



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche
Scientifique



جامعة محمد البشير الإبراهيمي برج بوعريريج
Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi B.B.A.

كلية علوم الطبيعة والحياة وعلوم الارض والكون

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de l'Univers
قسم العلوم البيولوجية

Département des Sciences Biologiques

Mémoire

En vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine Des Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Analyse et contrôle de qualité des denrées alimentaires

Thème

**La recherche des probiotiques (Lactobacilles et
lactocoques) dans les produits de l'apiculture
(La propolis)**

Présenté par : BOUKHAROUBA Nassima
KIROUANI Hanane

Devant le jury :

Président : M^r OULD KIAR. R MAA (Univ.Mohamed El Bachir El IBRAHIMI)

Encadrant: M^r BELHADJ. M.T MAA (Univ.Mohamed El Bachir El IBRAHIMI)

Examineur 1 : M^r ALLIAT.T MAA (Univ.Mohamed El Bachir El IBRAHIMI)

Année universitaire : 2014/2015

Résultats et discussion



1. La propolis

I.1. Définition et Etymologie

« La propolis désigne toute une série de substances résineuses, gommeuses et balsamiques, de consistance visqueuse, recueillies par les abeilles sur certaines parties de végétaux (essentiellement les bourgeons et les écorces de certains arbres), substances qu'elles rapportent à la ruche et qu'elles modifient vraisemblablement en partie par l'apport de certaines de leurs propres sécrétions (cire et sécrétions salivaires principalement) »

(Donadieu, 2008).

Etymologiquement, « pro » (devant) et « polis » (cité) veut dire « devant la cité » ou « protège la cité ». Son nom résume bien à lui seul les propriétés et les rôles de cette substance d'origine à la fois végétale et animale (Apimondia, 2001).

I.2. Composition de la propolis purifiée

Selon la littérature, on a pu identifier jusqu'à 150 constituants différents qui font de la propolis une véritable usine de produits chimiques (Marcucci, 1995 ; Shiva, 2006).

La propolis est un ensemble de matières résineuses, gommeuses et balsamiques. Comme ses origines sont variées, les proportions de ses constituants changent énormément. On y retrouve cependant toujours des résines et baumes, de la cire, des essences, du pollen et des éléments divers (Bruneau, 2009 ; Donadieu, 2008)

L'inventaire complet de ses substances serait fastidieux. Citons toutefois, plus de quarante flavonoïdes (flavones, flavonoles, et flavanones), des acides aromatiques, des esters aromatiques, terpanoïdes, acides aliphatiques, autres matières organiques et minérales et de nombreuses vitamines (dont la vitamine A et les vitamines de groupe B) (Enzo, 2006).

Les composés phénoliques (appelés aussi polyphénols) semblent les plus dominants dans la composition de la propolis, en plus ce sont les principaux composés responsables des activités biologiques de la propolis tels que l'activité antibactérienne (Scazzocchio, 2006), antivirale (Genya et al., 2005 ; Amoroso et al., 1992), et antioxydante (Shiva, 2006).

I.3. Caractéristiques organoleptiques de la propolis

La propolis est une substance résineuse, d'aspect hétérogène qui présente les caractéristiques suivantes :

- **Couleur :** Elle varie selon sa provenance, 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) (Krell 1996).

- **Saveur** : Elle est souvent amère et acre(**Enzo, 2006**).
- **Odeur** : Elle a une odeur variable suivant son origine, en général, arôme agréable douceâtre, mélangé à celui de miel, de la cire et d'autres produits (cannelle, vanille, etc....)(**Enzo, 2006**).

I.4. La provenance de la propolis

Depuis les temps les plus anciens, les apiculteurs se sont aperçus que les abeilles récoltaient la résine des bourgeons de divers arbres et en particulier celle du peuplier.

Cette ancienne hypothèse de l'origine externe de la propolis à été remise en question au début de siècle, et certains spécialistes estiment pour leur part que certaines variétés de propolis sont d'origine interne ou mixte (**Debuysier,1984**).

- ✓ **Théorie de l'origine interne** : Selon KUSTENMACHER, la propolis est un résidu issu de la première phase de digestion du pollen dans un petit organe situé entre le jabot et l'intestin moyen appelé le gésier à pollen. La propolis serait ensuite régurgitée par l'abeille. La présence d'enveloppe de grains de pollen et de soie d'abeilles appuyait cette théorie.

Cependant des grandes divergences de composition chimique entre le pollen et la propolis rendent cette hypothèse peu vraisemblable.

- ✓ **Théorie de l'origine mixte** : dans les années trente, PHILIP (**Debuysier,1984**), affirme qu'il existait deux types de propolis. La véritable propolis est élaborée à partir du pollen dans le proventricule. Il lui attribua le rôle principal qui consiste à vernir l'intérieur des alvéoles avant la ponte de la reine. la propolis provenant des arbres est utilisée à des fins moins importantes telles que le rétrécissement du trou de vol ou l'embaumement de prédateurs.

On pense actuellement que la propolis trouvée dans la ruche est en grande partie, constituée par la résines recueillies sur les bourgeons de certains arbres, il s'agit de Peuplier surtout et aussi de châtaigniers, Marronniers d'inde, Sapins, etc. (**Shigenori et al., 2008**).

- ✓ **L'origine botanique de la propolis**

La propolis est un complexe d'une série de substances résineuses gommeuses. Elle est recueillie principalement par les abeilles à partir de plante, arbres, de bourgeons d'arbres (**Arjun et al., 2004 ; Shigenori et al., 2008**).

I. 5. La récolte de la propolis

La récolte de la propolis s'effectue d'abord par les abeilles et ensuite par l'homme (**Donadieu, 1981**).

I.5.1. La récolte de la propolis par les abeilles

La récolte de la propolis est faite par un nombre relativement restreint d'abeilles ouvrières butineuses, qui se trouvent dans la dernière partie de leurs existences (**Donadieu, 1981**). Ces ouvrières sont certainement très spécialisées dans cette activité puisqu'elles ne semblent pratiquement effectuer aucun autre travail au sein de la colonie, si ce n'est un travail en relation directe avec cette récolte, à savoir le colmatage à l'intérieur de la ruche (**Donadieu, 1981**).

a. Les procédés de récolte

La récolte de la propolis par les abeilles s'effectue suivant quatre étapes (**Debuyser, 1984 ; Donadieu, 1981**) :

- A l'aide de ses antennes, l'abeille repère un morceau de propolis, puis avec ses mandibules elle en détache un fragment en s'aidant parfois de ses pattes antérieures ;
- Le morceau de propolis modelé par les mandibules est pris avec les pattes antérieures ;
- Celui-ci est transféré aux pattes du milieu ;

Par un mouvement rapide la propolis est finalement déposée dans la corbeille des pattes postérieures, où elle est transportée jusqu'à la ruche. Toutes ces opérations demandent du temps mais se passent avec beaucoup de dextérité de la part de l'abeille qui n'est pas gênée du tout par la manipulation de ce matériau gluant, ce qui laisse donc supposer qu'elle est à même de se protéger sur ce plan par une sécrétion adaptée à la situation.

Au retour à la ruche, la butineuse de propolis est déchargée de sa récolte par d'autres ouvrières, soit au trou de vol, soit le plus souvent à l'endroit même où la substance est utilisée. Cette opération assez longue qui peut durer d'une à plusieurs heures (**Donadieu, 1981**).

b. Les conditions de récolte

Cette récolte ne répond pas à des règles bien définies et constantes, elle dépend de nombreux facteurs, parmi lesquels nous pouvons dégager et analyser les plus notables (**Debuyser, 1984 ; Donadieu, 1981**).

- **L'âge de l'abeille**

Il semble que ce soient les abeilles les plus âgées donc les plus expérimentées qui récoltent la propolis. L'étude histologique montre que leurs glandes cirières sont totalement atrophiées, l'âge minimal est de dix-huit jour(Debuyser, 1984 ; Donadieu, 1981) ;

- **La race**

La tendance à propoliser dépend de la race d'abeille. Il est reconnu que l'abeille grise des montagnes appelée encore Caucasienne et certaines autres race d'Asie Mineure (celle d'Anatolie centrale en particulier) propolisent en général davantage que les autres, c'est le cas de l'abeille Carniolienne et l'abeille Tellienne (Frère Adem, 1985).

Mais dans de nombreux autres cas, les données d'information en ce qui concerne ce facteur sont encore insuffisantes pour établir des comparaisons précises ;

- **La saison**

La récolte a lieu, soit, en début de printemps, mais le plus souvent à la fin de la miellée, ou à l'approche d'automne au moment où la colonie commence ses préparatifs d'hivernage (Debuyser, 1984 ; Donadieu, 1981) ;

- **Le climat (dont la température)**

Les abeilles récolteuses de propolis déploient en général leur activité au cours des journées chaudes (température le plus souvent supérieure à 20°C) et en outre, pendant les mieux exposées, à cette chaleur (soit entre 10h et 15 h 30 en moyenne), ceci du fait que les substances ramassées sont trop dures pour être exploitées en dehors de ces horaires (Debuyser, 1984 ; Donadieu, 1981) ;

- **La géographie**

C'est ainsi, entre autres, que les ruches situées dans les régions boisées propolisentdavantage que les ruches de plaine(Debuyser, 1984 ; Donadieu, 1981).

I.5. 2.La récolte de la propolis par l'apiculteur

La propolis peut être récoltée selon des techniques diverses :

- Par raclage et grattage des cadres (**Photo.1**) ou des parois de la ruche, de préférence a une température assez basse, la propolis, alors dure et friable, se détachant mieux (Debuyser, 1984) ;
- Par des grilles spécialement conçues à cet effet (**Photo.2**). Ce procédé donne une propolis de meilleure qualité (Debuyser, 1984).

On élimine les déchets les plus grossiers et elle est ensuite dissoute à froid dans l'alcool éthylique à 70 % ce qui permet l'élimination de la cire (Donadieu, 1981).



PhotoN° 01: Raclage de la propolis sur les cadres de la ruche (Adam, 2011).



PhotoN° 02: La récolte de la propolis par la grille (Adam, 2011).

I.6. Propriétés pharmacologiques

La propolis possède un large spectre d'activité biologique.

I.6.1 Propriétés anti-infectieuse

Elle présente des propriétés antimicrobiennes (antibactériennes, antifongiques, antiparasitaires et antivirales) et probablement immunostimulantes : elle active les fibrocytes et inhibe l'histaminosécrétion des mastocytes (Ghedira et al., 2009). Le mécanisme d'action n'a pas pu être mis en évidence, il semble être multifactoriel.

a. Activité antibactérienne

Ces propriétés sont étendues et importantes sur de nombreuses souches bactériennes. La première étude dans ce sens a été réalisée par White en 1906, cité par (Debuyser, 1984) qui montra que l'intérieur de la colonie d'abeilles était à peu près dépourvue de micro-organismes. Il n'étudia pas la propolis mais il remarqua que les rayons de cire contenaient très peu de bactéries contrairement à toutes attentes, or, il se trouve que les rayons sont recouverts

d'une mince pellicule de propolis, c'est donc elle seule qui est en contact avec le milieu de culture.

La propolis est bactéricide efficace pour les germes comme *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus*, *Escherichia faecalis*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Listeria innocua*, *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Candida krusei* et enfin *Pseudomonas aeruginosa* (Sibel, 2007).

On attribue cette activité au groupe de flavonoïdes en particulier la galangine qui semble avoir un effet anti-staphylococcique très important (Ghedira et al., 2009).

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

- La propolis de l'Argentine a montré un effet positif contre *Staphylococcus aureus*, ainsi que sur *Escherichia coli* (ATCC 25922) (Enzo. A, 2007 ; Lucrecia, 2009) ;
- La *Salmonella typhimurium* a été inhibée par la propolis du Brésil et de la Bulgarie (Ricardo, 2005 ; Alencar, 2007) ;
- La propolis de la région de la Grèce a montré un effet positif sur un nombre important des germes (Melliou, 2007).

b. Activité antifongique

La propolis a une activité antifongique importante, c'est ce qui permet aux cadavres présents dans la ruche dont les abeilles ne peuvent se débarrasser de ne pas moisir

(Debuyser, 1984).

Elle a des effets antimycosiques, contre les germes appartenant au genre *Candida* et contre les levures. Elle s'est montrée efficace dans l'infection à la *Giardia lamblia* (oxyuose) comme la métronidazole (Ghedira et al., 2009).

Il existe cinq constituants de la propolis possédant une activité significative, il s'agit du Pinobanksol-3-acétate, du Pinocembrine, de l'acide caumarique et de l'acide caféique (Debuyser, 1984).

c. Activité antivirale

Il y a peu d'études qui ont été réalisées sur l'activité antivirale de la propolis (Marcucci, 1995). Mais la propolis provenant du Brésil s'est montrée active contre le virus de la grippe (A et B en particulier). L'ester Phénylique de l'acide Caféique (CAPE) est un des

plus puissants agents anti-intégrase de VIH. La propolis est également anti-herpétique (Ghedira et al., 2009).

I.6 .2 Propriétés anti-oxydante et anti-radicalaire

Des extraits enrichis en flavonoïdes et en polyphénols issus de la propolis présentent des propriétés anti-oxydantes très importantes par inhibition de la lipopéroxidation de l'acide linoléique (Ghediraetal., 2009). L'activité anti-radicalaire est mise en évidence vis-à-vis du radical DPPH. C'est la fraction la plus concentrée en flavonoïde qui réduit le mieux libres en protégeant les lipides et autres substances comme la vitamine C. c'est pour cette raison qu'on recommande la prise de la propolis au même temps que l'acide ascorbique (Buratti, 2007).

I.6 .3. Propriétés anticancéreuses

Elle a un effet cytotoxique qui permet d'inhiber les cellules tumorales Hela avec une CI50 de 7,45ug/ml. La propolis verte du Brésil fait l'objet de plusieurs recherches, au Japon entre autres, ses propriétés anticancéreuses (Ghedira et al.,2009 ; Atac, 2005).

I.6.4. Propriétés anti-inflammatoires

L'extrait de propolis et le CAPE qu'elle contient inhibent l'œdème induit par la carragénine et par l'arthrite (Ghedira et al.,2009).

La propolis, par ses flavonoïdes, retarde l'inflammation de la pulpe dentaire qu'elle protège en la chapotant et simule la réparation de la dentine, Cet effet est utilisé dans l'inflammation de la gencive (Marcucci, 1995).

I.6 .5. Propriétés digestives

Elle est inhibitrice des spasmes des voies digestives. Elle protège l'estomac contre des lésions induites par l'éthanol. L'extrait de propolis agirait en inhibant la lipoxigénase et protège la muqueuse gastrique du stress oxydatif.

L'ester phényléthylique du CAPE de la propolis atténue les symptômes de la colite induite par le peptidoglycane-polysaccharide bactérien en inhibant les NF-Kappa B produites dans les macrophages, réduisant ainsi la production de cytokines pro-inflammatoires (Ghediraetal., 2009).

I.6 .6. Autres propriétés

Beaucoup d'autres propriétés biologiques et pharmacologiques des propolis ont été décrites par divers auteurs, y compris la régénération des tissus, l'activité hepatoprotective, action immunomodulatrice, etc. (**Marcucci, 1995**).

I.7. Utilisation de la propolis**I.7.1. Utilisation de la propolis par les abeilles**

A l'intérieur de la ruche, la propolis sert de mastic de ciment ou de baume. Les abeilles l'emploient pour (**Pierre, 2005**) :

- Assurer une meilleure isolation thermique ;
- Obturer les fissures ;
- Réduire l'ouverture de trou de vol dans les régions à climat froid ;
- Recouvrir les corps les étrangers (souris, cétoines, frelonsetc.) Qu'elles ne peuvent pas évacuer ;
- Réparer les rayons et renforcer les minces parois des alvéoles en l'incorporant à la cire que l'abeille sécrète ;
- Stériliser les alvéoles avant la ponte.

I.7.2. Utilisation de la propolis par l'homme

La propolis et ses extraits ont été largement utilisés dans plusieurs domaines tels que :

a. Cosmétique

La propolis et ses extraits ont été largement utilisés dans la dermatologie et la cosmétique (**Lejeune, 1988**). 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 (**Krell, 1996**).

b. Médecine

La propolis est utilisée dans divers traitements tels que (**Krell, 1996 ; Neumann, 1986**) :

- Les problèmes cardio-vasculaires ;
- Appareil respiratoire (pour diverses infections) ;
- 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.

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. Cependant, seulement très peu d'études ont été faites sur les effets secondaires possibles sur la plus grande consommation des propolis. D'après la littérature, certains composants identifiés dans les propolis peuvent être très préjudiciables à la santé humaine (**Krell, 1996**).

La propolis peut être utilisée comme préservatifs en matière d'emballage de nourriture (**Mizuno, 1987**). Elle est aussi utilisée pour la prolongation de la vie d'entreposage en congélation des poissons (**Donadieu, 1981**).

I. 8. Conservation

La propolis se conserve assez facilement, dans de bonnes conditions, sans précautions. Mais il paraît néanmoins 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). De nombreuses expériences ont montré que le stockage de longue durée de la propolis ne diminue pas sa teneur en composants chimiques, ni ses activités biologiques (**Krell, 1996**). Cependant, pour en obtenir de meilleurs effets et résultats, il vaut toujours mieux l'utiliser la plus fraîche possible.

Il faut signaler enfin, que la lyophilisation de la propolis (dessiccation obtenue par congélation brutale à basse température, suivie d'une sublimation sous vide, permettant d'obtenir une poudre poreuse qui se conserve indéfiniment sous vide) maintient aussi ses propriétés biologiques.

II. Les probiotiques

II.1. Définition

Le terme probiotique provient de deux mots grecs, pro et bios, qui signifient littéralement « pour la vie ». Il a été popularisé par Fuller en 1989 lorsqu'il lui donna sa première définition officielle : « les probiotiques sont des suppléments alimentaires à base de micro-organismes vivants qui agissent de façon bénéfique sur l'être vivant en améliorant l'équilibre et la stabilité de sa microflore intestinale ». Cette définition a été révisée à plusieurs reprises et actuellement, la plus acceptée est celle recommandée par un panel d'experts mandatés par l'Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture et l'Organisation Mondiale de la Santé. Elle indique que les probiotiques sont : « des micro-organismes vivants qui lorsqu'ils sont administrés en quantités suffisantes confèrent un bénéfice pour la santé de l'hôte » (FAO/WHO, 2002).

II.2. Les principales espèces des bactéries lactiques et microorganismes à potentiel probiotique

Les espèces les plus fréquentes et les plus rapportées dans la littérature sont du genre *Bifidobacterium* et *Lactobacillus*, mais il faut aussi mentionner des autres souches (Gbassi et al., 2011 ; Rokka et Rantamaki, 2010) (Tableau I).

Tableau I : Les micro-organismes dont les souches sont utilisés ou envisagés pour l'utilisation comme probiotique (Leroy 2008).

Espèces de <i>Lactobacillus</i>		
Lb. acidophilus	Lb. gasseri	Lb. paracasei
Lb. crispatus	Lb. casei	Lb. plantarum
Espèces de <i>Bifidobacterium</i>		
Bf. lactis	Bf. animalis	Bf. infantis
Autres bactéries lactiques		
Lc. lactis	St. diacetylactis	En. Faecalis
Ln. mesenteroides	St. intermedius	En. faecium
Autres microorganismes		
Bacillus subtilis	Clostridium butyricum	Saccharomyces cerevisiae
Bacillus cereus	Escherichia coli	Saccharomyces boulardii

II.2. 1. Caractéristiques des principaux genres des bactéries lactiques

II. 2.1.1. Le genre *Lactobacillus*

Classification

Domaine :	Bacteria
Phylum :	Firmicutes
Classe :	Bacilli
Ordre :	Lactobacillales
Famille :	Lactobacillaceae
Genre :	<i>Lactobacillus</i> (Novel, 1993).

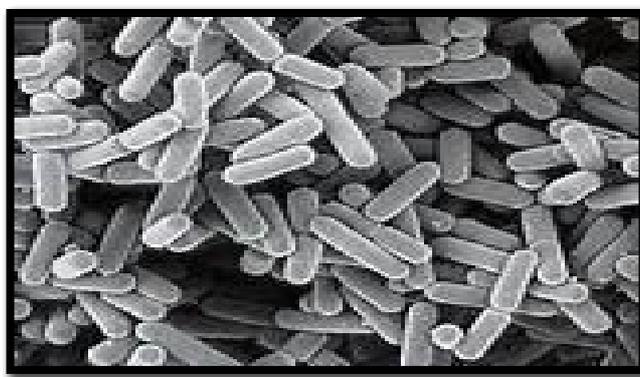


Photo N° 03 : Aspect morphologique de *Lactobacillus* observée au microscope électronique (Novel, 1993).

Lactobacillus est le genre principal de la famille des Lactobacillaceae, il contient de nombreuses espèces qui sont des agents de fermentation lactique intervenant dans de nombreuses industries ou qui sont rencontrées comme contaminants. Il s'agit de bacilles longs et fins (parfois incurvés) souvent groupés en chaînes, immobiles, asporulés, catalase négative, se développent à un optimum de température situé entre 30 et 40°C. Les lactobacilles ont des exigences nutritionnelles très complexes (Khalid et Marth, 1990 ; Leclerc et al., 1994).

II.2.1.2. Le genre *Lactococcus*

La classification

Règne :	Bacteria
Division :	Firmicutes
Classe :	Bacilli
Ordre :	Lactobacillales
Famille :	Streptococcaceae
Genre :	<i>Lactococcus</i> (Schleifer et al., 1986).



Photo N° 04 : Aspect morphologique de lactococcus observée aumicroscope électronique
(Leyral et Vierling, 2007).

Le genre *Lactococcus* (streptocoque du groupe N) représente les streptocoques dits « lactique », car ils sont associés à de nombreuses fermentations alimentaires et ne possèdent aucun caractère pathogène. Les produits végétaux constituent leur réservoir principal, mais ils sont largement présents dans le lait et les produits laitiers (Pilet et al., 2005).

Les lactocoques se présentent sous forme de coques en paire ou en chaînes de longueur variable. Ce sont des bactéries anaérobies facultatives homofermentaires ne produisant que de l'acide lactique, seul *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* biovar. *diacetylactis* produit le diacétyle. Leur température optimale de croissance est proche de 30°C, capable de se développer à 10°C mais pas à 45°C.

Quelques espèces produisent des exopolysaccharides et des bactériocines. Elles sont capables de se développer à 3% de bleu de méthylène et d'hydrolyser l'arginine (Tamime, 2002).

Actuellement, le genre *Lactococcus* comprend cinq espèces, *Lactococcus lactis* est l'espèce la plus connue avec ses trois sous-espèces : *Lc. lactis* ssp. *lactis*, *Lc. lactis* ssp. *cremoris* et *Lc. lactis* ssp. *hordniae* (Pot et al., 1996 ; Pot, 2008).

II.3. Les probiotiques et leurs effets bénéfiques sur la santé

Plusieurs effets bénéfiques sur la santé ont été associés à la consommation des probiotiques. Le tableau illustre la diversité des effets bénéfiques sur la santé documentés et rapportés dans la littérature (Tableau II).

Tableau II : Les principaux effets bénéfiques attribués aux probiotiques

(Salminen et al., 2004 ; Patterson, 2008).

Effets intestinaux	Effets sur le système Immunitaire	Autres effets
<p>Contrôle des troubles suivants :</p> <ul style="list-style-type: none"> - Mauvaise digestion du lactose - Diarrhée due aux rotavirus et diarrhée-associée aux antibiotiques - Syndrome du côlon irritable - Constipation - Infection par <i>Helicobacter pylori</i> - Prolifération bactérienne dans l'intestin grêle - Maladies inflammatoires chroniques de l'intestin -Prévention de l'entérocolite nécrosante du nouveau-né 	<ul style="list-style-type: none"> - Modulation immunitaire - Répression des réactions allergiques par réduction de l'inflammation - Réduction des risques d'infection par des agents pathogènes courants (<i>Salmonella</i>, <i>Shigella</i>) 	<p>Réduction du risque de :</p> <ul style="list-style-type: none"> - Certains cancers (colorectal, vessie, col utérin, sein) - Coronaropathie - Maladie des voies urinaires - Infection des voies respiratoires supérieures et infections connexes -Réduction du cholestérol sérique et de la pression artérielle

II.4. Mécanisme d'action des probiotiques

Les probiotiques peuvent être considérés comme un moyen de véhiculer les principes actifs qu'ils contiennent (enzymes, composants de paroi, substances antimicrobiennes) jusqu'à leurs cible d'action dans le tractus digestif.

Les mécanismes d'action des probiotiques sur l'hôte sont complexes, souvent multiples et dépendent de la souche bactérienne considérée ; ils agissent en particulier en inhibant les bactéries indésirables, en neutralisant les produits toxiques, en améliorant la digestibilité alimentaire et en stimulant l'immunité, ceci suggère qu'il faut un contact direct de ces probiotiques avec les différents constituants de la barrière intestinale, tels que la microflore

endogène, le mucus intestinal, les cellules épithéliales. Ils sont également une source de vitamines (essentiellement du groupe B), et de sels minéraux assimilables (**Robin et Rouchy, 2001 ; Ait-Belgnaoui et al. 2005**).

II.5. Applications des probiotiques

Les différents produits commercialisés en tant que probiotiques humains ou animaux sont constitués soit d'un seul microorganisme (produits dits monosouches) ou d'une association de plusieurs espèces (produits dits plurisouches). De nos jours, les produits probiotiques sont commercialisés sous trois formes (**Patterson, 2008**) :

- Un concentré de culture ajouté à des aliments et boissons à base de produits laitiers, de fruits et de céréales ;
- Un ingrédient ajouté à un aliment à base de lait ou de soja et auquel on permet d'atteindre une concentration élevée par fermentation ;
- Des cellules séchées, concentrées, en poudre, en capsule ou en comprimés.

Les probiotiques sont généralement associés aux produits laitiers de culture. La gamme de produits probiotiques comprend maintenant des fromages, des crèmes glacées et des yogourts glacés de même que des aliments et des boissons non laitiers (**Patterson, 2008**).

La survie des probiotiques dans les produits est affectée par plusieurs facteurs au cours des processus de transformation et de stockage. Les nouvelles technologies, comme la microencapsulation et la technologie des cellules immobilisées, offrent une protection additionnelle aux organismes probiotiques et de nouvelles façons d'inclure des probiotiques dans les produits alimentaires. Les fabricants commercialisent de nouveaux vecteurs d'administration de probiotiques comme des pailles et des capsules de bouteille qui, lorsque percées ou brisées, délivrent des doses thérapeutiques de probiotiques dans un produit alimentaire (**Kailasapathy, 2002 ; Patterson, 2008**).

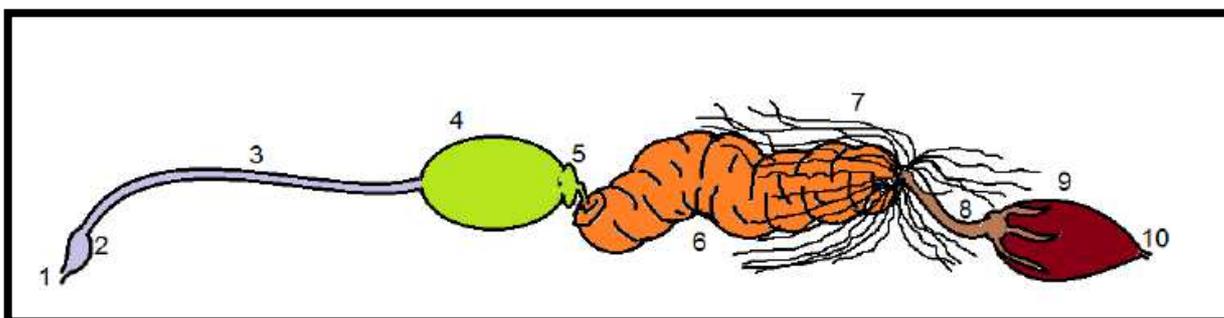
II.6. Origine des probiotiques éventuellement présent dans la propolis

II.6.1. Le tube digestif de l'abeille

Le tube digestif de l'abeille, simple à première vue, se situe en grande partie dans l'abdomen. La **figure 5** décrit les organes constitutifs (**Marchenay et Bérard, 2007 ; Jean-Prost, 2005**) :

- ✓ **La bouche** : entrée de l'appareil digestif, délimitée par les pièces buccales ;
- ✓ **Le pharynx** : cavité faisant communiquer la bouche avec l'œsophage ;
- ✓ **L'œsophage** : long tube partant de la tête, traversant le thorax jusqu'à l'abdomen et abouchant dans le jabot ;

- ✓ **Le jabot** : poche musculuse accueillant le nectar et pouvant occuper une grande partie de l'abdomen lorsqu'il est plein. Contenance pouvant atteindre 70 mg ;
- ✓ **Le proventricule ou bouche de l'estomac** : renflement musclé laissant passer ou non le contenu du jabot ;
- ✓ **L'intestin moyen ou ventricule** : également appelé estomac ; siège de la digestion ;
- ✓ **L'intestin postérieur** : plus effilé ; caudal aux tubes de Malpighi (environ au nombre de 200) ; permet la formation des déjections contenant les déchets de l'organisme et de la digestion ;
- ✓ **Le rectum** : extensible, lieu d'accumulation des déchets de la digestion, s'ouvre à l'extérieur par l'anus. Peut s'étendre largement en hiver pour être vidé au premier vol de printemps, dit vol de « propreté ».



1 = la bouche ; 2 = le pharynx ; 3 = l'œsophage ; 4 = le jabot ; 5 = le proventricule ; 6 = l'intestin moyen ; 7 = les tubes de Malpighi ; 8 = l'intestin postérieur ; 9 = le rectum ; 10 = l'anus.

Photo N° 05: Tube digestif de l'ouvrière.

✓ De nombreux micro-organismes (bactéries, champignons, protozoaires) vivent à l'intérieur du tube digestif de l'abeille et constituent la flore digestive. Ils synthétisent les vitamines indispensables à la vie de l'abeille, certaines se retrouvant dans les produits de la ruche. D'autres germes peuvent être transitoires, provoquant diverses maladies comme les loques, les mycoses, la nosérose (**Jean-Prost, 2005**).

I. Matériel et Méthodes

Cette étude a été réalisée au niveau du laboratoire de microbiologie de la faculté ST (Science Technique) de l'université de Mohamed El Bachir El IBRAHIMI.

Dans ce travail nous voulons étudier les caractéristiques microbiologiques de la propolis fraîche et commercialisée (recherche des probiotiques).

Notre but est de :

- Rechercher des lactobacilles
- Rechercher des lactocoques
- Comparer les résultats obtenus avec d'autres résultats de produit similaires de la ruche.

I. 1. Matériel

I. 1.1. Stratégie d'échantillonnage et collecte des données

Deux types de propolis ont été utilisés lors de cette étude :

✓ Type 1 : Propolis fraîche

Les échantillons de propolis ont été fournis par des apiculteurs de deux régions d'Algérie. Ils ont répartis en deux : montagnaise et Saharienne. Les échantillons de propolis ont été conservés à température de congélation jusqu'au moment d'utilisation.



Photo N° 06 : Propolis fraîche.

La récolte a été effectuée par le raclage des cadres.

✓ Type 2 : Propolis commercialisée

Deux échantillons propolis commercialisée ont été collecté l'une importé Arabie saoudite et d'autre locale de Bordj Bou Arreridj.



Photo N° 07 : Propolis commercialisée.

Le tableau III indique les références des différents échantillons, types et l'Origines géographiques.

Les échantillons de propolis naturelles ont été récoltés entre 2014 et 2015.

Tableau III : Présentation des différents échantillons.

Échantillons	Types	Origines géographiques
E1	Commercialisée	Arabie saoudite
E2	Commercialisée	Bordj Bou Arreridj
E3	Fraîche	Biskra
E4	Fraîche	Sidi Embarek
E5	Fraîche	Bir aissa

I. 1 .2. Produits chimiques

Les produits chimiques utilisés au cours de cette étude sont les suivants :

- ✓ Chloride de sodium NaCl.
- ✓ L'Agar-agar microbiologique.
- ✓ L'eau distillée.
- ✓ L'éthanol.
- ✓ Milieux de cultures (MRS et M17).

I. 1 .3. Milieux de culture et appareils

- ✓ Les milieux de culture ainsi que leur composition sont décrits dans l'Annexe I;
- ✓ Les matériels et appareillages utilisés du laboratoire de microbiologie de la faculté ST (Science Technique) de l'université de Mohamed El Bachir El IBRAHIMI.

I. 2. Méthode

I. 2. 1. Préparation des échantillons

Concernant les échantillons commercialisée sont déjà préparés sous forme de poudre, tandis que les échantillons fraîche ont subis les opérations suivantes :

a. purification des échantillons fraîche

Dans une fiole, nous avons mélangé 10g de propolis fraîche avec 100ml d'eau distillée, puis nous avons posé la fiole de mélange dans un bain marie à température de 95°C. Après nous avons purifié bien l'échantillon manuellement à l'aide d'une pince bien stérile.

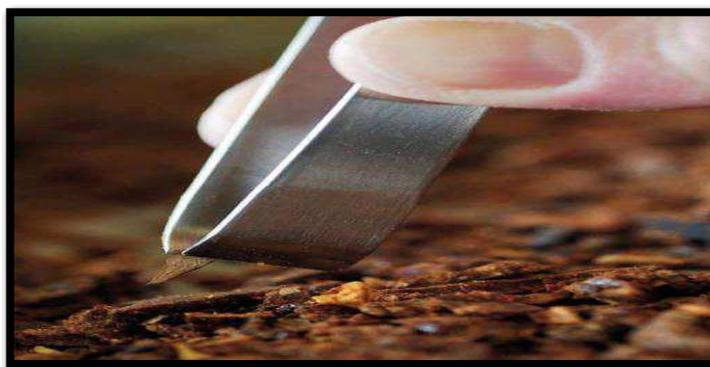


Photo N°08 : purification des échantillons fraîche.

a. congélation

Il faut congeler l'échantillon pour faciliter le broyage.

b. broyage

À l'aide d'un mortier bien stérile par l'éthanol, nous avons fait le broyage jusqu'à l'obtention d'une propolis sous forme de poudre comme il est illustré dans la photo suivante.

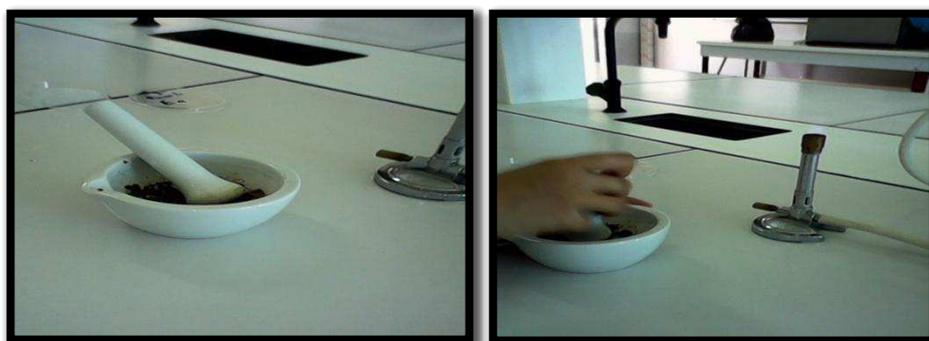


Photo N°09 : Broyage de la propolis fraîche à l'aide d'un mortier.

I. 2. 2. La préparation des milieux de cultures

L'isolement des souches probiotiques (lactocoques et lactobacilles) à partir de propolis a été effectué sur le milieu M17 pour l'isolement des lactocoques, et le milieu MRS pour l'isolement des lactobacilles. Les milieux utilisés au cours de ce travail sont des milieux solides.

a. préparation de milieu M17

Nous avons met en suspension 22,2g de milieu déshydratée de M17 dans un flacon contenant 600 ml d'eau distillée, puis nous avons porté lentement le milieu a ébullition (Température de 100°C) sous agitation constante, et le maintenir durant le temps nécessaire à sa dissolution.

Nous avons procédé à la liquéfaction partielle de 9g de l'Agar en suite nous avons ajouté au milieu M17, après stérilisation et refroidissement nous avons réparti le milieu en boites de Pétri.



Photo N° 10:Préparation de milieu de culture M17.

b. préparation de milieu MRS

Nous avons met en suspension 33,18 g de milieu déshydratée de MRS dans un flacon contenant 600 ml d'eau distillée, puis nous avons agité et chauffé jusqu'à la dissolution.

Nous avons procédé à la liquéfaction partielle de 9g de l'Agar en suite nous avons ajouté au milieu MRS, après stérilisation et refroidissement nous avons réparti le milieu en boites de Pétri.



Photo N° 11: Préparation de milieu de culture MRS.

I. 2. 3. Préparation de la suspension mère et les dilutions

a. Préparation de l'eau physiologique

Nous avons met en suspension 14,5g de NaCl dans un flacon contenant 1600 ml d'eau distillée sous une agitation constante jusqu'à la dissolution.

b. Préparation de la dilution mère

Nous avons introduit 10 g de chaque échantillon de propolis aseptiquement dans un flacon stérile contenant 90 ml d'eau physiologique stérile.

Cette suspension constitue alors la dilution mère (DM) qui correspond à la dilution 1/10 ou 10^{-1} .

c. Préparation des dilutions décimales

Un millilitre de la dilution mère (10^{-1}) est prélevé aseptiquement à l'aide d'une pipette stérile et introduit dans un tube à essai contenant 9 ml d'eau physiologique stérile. On obtient ainsi la dilution 10^{-2} et on répète la même procédure en prélevant 1ml à partir de la dilution 10^{-2} et en l'introduisant aseptiquement dans un tube à essai contenant 9 ml du diluant et ainsi de suite jusqu'à 10^{-6} .

d. L'ensemencement des échantillons

Nous avons réalisé un ensemencement en surface du milieu gélosé. Les boîtes de Pétri sont incubées à 37°C pour M17 et à 30°C pour le MRS pendant 72h.

Tableau IV : Conditions expérimentales pour le dénombrement de la flore lactique à différents intervalles de temps pour les échantillons de propolis.

Bactérie lactique	Milieu de culture	Dilutions testées	Conditions d'incubation
Lactocoques	M17	10^{-2} , 10^{-3} et 10^{-5}	37°C pendant 24 à 48h
Lactobacilles	MRS	10^{-2} , 10^{-3} et 10^{-5}	30°C pendant 48 à 72h

Conclusion

Les substances naturelles occupent de plus en plus une place de choix en thérapeutique. En effet, la propolis d'abeille constitue de véritable usine chimique et biologique dont il faut tirer le maximum de profit pour le bien-être des populations.

Cette étude nous a permis d'avoir une idée sur la composition de la flore microbiologique en bactéries lactiques (les probiotiques) d'un produit de l'apiculture (la propolis).

D'après les résultats que nous avons obtenus nous pouvons confirmer la présence des probiotiques dans la propolis avec de grande variation en quantité selon l'origine et la flore botanique.

Enfin ce travail nécessite d'autres testes pour l'identification de souches dénombrées ainsi qu'une confirmation de l'origine de ces souches probiotiques (Interne ou externe).

II.1. Résultats et discussion

II.1.1. Résultats

Après l'incubation et afin de déterminer les caractères cultureux (aspect, couleur et forme), les colonies obtenues sont observées à la loupe binoculaire.

II.1.1.1. L'aspect macroscopique de colonies cultivées sur M17

L'observation nous a permis de décrire des colonies rondes avec une couleur blanchâtre et d'un contour régulier nous supposons qu'il s'agit de Lactocoques (Voire la Photo N° 12).

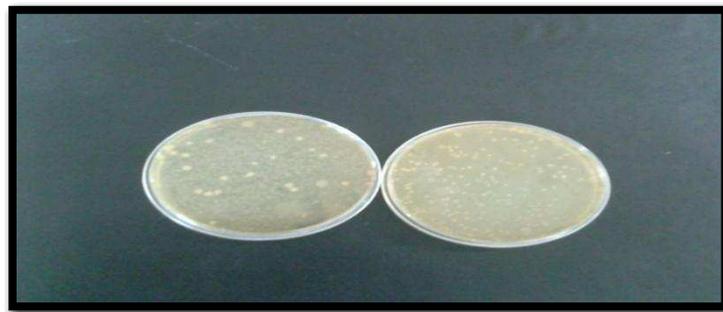


Photo N° 12: L'aspect macroscopique des lactocoques sur milieu M17.

II. 1.1. 2. L'aspect macroscopique de colonies cultivées sur MRS

L'examen macroscopique des colonies milieu MRS gélosé révèle que les colonies formées présentent toutes un aspect lisse, de couleur blanchâtre ou laiteuse, à contour régulier (Voire la Photo N°13).



Photo N° 13: L'aspect macroscopique des lactobacilles sur milieu MRS.

II.1.1. 3. Résultat du dénombrement

Les résultats du dénombrement des colonies par échantillon sont rassemblés dans les tableaux.

Tableau V : Dénombrement des lactocoques sur milieu M17 (UFC/g).

Dilutions Echantillons	10⁻²	10⁻³	10⁻⁵
L'échantillon 1	Indénombrable	64	20
L'échantillon 2	0	0	0
L'échantillon 3	Indénombrable	50	03
L'échantillon 4	Indénombrable	120	85
L'échantillon 5	Indénombrable	90	06

Tableau VI : Dénombrement des lactobacilles sur milieu MRS(UFC/g).

Dilutions Echantillons	10⁻²	10⁻³	10⁻⁵
L'échantillon 1	Indénombrable	140	90
L'échantillon 2	10	06	02
L'échantillon 3	183	70	03
L'échantillon 4	Indénombrable	29	08
L'échantillon 5	Indénombrable	30	05

Le nombre moyen d'UFC/g obtenus pour l'ensemble des échantillons est plus important sur le milieu M17 (64,8UFC/g) que le nombre obtenu sur le milieu MRS (27,5 UFC/g).

- Pour les échantillons commercialisés

Le nombre moyen d'UFC les plus importants sont obtenue pour l'échantillon (1) quel'échantillon (2) dans le milieu MRS.

Même chose pour les milieux M17 ou nous remarquons l'absence totale d'UFC pour l'échantillon (2) et par contre la présence de ces colonies pour l'échantillon (1) comme il est illustré dans les images suivantes.

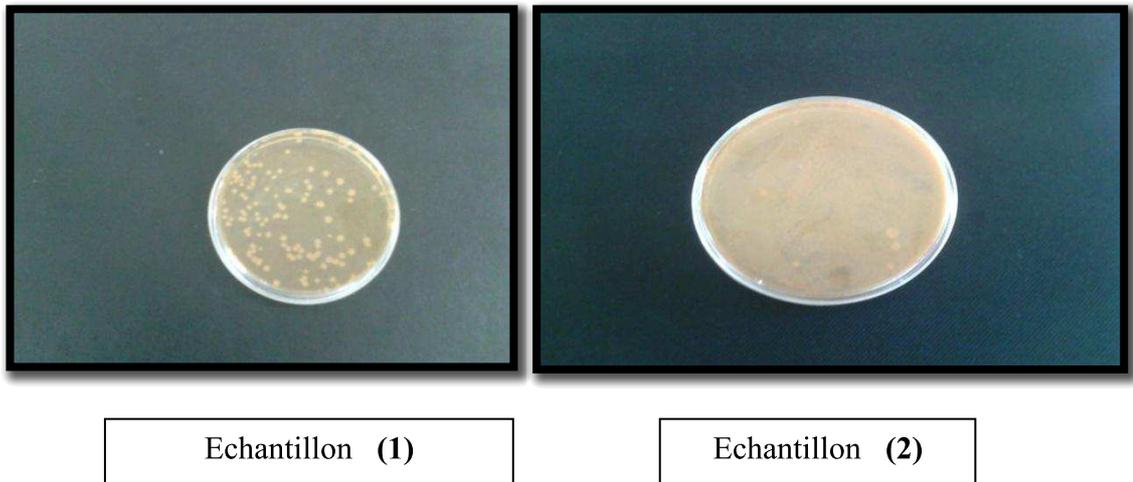


Photo N° 14: Les colonies des lactobacilles sur milieu MRS:Arabie saoudite(1),Bordj Bou Arreridj (2).

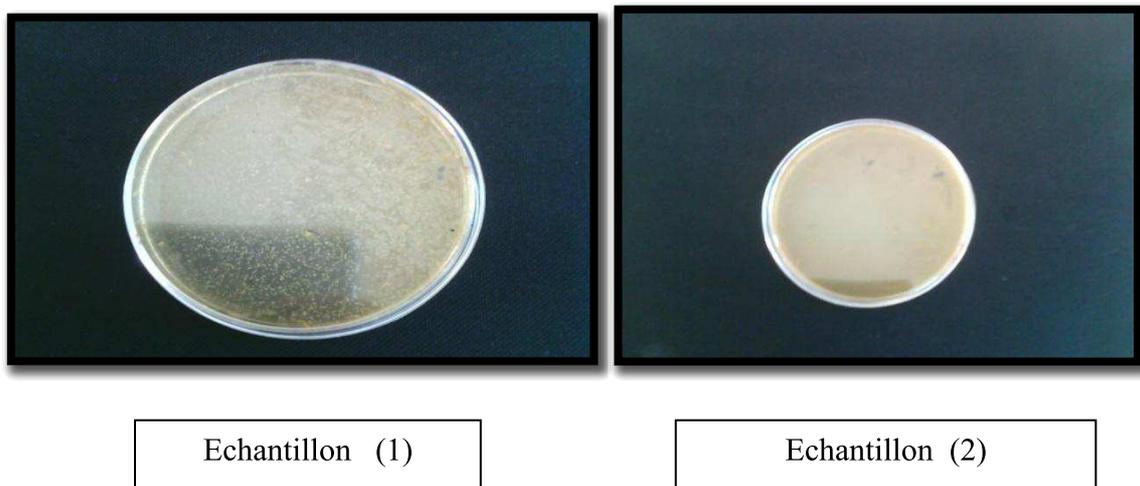


Photo N° 15: Les colonies des lactobacilles sur milieu M17 : Arabie saoudite(1), Bordj Bou Arreridj (2).

- Les échantillons frais :

Le nombre d'UFC sur le milieu M17, il n'y a pas une grande différence entre les échantillons (4) et (5) mais le nombre d'UFC des échantillons (4 et 5) sont plus important que

l'échantillon (3) et la même chose pour le milieu MRS. Ces résultats sont illustrés dans les Photos.

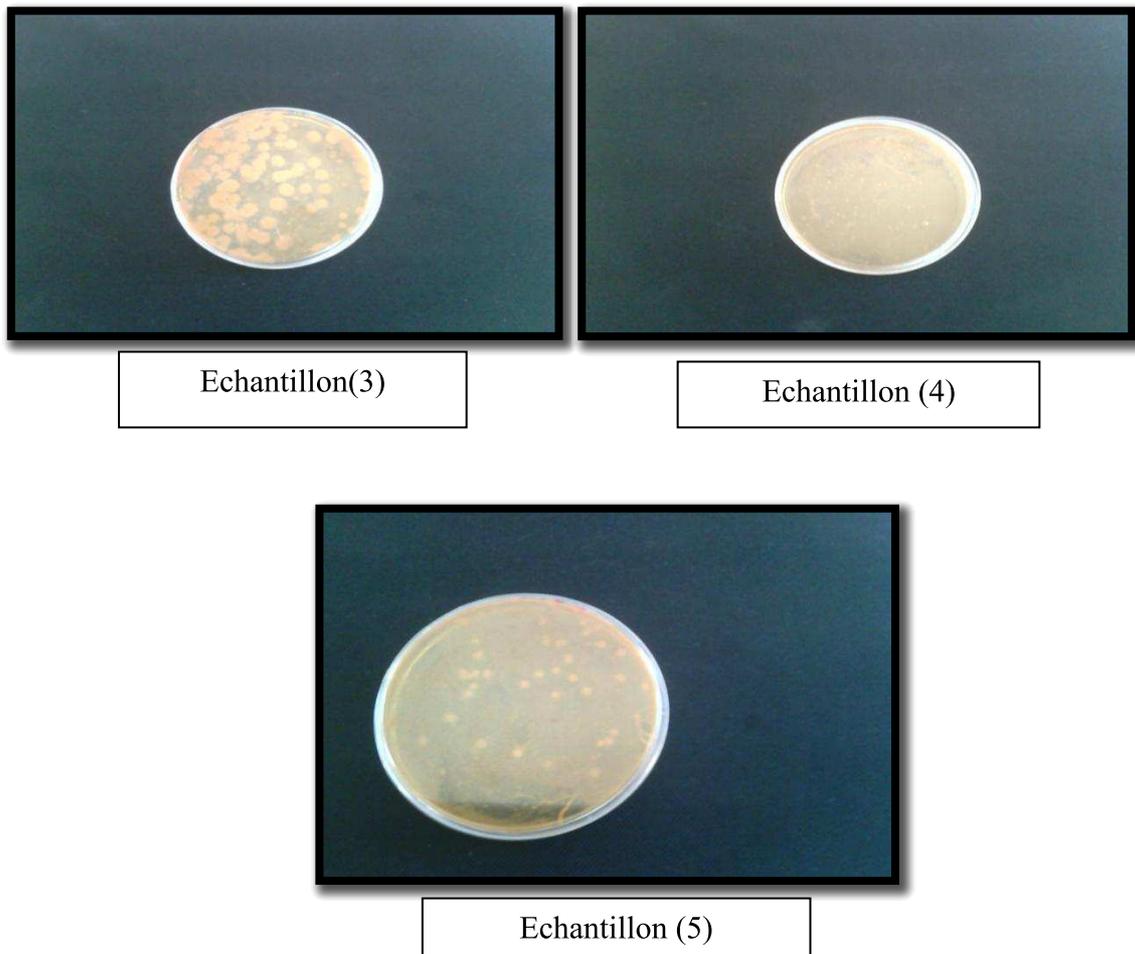


Photo N° 16. Les colonies des lactobacilles sur milieu MRS: Biskra(3), Sidi Embarek (4),Biraissa(5).

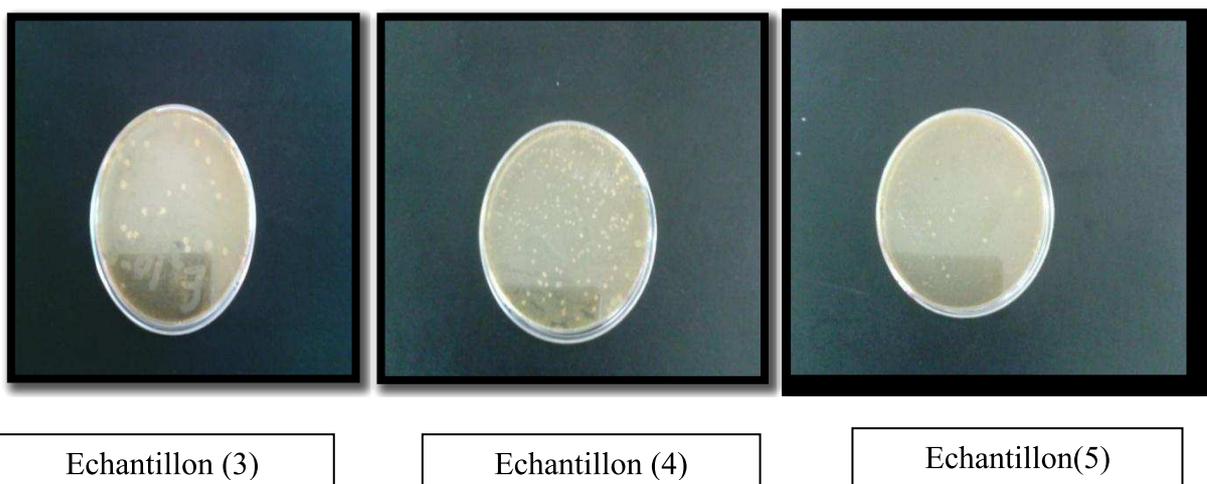


Photo N° 17: Les colonies des lactobacilles sur milieu M17: Biskra(3),Sidi Embarek (4), Biraissa (5).

II.1.2. Discussion

La propolis est une matière très précieuse à cause de ses propriétés thérapeutiques qui sont liées directement à sa composition microbiologiques et physicochimiques.

En vue de détecter la présence des probiotiques (Les lactobacilles et lactocoques) dans la propolis Algériennes et importé de l'Arabie saoudite. Un total de 5 échantillons de la propolis a été collecté puis analysé.

D'après les résultats obtenus après analyse de quelques échantillons de propolis locale et importé nous pouvons confirmer la présence de bactéries probiotiques (lactobacilles et lactocoques) dans la propolis.

Et c'est les mêmes résultats obtenus par (**Gilliam, 1979**) qui a reporté la présence de Lactobacilles dans le pollen autre étude mener par (**Vásquez et Olofsson, 2009**) dans laquelle ils ont confirmés la présence de lactobacilles dans les grains de pollen.

Concernant l'origine de ces bactéries probiotiques des chercheurs Suédois de l'Université de Lund ont identifiés un groupe unique de 13 espèces de bactéries lactiques présentes dans le jabot des abeilles, dans le miel frais et dans le pain d'abeille frais. Dans notre travail nous n'avons pas pu déterminer l'origine des probiotiques que nous avons dénombré dans nos échantillon.

Après l'interprétation de nos résultats nous avons soulevés trois remarques importantes:

- une grande variation entre le nombre d'UFC pour les différents échantillons analysés, et cela selon le milieu sélectif utilisé et l'état de fraîcheur du produit c'est à dire que la propolis prélevé naturellement contient une quantité de probiotiques importante que celle commercialisé.
- concernant La propolis importé (d'Arabie saoudite), nous soulevons que le nombre d'UFC des lactobacilles et lactocoques dénombré est plus élevé pour les deux milieux (M17 et MRS) que celui d'origine locale, L'explication que nous pouvons donner est que ces probiotiques ont une origine externe (ont été rajouté par le fabricant).
- concernant les lactocoques, nous avons constaté que les échantillons (4) et (5) contiennent une quantité égale mais plus importante que dans l'échantillon (3). Par contre les lactobacilles sont beaucoup plus présents dans l'échantillon (4). Cela peut

être expliqué par la différence de la faune botanique existant dans les deux régions (Sud et Nord).

Nos recherches bibliographiques concernant la présence des probiotiques dans la propolis et les rôles qu'ils jouent ces probiotiques dans l'amélioration des qualités nutritionnelle et curatif de la propolis sont infructueuse.

Les probiotiques sont aussi largement étudiés et des travaux de recherche ont prouvé leur intérêts entant qu'additifs alimentaire avec une large utilisation dans le domaine pharmaceutique. Seulement nous n'avons pas trouvé une bibliographie qui mentionne la présence des probiotiques dans la propolis et les rôles que joue ce probiotiques dans l'amélioration des qualités nutritionnelle et curatif de la propolis.

Dédicaces

Au nom du DIEU clément et miséricordieux et que le salut de DIEU soit sur son prophète MOHAMED

Nous dédions ce Modeste travail :

NASSIMA

Aux être qui me sont les plus chers au monde :

A ma mère : Hakima, pour son encouragement et soutien.

A mon père : Abd hamid, pour son encouragement

A mes frères : Farid, Abd elrrazek, Lahcen et Samir.

A tous mes tantes et oncles

Aux deux grandes familles : BOUKHAROUBA et ZAIDI.

A tous les biologistes et les personnes que je connais.



HANANE

Aux être qui me sont les plus chers au monde :

A ma mère : Wrayda pour son encouragement et soutien.

A mon père : Bouzid

A mes frères : Akram, Anouar, Amar, Ibtissem, Yacine

A tous mes tantes et oncles

Aux deux grandes familles : Kirouani & Sadour.

A tous les biologistes et les personnes que je connais.

NASSIMA et HANANE

Introduction

A l'époque d'Aristote, la propolis était appelée les larmes des arbres (**Debuyser, 1984**). En effet, les abeilles spécialisées récoltent des substances résineuses, sur les bourgeons de certains arbres (**Fenge, 2008**). Elles les mélangent avec les sécrétions de leurs propres glandes, de la cire et de pollen, et utilisent ce produit qu'on appelle « la propolis » au colmatage de fissures et au lissage de surfaces rugueuses à l'intérieur de la ruche. C'est donc une sorte de mastic particulièrement collant et robuste (**Jean prost., 1984 ; Donadieu, 1981**).

La récupération de ce produit est relativement facile, il suffit de gratter les cadres ou des grilles spéciales placées dans la ruche (**Ghedira, et al 2009**).

Ce produit de la ruche est très précieux en raison de ses propriétés antioxydantes, bactéricides (contre un grand nombre de bactéries différentes, en particulier contre les agents pathogènes tels que les bacillus cereus, bacillus subtilis, Staphylococcus aureus et Escherichia faecalis) (**Ghedira et al., 2009**), anti-inflammatoires (**Park, 1996**), fongicide (**Marcucci, 1995**), antivirales (**Amoros et al., 1992**) (surtout contre le virus de l'herpès), cytotoxique (**Fenge et al., 2008 ; Arjun, 2004**), anticancers (**Kamazawa et al., 2004**) et thérapeutiques liées à sa composition en polyphénols et flavonoïdes. À cet effet, la propolis est extensivement utilisée dans l'industrie alimentaire, la médecine, la cosmétologie et en médecine vétérinaire (**Enzo; 2006**).

Les probiotiques sont des suppléments alimentaires constitués de micro-organismes vivants parmi lesquelles les bactéries lactiques (lactocoques et lactobacilles) qui influent de façon favorable sur l'animal hôte en améliorant l'équilibre de sa flore intestinale (**Rafter, 2002**).

Cette étude est réalisée afin de pouvoir rechercher des probiotiques (Lactobacilles et lactocoques) dans la propolis.

Notre document sera donc composé de trois chapitres, initié par une recherche bibliographique sur les produits de la ruche, la propolis, un abrégé de l'histoire et l'étymologie, la composition complexe de la propolis ainsi que son utilisation au cours des siècles et ses activités biologiques. Le deuxième chapitre élucide les probiotiques, leur définition, leurs mécanismes d'action, les caractéristiques probiotiques des lactobacilles et lactocoques et la présence des probiotiques dans la propolis.

La partie pratique est subdivisée en deux parties, la première présente les méthodes et les techniques utilisées pour la réalisation de ce travail (quelques éléments sont placés en annexe), la deuxième présente l'ensemble des résultats obtenus et discussion. Finalement, une conclusion qui permet de récapituler les principaux résultats de ce travail avec une présentation des principales perspectives envisagées pour la poursuite de cette thématique de recherche.

Liste des Abréviations

➤ Noms de genres bactériens

Bf : Bifidobacterium.

En. : Enterococcus.

Lb. : Lactobacillus.

Lc. : Lactococcus.

Ln. : Leuconostoc.

P. : Pediococcus.

St. : Streptococcus.

➤ Unités de mesures

% : Pourcentage.

°C : Degré Celsius

g, mg : Gramme, milligramme

h, min, j : heure, minute, Jour.

l, ml : Litre, millilitre.

mg/kg : Milligramme par kilogramme.

mM : millimolaire.

T° : Température.

ug/ml : Microgramme par Millilitre.

➤ Autres abréviations

Abs : Absence.

ADN : Acide Désoxyribonucléique.

ARNr : Acide Ribonucléique Ribosomique.

CAPE : L'ester Phénylique de l'acide Caféique.

CI₅₀ : la Concentration Inhibitrice 50.

CO₂ : Dioxyde de Carbone.

DM : Dilution mère.

DPPH : Le 1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl.

E : Echantillon.

EEP : d'extrait éthanolique de propolis.

FAO/OMS : Food and Agriculture Organization / Organisation Mondiale de la Santé.

G+C : Guanine + Cytosine.

GRAS: Generally Regarded As Safe.

MRS : de Man-Rogosa et Sharp.

NaCL: Chloride de Sodium.

pH : Potentiel d'Hydrogène.

UFC : Unité Formant Colonie.

Liste des photos

Photo N°01 : Raclage de la propolis sur les cadres de la ruche...	07
Photo N°02 : La récolte de la propolis par la grille.....	07
Photo N° 03 : Aspect morphologique de Lactobacillus	13
Photo N°04 : Aspect morphologique de lactococcus.....	14
Photo N°05 : Tube digestif de l'ouvrière.....	17
Photo N°06 : Propolis fraîche.....	18
Photo N° 07 : Propolis commercialisée.....	19
Photo N° 08 : purification des échantillons fraîche.....	20
Photo N° 09 : Broyage de la propolis fraîche à l'aide d'un mortier.....	20
Photo N° 10 : Préparation de milieu de culture M17.....	21
Photo N° 11 : Préparation de milieu de culture MRS.....	22
Photo N°12 : L'aspect macroscopique des lactocoques sur milieu M17.....	24
Photo N° 13 : L'aspect macroscopique des lactobacilles sur milieu MRS.....	24
Photo N° 14 : Les colonies des lactobacilles sur milieu MRS: Arabie saoudite(1), Bordj Bou Arreridj (2).....	26
Photo N° 15 : Les colonies des lactobacilles sur milieu M17 : Arabie saoudite(1), Bordj Bou Arreridj (2).....	26
Photo N°16 : Les colonies des lactobacilles sur milieu MRS: Biskra(3), Sidi Embarek (4), Bir aissa(5).....	27
Photo N° 17 : Les colonies des lactobacilles sur milieu M17: Biskra(3), Sidi Embarek (4), Bir aissa(5).....	27

Liste des tableaux

Tableau I : Les micro-organismes dont les souches sont utilisés ou envisagés pour l'utilisation comme probiotique.....	12
Tableau II : Les principaux effets bénéfiques attribués aux probiotiques.....	15
Tableau III : Présentation des différents échantillons.....	19
Tableau IV : Conditions expérimentales pour le dénombrement de la flore lactique à différents intervalles de temps pour les échantillons de propolis.....	23
Tableau V : Dénombrement des lactocoques sur milieu M17.....	25
Tableau VI : Dénombrement des lactobacilles sur milieu MRS.....	25

Sommaire

Liste des abréviations	
Liste des photos	
Liste des tableaux	
Introduction.....	01

Partie bibliographique

I. La propolis.....	03
I.1. Définition et Etymologie.....	03
I.2. Composition de la propolis purifiée.....	03
I.3. Caractéristiques organoleptique de la propolis.....	03
I.4. La provenance de la propolis.....	04
I. 5. La récolte de la propolis.....	05
I.5.1. La récolte de la propolis par les abeilles.....	05
I.5. 2. La récolte de la propolis par l'apiculteur.....	06
I.6. Propriétés pharmacologiques.....	07
I.6.1. Propriétés anti-infectieuse	07
I.6 .2 Propriétés anti-oxydante et anti-radicalaire.....	09
I.6 .3. Propriétés anticancéreuses	09
I.6.4. Propriétés anti-inflammatoires.....	09
I.6 .5. Propriétés digestives.....	09
I.6 .6. Autres propriétés.....	10
I.7. Utilisation de la propolis.....	10
I.7.1. Utilisation de la propolis par les abeilles.....	10
I.7.2. Utilisation de la propolis par l'homme.....	10
I. 8. Conservation.....	11

Chapitre II :Les probiotiques

II. Les probiotiques.....	12
II.1. Définition.....	12
II.2. Les principales espèces des bactéries lactiques et microorganismes à potentiel probiotique	12
II.2. 1. Caractéristiques des principaux genres des bactéries lactiques	13
II. 2.1.1. Le genre Lactobacillus.....	13
II.2.1.2. Le genre Lactococcus.....	13
II.3. Les probiotiques et leurs effets bénéfiques sur la santé.....	14
II.4. Mécanisme d'action des probiotiques.....	15
II.5. Applications des probiotiques.....	16
II.6. Origine des probiotiques éventuellement présent dans la propolis.....	16
II.6.1. Le tube digestif de l'abeille.....	16

Chapitre I :La propolis

Partie expérimentale

Chapitre I :Matériels et méthodes

I. Matériel et Méthodes.....	18
I. 1. Matériel.....	18
I. 1.1. Stratégie d'échantillonnage et collecte des données.....	18
I. 1 .2. Produits chimiques.....	19
I. 1 .3. Milieux de culture et appareils.....	19
I. 2. Méthode.....	20
I. 2. 1. Préparation des échantillons.....	20
I. 2. 2. La préparation des milieux de cultures.....	21
I. 2. 3. Préparation de la suspension mère et les dilutions.....	22

Chapitre II :Résultats et discussion

II.1. Résultats et discussion.....	24
II.1.1. Résultats.....	24
II.1.1.1. L'aspect macroscopique de colonies cultivées sur M17	24
II.1.1. 2. L'aspect macroscopique de colonies cultivées sur MRS.....	24
II.1.1. 3 .Résultat du dénombrement.....	24
II.1.2. Discussion.....	28

Conclusion.....30

Références bibliographiques

Annexe

Résumé

Références bibliographiques

1. **ADAM G, 2011.** Botanique apicole, production de nectar et de pollen. Cours école d'apiculture Ruchers du Sud-Luxembourg, 11 p.
2. **Ait-Belgnaoui A, Lamine F, Han W, Eutamene H, Fioramonti J, Bueno L. et Theodorou V, 2005.** A probiotic strain (*Lactobacillus farciminis*) prevents stress-induced increase of colonie permeability and visceral sensitivity to distension in rats. *Nutr. Ali. Fonct.* **3**, 59-63.
3. **Alencar S. M, Oldoni T. L. C, Castro M. L, Cabral I. S. R, 2007.** Chemical composition and biological activity of a new type of Brizilian propolis: Red propolis. *Journal of Ethnopharmacology.* **113**, 278- 283.
4. **Amoros M, Simoes C.M, Girre L, Sauvager F, Cormier M. 1992.** Synergistic effect of flavones and flavonols against herpes simplex virus type 1 in cell culture.
5. Apimondia - standing commission of apitherapy *Traité d'Apithérapie, La médecine par les abeilles* [cédérom] v.1.01 PC-Mac Produit par Api-Ar International SA R Brussels. 2001 ISBN
6. **Arjun H Banskota, Yasuhiro Tezuka, I Ketut Adnyana, Kiyoshi Midorikawa, Katsushige, Dejair Message, Alfredo A.G. Huertas, Shigetoshi Kadota, 2000.** cytotoxique, hepatoprotective and free radical scavenging effects of propolis from Brazil, Peru, the Netherlands and China. *Journal of Ethnopharmacology* **72 (200)**, 239 – 246.
7. **Atac Uzel, Kadriye Sorkun, 2005.** Chemical compositions and antimicrobial activities of four different Anatolian propolis samples. *Microbiological research* **160**,189 – 195.
8. **Bruneau E, 2009.** Chapitre IX : Les produits de la ruche in Clément H. et al. *Le Traité Rustica de l'apiculture* Editions Rustica, Paris, 354-387.
9. **Donadiou Y, 1981.** Les thérapeutiques naturelles, la gelée royale. Edition: Maloine, Paris. 5^{eme} édition, p75.
10. **Donadiou Y, 2008.** La Propolis Editions Dangles, Paris, 90p.
11. **Eleni Melliou, Eleftherios Stratis, Ioanna Chinou. (2007).** Volatile constituents of propolis from various regions of Greece – Antimicrobial activity. *Food Chemistry* **103**: 375 – 380.
12. **Enzo A Tosi., Edmundo Ré., Marta E Ortega., Ampelio F Cazzoli. 2007.** Food preservative based on propolis : Bacteriostatic activity of propolis polyphénols and flavonoïdes upon *Escherichia coli*. *Food Chemistry*: 1025- 1029.
13. **Eric Debuyser, 1984.** La propolis. Thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie. Université De Nante, Faculté de pharmacie.
14. **FAO et OMS, 2002.** Guidelines for the evaluation of probiotics in food, report of a joint FAO/WHO working group on drafting guidelines for the evluation of probiotics in Food
15. **Frère Adam, 1985.** Les croisements et l'apiculture de demain. SNA Paris. 126 pages.
16. **Gbassi K.G, Vandamme T, Yolou S.F. et Marchioni E, 2011.** In vitro effects of pH, bile saltsand enzymes on the release and viability of encapsulated *Lactobacillus plantarum* strains in agastrointestinal tract model. *Int. Dairy J.***21**, 97-102.
17. **Genya Gekker, Shuxian Hua, Marla Spivak, James R, Lokensgard; Phillip K.**
18. **Ghedira. K. 2005.** Les flavonoïdes : structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie* (2005) Numéro **4**: 162-169.
19. **Gilliam M. 1979.** Microbiology of pollen and bee bread: the yeasts. *Apidologie (Celle)* **10**, 43–53.

20. **Jean Prost Pierre, 1987.** L'apiculture. Connaître L'abeille. Conduire Le Rucher. Edition Tec & Doc. Lavoisier. Paris. 579p.
21. **Jean Prost Pierre, 2005.** Apiculture ; connaître l'abeille, conduire le rucher (7^e édition). Edition Tec & Doc. 698 p.
22. **Khalid N.M et Marth, 1990.** Lactobacilli, their enzymes and role. In: Ripening and spoilage of cheese. Rev. Dairy Sci. **73**, 158-167.
23. **Leclerc H, Gaillard F L. et Simonet M, 1994.** Les grands groupes de bactéries. In : Microbiologie générale : la bactérie et le monde microbien. DOIN. Paris. 445.
24. **Lejeune B, Pourrat A et Dehmouche H. (1988).** Propolis utilisation en dermatocosmétique. Parfums, Cosmétiques, Aromes: 73-77.
25. **Leroy F. et De Vuyst L, 2007.** Bacteriocins from lactic acid bacteria: production, purification, and food applications. Mol. Microbiol. Biotechnol. **13**, 194-199.
26. **Lucrecia L Chaillou, Monica A Nazareno, 2009.** Bioactivité of propolis from Santiago del Estro, Argentina, related to their chemical composition. Food Science and Technology: **42**, 1422 – 1427.
27. **Marchenay P, Bérard L. 2007.** *L'homme, l'abeille et le miel* Edition De Borée 223p.
28. **Marcucci M, 1995.** Propolis: chemical composition, biological properties and therapeutic activity. Apidologie, **26**, 83 – 99.
29. **Mizuno M, Iinuma M, et Kato. H, 1987.** Useful ingredients and biological activity of propolis. Fragrance Journal **15(2)**, 20-28.
30. **Neumann D, Gotze G, et Binus W, 1986.** Clinical study of the testing of the inhibition of plaque and gingivitis by propolis. Stomatologie der DDR: 677-681.
31. **Novel, G. 1993.** Les bactéries lactiques. Dans : Microbiologie industrielle, les microorganismes d'intérêt industriel. Leveau, J.Y, Bouix, M., Tech. et Doc. Lavoisier Paris, pp: 170-374.
32. **Patterson C.A, 2008.** Probiotiques : bienfaits au-delà des fonctions nutritionnelles de base. AAFC.1-4.
33. **Peterson. 2005.** Anti-HIV-1 activity of propolis in CD4+ lymphocyte and microglial cell cultures. Journal of Ethnopharmacology **102** (2005), 158–163.
34. **Pilet M.F, Magras C, Federigh M, 2005.** Bactéries lactiques. In: bactériologie alimentaire (Federighi M.). 2e Ed., Economica. Paris. 219-240.
35. **Pot B, 2008.** The taxonomy of lactic acid bacteria. In: Bactéries lactiques de la génétique aux ferments (Corrieu G. et Luquet F.M.). Tec & Doc, Lavoisier. Paris.1-106.
36. **R. Krell, 1996.** Value - added products from beekeeping. Food and agriculture organization of the United Nations Rome. Chapitre 5.
37. **Ricardo O. Orsi, José M Sforcin, Silvia R C Funari, Vassya Bankova, 2005.** Effect of Brazilian and Bulgarian propolis on bactericidal activity of macrophages against Salmonella Typhimurium. International Immunopharmacologie **5**, 359 – 368.
38. **Robin J.M. et Rouchy A, 2001.** Les probiotiques. CEDN. Nutrithérapie. Info.1-4.
39. **Rokka S. et Rantamaki P, 2010.** Protecting probiotic bacteria by microencapsulation: challenges for industrial applications. Eur. Food Res. Technol. **213**, 1-12.
40. **Ruttner F, 1968.** 1. Systématique I. Systématique du genre Apis in Chauvin et al. Traité de biologie de l'abeille Edition Masson & Cie, Paris.

41. **Ryeon Ahn et Shuichi Fukumoto, 2008.** Plant origin of Okinawa propolis: honeybee behaviour observation and phytochemical analysis. *Naturwissenschaften* (2008) **95**:781–786.
42. **S. Buratti, S. Benedetti., M. S. Cosio. 2007.** Evaluation of the antioxidant power of honey, propolis and royal jelly by amperometric flow injection analysis. *Talanta* **71**, 1387- 1392.
43. **Salminen S, Gorbach S, Lee Y.K. et Benno Y, 2004.** Human studies on probiotics: what is scientifically proven today. In : *Lactic acid bacteria: microbiological and functional aspects* (Salminen S., Wright A.V. et Ouwehand A.). 3e Ed., Marcel Dekker, Inc. New York. 515-530.
44. **Scazzocchio F, D’Auria, F.D, Alessandrini, D. & Pantenella, F. 2006.** Multifactorial aspects of antimicrobial activity of propolis. *MicrobiologicalResearch* **161**, 327-333.
45. **Schleifer K.H, 1986.** Recent changes in the taxonomy of lactic acid bacteria. *FEMS Microbiol. Letters.* **46**: 201-203.
46. **Shigenori Kumazawa, Tomoka Hamasaka,2004.** Antioxidant activity of propolis of various geographic origins. *Food Chemistry.* **84**: 329-339.
47. **Shiva Mohammadzadeh, Mohammad Shariatpanahi, Manoochehr Hamedi, Reza Ahmadvani, Nasrin Samadi, Seyed Nasser Ostad, 2007.** Chemical composition, oral toxicity and antimicrobial activity of Iranian propolis. *Science direct. Food Chemistry* **103**,1097–1103.
48. **Sibel Silici, Mehmet Unlu, Gülhan Vardar-Ünlü, 2007.** Antibacterial activity and phytochemical evidence for the plant origin of Turkish propolis from different regions. *World J Microbiol Biotechnol* **23**,1797–1803.
49. **Tamime A.Y, 2002.** Microbiology of starter cultures. In: *Dairy microbiology handbook* (Robinson R.K.). 3e Ed., John Wiley and Sons, Inc., New York. 261-366.
50. **Tosi Enzo A, Ciappini Maria, C Cazzolli, Ampelio F, Tapiz, Luis M, 2006 .** Physico chemical characteristics of propolis collected in Santa Fe (Argentina). *APIACTA* **41**, 110-120.
51. **Vásquez , A, Olofsson, T.C. and D. Sammataro, 2009.** A scientific note on the lactic acid bacterial flora discovered in the honey stomach of Swedish honeybees. *Apidologie*, **40**, 26-28.



Remerciements

Avant tout nous remercions "Allah" tout puissant qui nous a donné le courage, la volonté et la force pour accomplir ce modeste travail. Merci de nous avoir éclairé le chemin de la réussite.

Nos remerciements s'adressent à tous les membres du jury pour l'honneur qu'ils nous font en acceptant de juger notre travail.

*Nous remercions sincèrement notre promoteur **Mr BELHADJ Mohamed** qui nous a fait l'honneur de diriger notre mémoire, pour son soutien et ses encouragements dans la réalisation et la concrétion de cette thèse.*

*Nous exprimons nos profonds remerciements à Monsieur **MERIBAI A** pour l'aide compétente qu'il nous a apportée, pour ses conseils et son encouragement.*

Nous adressons aussi nos sincères remerciements à l'ensemble des enseignants de l'université de Bordj Bou Arreridj qui ont contribué à notre formation.

En définitive, nous remercions toute personne qui a participé de près ou de loin, de façon directe ou indirecte, à la réussite de ce travail pour lequel nous avons tant consacré en y mettant aussi tout notre cœur.

Nassima & Hanane

Résumé

Le présent travail est une contribution à la recherche des probiotiques (les lactobacilles et lactocoques) dans les produits de l'apiculture notamment la propolis (fraîche et commercialisée).

Et pour faire nous avons procédé à la recherche et au dénombrement des bactéries probiotiques par la technique de l'ensemencement en surface sur milieu solide (MRS et M17) à des températures d'incubation de 30°C et 37°C. Les résultats de dénombrement obtenus montre de grande variation entre les différents échantillons analysés ; ainsi les échantillons frais contenaient une forte charge bactérienne par rapport aux échantillons commercialisées arrivant jusqu'à 183 UFC/g. le produit importé (l'échantillon1) contient une quantité plus important que le produit locale (l'échantillon 2).

MOTS-CLÉS : Apiculture, Propolis, probiotiques, lactobacilles, Lactocoques.

الملخص

هذا العمل هو المساهمة في البحث عن البروبيوتيك (lactobacilles و Lactocoques) في منتجات تربية النحل بما في ذلك العكبر (الطازجة و المسوقة). و لذلك اجرينا البحث و تعداد بكتيريا بروبيوتيك في وسط صلب (MRS و M17 في درجات حرارة 30°C و 37°C. أظهرت نتائج التعداد تباين كبير بين العينات التي تم تحليلها و احتوت العينات الطازجة على عدد كبير من الحمل البكتيري مقارنة بالعينات المسوقة وصلت الى 183 UFC/g. المنتج المستورد (عينة1) يحتوي على كمية اكبر من المنتج المحلي (عينة2) .

كلمات المفاتيح : تربية النحل، العكبر، البروبيوتيك، lactobacilles, Lactocoques .