., Monecke, S., & Schwarz, S. (2010). Characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ST398 from cases of bovine mastitis. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, *65*(4), 619-625.
- [48] Le Loir, Y., Baron, F., & Gautier, M. (2003). [i] *Staphylococcus aureus* [i] and food poisoning. *Genetics and molecular research: GMR*, *2*(1), 63-76.
- [49] Habera, D., & Bahmed, H. (2017). *Prévalence et antibiorésistance des souches de Staphylococcus aureus résistantes à la méthicilline (SARM) dans le lait cru et les produits laitiers* (Doctoral dissertation, Université Mouloud Mammeri).
- [50] Lowy, F. D. (1998). *Staphylococcus aureus* infections. *New England journal of medicine*, *339*(8), 520-532.
- [51] Maimour, M. S., Nemmour, S., Benmessas, I., & Sifour, M. E. (2009). *Isolement, caractérisation et identification des lactobacillus probiotiques dans les selles d'enfant* (Doctoral dissertation, Université de Jijel).

- [52] Mercier, P., & Pellet, M. P. (2003). Evolution de l'antibiorésistance de souches de *Staphylococcus aureus* d'origine caprine en France. *Revue de médecine vétérinaire*, 154(4), 277-280.
- [53] Lezzoum-Atek, S., Bouayad, L., & Hamdi, T. M. (2019). Influence of some parameters on the ability of *Listeria monocytogenes*, *Listeria innocua*, and *Escherichia coli* to form biofilms. *Veterinary world*, 12(3), 459.
- [54] Achek, R., Hotzel, H., Cantekin, Z., Nabi, I., Hamdi, T. M., Neubauer, H., & El-Adawy, H. (2018). Emerging of antimicrobial resistance in staphylococci isolated from clinical and food samples in Algeria. *BMC research notes*, 11(1), 1-7.
- [55] Manirakiza, D., & Wandja, C. Alternative Property and Small and Medium Forest Enterprise Models to Promote Economic Growth Benefiting the Poor in Central and West Africa: Case of the Traditional.
- [57] Hegazi, A. G., Abd El Hady, F. K., & Abd Allah, F. A. (2000). Chemical composition and antimicrobial activity of European propolis. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 55(1-2), 70-75.
- [58] Tosi, E. A., Ré, E., Ortega, M. E., & Cazzoli, A. F. (2007). Food preservative based on propolis: Bacteriostatic activity of propolis polyphenols and flavonoids upon *Escherichia coli*. *Food chemistry*, 104(3), 1025-1029.
- [59] Rahman, M. M., Richardson, A., & Sofian-Azirun, M. (2010). Antibacterial activity of propolis and honey against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. *African Journal of Microbiology Research*, 4(18), 1872-1878.
- [60] Lavigne, J. P., Ranfaing, J., Dunyach-Rémy, C., & Sotto, A. (2020). Synergistic Effect of Propolis and Antibiotics on Uropathogenic *Escherichia coli*. *Antibiotics*, 9(11), 739.
- [61] Thamnopoulos, I. A. I., Michailidis, G. F., Fletouris, D. J., Badeka, A., Kontominas, M. G., & Angelidis, A. S. (2018). Inhibitory activity of propolis against *Listeria monocytogenes* in milk stored under refrigeration. *Food microbiology*, 73, 168-176.

- [62] Perrin, J. (1909). Mouvement brownien et réalité moléculaire.
- [63] Todorov, S. D., de Paula, O. A., Camargo, A. C., Lopes, D. A., & Nero, L. A. (2018). Combined effect of bacteriocin produced by *Lactobacillus plantarum* ST8SH and vancomycin, propolis or EDTA for controlling biofilm development by *Listeria monocytogenes*. *Revista Argentina de microbiologia*, 50(1), 48-55.
- [64] Noori, A. L., Al-Ghamdi, A., Ansari, M. J., Al-Attal, Y., & Salom, K. (2012). Synergistic effects of honey and propolis toward drug multi-resistant *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Candida albicans* isolates in single and polymicrobial cultures. *International journal of medical sciences*, 9(9), 793.
- [65] Pedonese, F., Verani, G., Torracca, B., Turchi, B., Felicioli, A., & Nuvoloni, R. (2019). Effect of an Italian propolis on the growth of *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* and *Bacillus cereus* in milk and whey cheese. *Italian journal of food safety*, 8(4).
- [66] Park, H. K., Kim, S. B., & Shim, C. H. (2008). Antimicrobial activity of water soluble propolis. *The Korean Journal of Food And Nutrition*, 21(1), 15-21.
- [67] Chen, Y. W., Ye, S. R., Ting, C., & Yu, Y. H. (2018). Antibacterial activity of propolis from Taiwanese green propolis. *journal of food and drug analysis*, 26(2), 761-768.
- [68] Sforcin, J. M., Fernandes Jr, A., Lopes, C. A. M., Bankova, V., & Funari, S. R. C. (2000). Seasonal effect on Brazilian propolis antibacterial activity. *Journal of ethnopharmacology*, 73(1-2), 243-249.
- [69] Marghitas, L. A., MIHAI, C. M., Chirila, F., Dezmirean, D. S., & FIT, N. I. (2010). The study of the antimicrobial activity of Transylvanian (Romanian) propolis. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 38(3), 40-44.
- [70] Almuhayawi, M. S. (2020). Propolis as a novel antibacterial agent. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 27(11), 3079.