

Résumé

Quatre extraits éthanoliques de la propolis (EEP) récoltés dans différentes régions du Maroc : EEP₁ (Agadir), EEP₂ (Marrakech), EEP₃ (Rabat), EEP₄ (Settat), ont été préparés premièrement, pour évaluer leurs compositions chimiques (Dosage des poly phénols et flavonoïdes) et deuxièmement pour étudier leurs activités biologiques.

L'optimisation de la technique d'extraction de la propolis marocaine a révélé que le rendement d'extraction des composés de la propolis est conditionné par la matrice de solvant, le temps d'extraction et l'origine de la propolis.

Les teneurs totales en flavonoïdes et en polyphénols des extraits d'échantillons de propolis varient entre $12,13 \pm 0,29$ et $91,48 \pm 1,47$ (mg QE / g) et $77,89 \pm 1,91$ et $241,66 \pm 2,84$ (mg GAE / g) respectivement.

Tous les échantillons de la propolis ont montré des activités antioxydantes (DPPH et FRAP) relativement fortes, qui étaient corrélés avec la concentration totale en polyphénols et en flavonoïdes.

Le dosage de certains minéraux (Ca^{++} , Mg^{++} , Na^+ , K^+) des extraits éthanoliques de la propolis Marocaine a été réalisé, les valeurs obtenues varient entre 19 mg / 100 g et 48 mg / 100g pour le calcium et entre 8 mg / 100 g et 15 mg / 100 mg pour le sodium.

L'activité antibactérienne est très importante pour les quatre extraits *vis-à-vis* des bactéries Gram positif (*Staphylococcus aureus*), alors qu'elle est assez importante *vis-à-vis* des bactéries Gram négatif (*Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*), par contre, les extraits n'ont montré aucune activité *vis-à-vis* de *Pseudomonas aeruginosa*, souche qui provient d'une infection nosocomiale. Les extraits ont montré aussi une activité antifongique *vis-à-vis* de *Candida albicans*. On a remarqué que l'activité antimicrobienne dépend essentiellement de la concentration en polyphénols et flavonoïdes de la propolis.

En comparant les résultats obtenus selon les régions, nous avons constaté que les extraits de la propolis de la région de Rabat et d'Agadir ont révélé des activités antioxydantes et antimicrobiennes plus importantes par rapport aux extraits de la propolis des régions de Marrakech et de Settat.

Mots clés : Propolis Marocaine, Polyphénols, Flavonoïdes, Optimisation, Antioxydante, Antimicrobienne

Contribution à l'étude de l'activité anti oxydante et anti microbiennede
la propolis d'origine marocaine

Année : 2020-2021
Biologie – Santé - Environnement

Abdelati
OUAMANI

N° d'ordre :



Université Hassan 1^{er}
Centre d'Études Doctorales
Des sciences techniques et sciences
médicales



Faculté des Sciences et Techniques
Settat

THÈSE DE DOCTORAT

Pour l'obtention de grade de Docteur en Biologie
Formation Doctorale: Biologie, Santé et environnement
Spécialité: Microbiologie

Sous le thème

**Contribution à l'étude de l'activité anti oxydante et anti microbienne
de la propolis d'origine marocaine**

Présentée par :

Abdelati OUAMANI

Soutenue le : 20 / 12/ 2021

**A la Faculté des Sciences et Techniques de Settat
Devant le jury composé de :**

| | | | |
|--------------------------|-----|----------------------------|--------------------|
| Pr Bouchaib BENCHARKI | PES | FST - Settat | Président |
| Pr Abdellah. EI KANOUNI | PES | FS - Ben M'Sik- Casablanca | Rapporteur |
| Pr Abderrahmane MOUJAHID | PES | FST - Settat | Rapporteur |
| Pr Omar CHARAFEDDINE | PES | FST - Mohammedia | Rapporteur |
| Pr Jamal MOUSLIM | PES | FS - Ben M'Sik- Casablanca | Examineur |
| Pr Said BOUGHRIBIL | PH | FST - Mohammedia | Examineur |
| Pr Khadija DARI | PES | FST - Settat | Co-Encadrant |
| Pr Lahoucine HILALI | PES | FST - Settat | Directeur de thèse |

Année : 2020 - 2021

Dédicaces

A la mémoire de mon cher Père

J'aurais aimé que vous soyez présents, que dieu ait votre âme dans sa sainte miséricorde.

A la mémoire de mon cher bébé Ahmed

Ta disparition m'a beaucoup fait mal, j'aimerais bien que tu sois fier de ton papa. Que dieu te bénisse mon fils.

A la mémoire de ma très chère Mère,

Je vous dédie ce travail en témoignage de ma profonde affection et amour envers vous, Source inépuisable de tendresse, de patience et de sacrifice. Tes prières et la bénédiction m'ont été d'un grand secours tout au long de ma vie, que dieu ait votre âme dans sa sainte miséricorde.

A ma très chère épouse Amina,

Aucune dédicace ne pourrait exprimer mon amour et mon attachement pour toi. Depuis que je t'ai connu, tu n'as cessé de me soutenir et de m'épauler, tu me voulais toujours le meilleur. Merci beaucoup.

A ma très chère Fille Ghita

Avant même que mes yeux ne te voient ma chérie, mon amour et mon affection pour toi n'ont pas cessé de s'accroître de jour en jour. Ton sourire illumine ma vie et la rend plus joyeuse et pleine de sens.

A mes frères, Hicham & Soufien,

En témoignage de mon affection fraternelle, de ma profonde tendresse et reconnaissance, je vous souhaite une vie pleine de bonheur et de succès et que Dieu, le tout puissant, vous protège et vous garde.

**A tous mes enseignants du primaire au
postuniversitaire, A mes confrères et consœurs,**

A toute ma famille

Remerciements

Je tiens à remercier vivement mon directeur de thèse le Pr. Lahoucine HILALI, pour la confiance qu'il m'a témoigné en acceptant la direction scientifique de cette thèse. Je lui suis reconnaissant de m'avoir fait bénéficier tout au long de ce travail de sa grande compétence, de sa rigueur intellectuelle, de son dynamisme, pour la confiance accordée, pour la liberté qu'il m'a laissée pour la réalisation de ce projet et de son efficacité certaine que je n'oublierai jamais.

Je tiens à remercier également Pr Khadija DARI, Professeur chercheur à la Faculté des Sciences et Techniques de Settat (FSTS) pour l'encadrement durant ces années de doctorat pour la confiance qu'elle m'a apporté tout au long de ce travail, pour sa disponibilité, son soutien et son aide inestimable,

Je remercie également très chaleureusement le Pr. Bouchaib BENCHARKI directeur de Laboratoire d'Agro-Alimentaire et Santé au sein de la Faculté des Sciences et Technique de Settat, pour ses conseils avisés, également pour sa rigueur et ses connaissances pointues dans le domaine de la biologie. Merci pour sa présence dans les moments les plus difficiles et pour son soutien et ses encouragements sans faille au long de ces années.

J'exprime toute ma profonde gratitude au Professeur Jamal NAJA Doyen de la Faculté des Sciences et Technique de Settat et à tous les honorables enseignants de la Faculté des Sciences et Techniques de Settat, plus particulièrement, les membres du laboratoire de l'agro-alimentaire et santé.

Je voudrais sincèrement remercier tous les membres du jury : tout d'abord, Pr Omar CHARAFEDDINE PES à la faculté des sciences et technique de Mohammedia, Pr Abdellah. El KANOUNI PES à la faculté des sciences - Ben M'Sik- Casablanca et Pr Abderrahmane MOUJAHID PES à la faculté des sciences et technique - Settat qui me font l'honneur et le plaisir d'être rapporteurs de mon travail de thèse, puis le Pr Jamal MOUSLIM PES à la faculté des sciences - Ben M'Sik- Casablanca et le Pr Said BOUGHRIBIL PH à la faculté des sciences et technique de Mohammedia qui ont accepté de juger mes travaux en qualité d'examineurs.

D'autres personnes, en dehors du laboratoire, m'ont également aidé et ont participé à cette thèse. Je remercie sans limites les apiculteurs qui m'ont fournis des échantillons de la propolis, je les remercie pour leur générosité et leur coopération pour réaliser ce travail.

Résumé

Quatre Extraits Ethanoliques de la Propolis (EEP) récoltés dans différentes régions du Maroc : EEP₁ (Agadir), EEP₂ (Marrakech), EEP₃ (Rabat), EEP₄ (Settat), ont été préparés premièrement, pour évaluer leurs compositions chimiques (Dosage des polyphénols et flavonoïdes) et deuxièmement pour étudier leurs activités biologiques.

L'optimisation de la technique d'extraction de la propolis marocaine a révélé que le rendement d'extraction des composés de la propolis est conditionné par la matrice du solvant, le temps d'extraction et l'origine de la propolis.

Les teneurs totales en flavonoïdes et en polyphénols des extraits d'échantillons de propolis varient entre $12,13 \pm 0,29$ et $91,48 \pm 1,47$ (mg QE / g) et $77,89 \pm 1,91$ et $241,66 \pm 2,84$ (mg GAE / g) respectivement.

Tous les échantillons de la propolis ont montré des activités antioxydantes (DPPH et FRAP) relativement fortes, qui étaient corrélés avec la concentration totale en polyphénols et en flavonoïdes.

Le dosage de certains minéraux (Ca^{++} , Mg^{++} , Na^+ , K^+) des extraits éthanoliques de la propolis Marocaine a été réalisé, les valeurs obtenues varient entre 19 mg / 100 g et 48 mg / 100 g pour le calcium et entre 8 mg / 100 g et 15 mg / 100 mg pour le sodium.

L'activité antibactérienne est très importante pour les quatre extraits *vis-à-vis* des bactéries Gram positif (*Staphylococcus aureus*), alors qu'elle est assez importante *vis-à-vis* des bactéries Gram négatif (*Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*), par contre, les extraits n'ont montré aucune activité *vis-à-vis* de *Pseudomonas aeruginosa*, souche qui provient d'une infection nosocomiale. Les extraits ont montré aussi une activité antifongique *vis-à-vis* de *Candida albicans*. On a remarqué que l'activité antimicrobienne dépend essentiellement de la concentration en polyphénols et flavonoïdes de la propolis.

En comparant les résultats obtenus selon les régions, nous avons constaté que les extraits de la propolis de la région de Rabat et d'Agadir ont révélé des activités antioxydantes et antimicrobiennes plus importantes par rapport aux extraits de la propolis des régions de Marrakech et de Settat.

Mots clés : Propolis Marocaine, Polyphénols, Flavonoïdes, Optimisation, Antioxydante, Antimicrobienne

Abstract

Four ethanolic extracts of propolis (EEP) collected in different regions of Morocco: EEP₁ (Agadir), EEP₂ (Marrakech), EEP₃ (Rabat), EEP₄ (Settat), were prepared first, to evaluate their chemical compositions (Dosage of poly phenols and flavonoids) and secondly to study their biological activities.

The optimization of the Moroccan propolis extraction technique revealed that the extraction yield of propolis compounds is conditioned by the solvent matrix, the extraction time and the origin of the propolis.

The total contents of flavonoids and polyphenols in extracts of propolis samples vary between 12.13 ± 0.29 and 91.48 ± 1.47 (mg QE / g) and 77.89 ± 1.91 and $241, 66 \pm 2.84$ (mg GAE / g) respectively.

All the propolis samples showed relatively strong antioxidant activities (DPPH and FRAP), which were correlated with the total concentration of polyphenols and flavonoids.

The dosage of certain minerals (Ca⁺⁺, Mg⁺⁺, Na⁺, K⁺) of the ethanolic extracts of Moroccan propolis was carried out, the values obtained varied between 19 mg / 100 g and 48 mg / 100 g for calcium and between 8 mg / 100 g and 15 mg / 100 mg for sodium.

The antibacterial activity is very important for the four extracts vis-à-vis Gram positive bacteria (*Staphylococcus aureus*), while it is quite important vis-à-vis Gram negative bacteria (*Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*), for against the extracts showed no activity against *Pseudomonas aeruginosa*, a strain that originates from a nosocomial infection. The extracts also showed antifungal activity against *Candida albicans*. It has been observed that the antimicrobial activity depends mainly on the concentration of polyphenols and flavonoids.

By comparing the results obtained according to the regions, we found that the extracts of propolis from the region of Rabat and Agadir revealed more important anti-antioxidant and antimicrobial activities by contribution to the extracts of propolis from the regions of Marrakech and Settat.

Keywords: Moroccan Propolis, Polyphenols, Flavonoids, Optimization, Antioxidant, Antimicrobial.

Sommaire

| | |
|--|----|
| Dédicaces | |
| Remerciement | |
| Résumé | |
| Abstract | |
| Sommaire | |
| Liste des tableaux | |
| Liste des figures | |
| Avant-propos | |
| <hr/> | |
| Introduction générale..... | 1 |
| Chapitre I: Etude bibliographique | 5 |
| 1. Filière Apicole au Maroc | 6 |
| 2. Définition de la propolis | 7 |
| 3. Histoire | 8 |
| 4. Propriétés organoleptiques et physiques de la propolis | 8 |
| 4.1. Caractéristiques organoleptiques | 8 |
| 4.2. Caractéristiques physiques | 9 |
| 5. Composition chimique de la propolis..... | 9 |
| 6. Propriétés de la propolis | 14 |
| 6.1. Activité antibactérienne de la propolis | 14 |
| 6.2. Activité antifongique de la propolis | 15 |
| 6.3. Activité antiparasitaire de la propolis..... | 16 |
| 6.4. Activité antivirale | 16 |
| 6.5. Activité antioxydante de la propolis | 17 |
| 6.6. Activité antitumorale de la propolis | 18 |
| 6.7. Activité hépato protectrice de la propolis | 18 |
| 6.8. Activité anti-inflammatoire de la propolis..... | 19 |
| 6.9. Autres activités | 19 |
| 7. Intérêt de la propolis | 19 |
| 7.1. Utilisation de la propolis par les abeilles | 19 |
| 7.2. Utilisation de la propolis par l'Homme | 20 |
| 7.3. Récolte par les abeilles | 20 |
| 7.4. Récolte par l'Homme | 21 |
| 7.5. Quantités..... | 23 |
| 8. Source botanique et géographique de la propolis au niveau mondiale | 23 |
| 9. Source botanique et géographique de la propolis Marocaine..... | 24 |
| 10. Les avancés de recherche sur la propolis au Maroc..... | 26 |
| Chapitre II : Matériel et Méthodes..... | 27 |
| 1. Evaluation des informations des apiculteurs et consommateurs en matière de la propolis | 28 |
| 1.1. Enquête sur l'évaluation des informations des apiculteurs | 28 |
| 1.2. Enquête sur la collecte des données auprès des consommateurs de la propolis Marocaine.. | 28 |
| 2. Optimisation de l'extraction de la propolis marocaine | 28 |
| 2.1. Echantillonnage et collecte de la propolis..... | 28 |

| | | |
|---|--|-----------|
| 2.2. | Préparation des extraits | 29 |
| 3. | Détermination des concentrations de certains minéraux des extraits éthanoliques de la propolis Marocaine | 30 |
| 4. | Quantification de quelques composés principaux de la propolis | 30 |
| 4.1. | Dosage des polyphénols totaux..... | 30 |
| 4.2. | Dosage des flavonoïdes | 31 |
| 5. | Evaluation de l'activité antioxydante de la propolis marocaine | 31 |
| 5.1. | Activité antiradicalaire de la propolis par le test de DPPH | 31 |
| 5.2. | Détermination du Pouvoir Réducteur de la propolis par le test de FRAP | 32 |
| 6. | Etude de l'activité antimicrobienne de la propolis marocaine..... | 33 |
| 6.1. | Evaluation de l'activité antibactérienne | 33 |
| 6.2. | Activités antifongiques | 35 |
| 7. | Analyses statistiques | 36 |
| Chapitre III : Résultats Et Discussion | | 38 |
| 1 | Evaluation des informations des apiculteurs et consommateurs en matière de la propolis | 40 |
| 1.1. | Résultats | 40 |
| 1.2. | Discussion | 41 |
| Partie II | | |
| 2. | Optimisation de l'extraction de propolis collectée dans différentes régions du Maroc | 43 |
| 2.1. | Résultats | 43 |
| 2.2. | Discussion | 47 |
| Partie III | | |
| 3. | Quantification de quelques composés principaux de la propolis et l'étude de l'activité antioxydante | 50 |
| 3.1. | Résultats | 50 |
| 4. | Activité antioxydante et corrélation avec les teneurs en phénols et flavonoïdes | 51 |
| 4.1. | Résultats | 51 |
| 4.2. | Discussion | 57 |
| Partie IV | | |
| 5. | Activité antibactérienne et antifongique de la propolis collectée dans quatre régions du Maroc..... | 61 |
| 5.1. | Résultats | 61 |
| 5.2. | Discussion | 66 |
| Conclusion général..... | | 71 |
| Perspectives | | 73 |
| Production scientifique..... | | 74 |
| Papier en cours..... | | 74 |
| Communications orales et poster | | 74 |
| Références | | 75 |
| Annexe..... | | 91 |

Liste des tableaux

| | |
|--|----|
| Tableau 1: Composition brute de la propolis | 11 |
| Tableau 2: Activité antibactérienne des certains composants de la propolis vis à via quelques microorganismes..... | 15 |
| Tableau 3: Effets de la propolis contre les micro-organismes pathogènes et virus..... | 17 |
| Tableau 4: Source botanique et géographique de la propolis au niveau mondiale..... | 23 |
| Tableau 5: Source botanique et géographique de la propolis Marocaine | 25 |
| Tableau 6: Signification des facteurs (extrait/solvant et temps d'extraction) sur l'IC ₅₀ , la teneur en polyphénol et le rendement | 43 |
| Tableau 7: Effet de différents temps d'extractions sur le rendement de l'extrait éthanolique des différentes propolis | 44 |
| Tableau 8: Effet des solvants sur le rendement de la propolis prélevées dans différentes régions marocaines | 46 |
| Tableau 9: Teneur totale en polyphénols et en flavonoïdes des différents extraits éthanoliques de la propolis..... | 50 |
| Tableau 10: Corrélation entre teneur en polyphénols, teneur en flavonoïde et I % des différents extraits éthanoliques de propolis..... | 53 |
| Tableau 11: Activité antioxydante et composition des extraits éthanoliques de la propolis Marocaine | 55 |
| Tableau 12: Zone d'inhibition (mm) de la croissance bactérienne par différentes concentrations d'extrait éthanolique de propolis marocaine | 62 |
| Tableau 13: Concentration minimale inhibitrice et bactéricide de différentes concentrations d'extrait éthanolique de la propolis marocaine | 64 |
| Tableau 14: Valeurs des rapports CMB/CMI des extraits éthanoliques de la propolis Marocaine | 65 |
| Tableau 15: Zone d'inhibition (mm) de la croissance fongique (<i>Candida albicans</i>) par différentes concentrations d'extrait éthanolique de propolis marocaine..... | 66 |
| Tableau 16: Concentration minimale inhibitrice et fongicide de différentes concentrations d'extrait éthanolique de propolis marocaine vis-à-vis le <i>Candida albicans</i> | 66 |

Liste des figures

| | |
|---|----|
| Figure 1 : Propolis..... | 9 |
| Figure 2 : Raclage de propolis sur les flancs de la ruche..... | 21 |
| Figure 3 : Propolis de la région de Marrakech récoltée par la méthode de grattage..... | 22 |
| Figure 4 : Grille de la récolte de la propolis..... | 22 |
| Figure 5 : Propolis de la région de Rabat récoltée par la méthode de la grille..... | 22 |
| Figure 6 : Quelques plantes source de la propolis au Maroc..... | 24 |
| Figure 7 : Résine secrétée par le tronc du Pin..... | 25 |
| Figure 8 : Diagramme des étapes d'extraction de la propolis..... | 29 |
| Figure 9 : Etapes de test DPPH..... | 31 |
| Figure 10 : Réduction du radical libre DDPH* en DDPH..... | 32 |
| Figure 11: Effet de différents solvant sur la valeur de l'IC ₅₀ de propolis prélevées dans Différentes régions marocaines..... | 45 |
| Figure 12 : Effet de différents solvants sur la valeur de l'IC ₅₀ de propolis prélevées dans différentes régionsmarocaines..... | 47 |
| Figure 13 : Courbe d'étalonnage de la solution du DPPH° | 51 |
| Figure 14 : Activité de piégeage des radicaux libres DPPH (I %) des différents extraits éthanoliques de la propolis marocaines..... | 52 |
| Figure 15 : Valeur de l'IC ₅₀ de l'acide ascorbique | 53 |
| Figure 16 : Valeurs d'IC ₅₀ des différents extraits éthanoliques de la propolis marocaines.... | 54 |
| Figure 17 : Coefficients de corrélation entre les méthodes DDPH, FRAP et les composés en polyphénols et en flavonoïdes | 56 |
| Figure 18 : Teneur en minéraux des extraits de la propolis Marocaines | 57 |
| Figure 19 : Zone d'inhibition des extraits éthanoliques de la propolis collectée de différentes régions du Maroc <i>vis-à-vis</i> l' <i>Escherichia coli</i> | 63 |
| Figure 20 : Zone d'inhibition des extraits éthanolique de la propolis Marocaine <i>vis-à-vis</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 63 |

Liste des abréviations

| | |
|-------------------------------------|--|
| µg | : Microgramme |
| Abs | : Absorbance |
| AC | : Acide ascorbique |
| ADN | : Acide désoxyribonucléique |
| Al₂Cl₃ | : Chlorure d'aluminium |
| Av | : Avant Jésus-Christ |
| BHT | : Hydroxy toluène butylé |
| CAPE | : Caffeic acid phenethyl ester |
| CMB | : Concentrations bactéricides minimales |
| CMF | : Concentration minimale fongicide |
| CMI | : Concentrations minimales inhibitrices |
| DPPH | : 1,1-diphényl-2-picryl-hydrazyle |
| <i>E. coli</i> | : <i>Escherichia coli</i> |
| EEP | : Extraits éthanoliques de la propolis |
| EP | : Extrait de la propolis |
| FRAP | : Ferric reducing-antioxydant power |
| GAE | : Gallic acid equivalents |
| H | : Heure |
| Ha | : Hectare |
| I% | : Pourcentage d'inhibition |
| IC₅₀ | : Concentration inhibitrice médiane |
| INDH | : Initiative Nationale du Développement Humain |
| <i>K. Pneumoniae</i> | : <i>Klebsiella Pneumoniae</i> |
| Min | : Minute |
| NADPH | : Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate |
| ODCO | : Office du Développement de la Coopération |
| OPAP | : Organisation professionnelle apicole |
| ORMVAG | : Office régionale de mise en valeur agricole |
| <i>P. aeruginosa</i> | : <i>Pseudomonas aeruginosa</i> |
| PMV | : Plant Maroc Vert |
| QE | : Quercétine |
| <i>S. aureus</i> | : <i>Staphylococcus aureus</i> |
| SDA | : Sabouraud dextrose Agar |

SMD : Souss Massa Deraa
UFC : Unité formant colonie
μL : Microlitre
μM : Micromole

Avant-propos

Ce travail de Thèse de Doctorat s'inscrit dans le cadre des programmes de recherche sur «Contribution à l'étude de l'activité anti oxydante et antimicrobienne de la propolis d'origine Marocaine ». Il a été conçu et réalisé au laboratoire d'Agro-Alimentaire et Santé à la Faculté des Sciences et Technique de Settat sous la direction de Professeur Lahoucine HILALI.

Introduction générale

Les produits naturels, notamment ceux d'origine végétale ont toujours été une source importante comme produits thérapeutiques. Actuellement, environ 25-30 % de tous les médicaments disponibles pour le traitement des maladies sont dérivés des produits naturels (des plantes, des animaux, des bactéries et des champignons) (Newman D.J et al. 2003).

Si l'utilisation de médicaments dérivés de produits naturels est extrêmement populaire dans le monde, il est impossible de considérer cela comme une simple mode. Cela peut être expliqué parce que notre époque est profondément marquée par la recherche d'une vie saine et d'un retour à la nature. Mais le succès de la thérapie par des produits naturels s'explique avant tout par le niveau de la maîtrise des techniques scientifiques que l'on atteint désormais dans ce domaine. L'agronomie, la chimie, la pharmacologie ont permis, en progressant, de mettre au point des formes thérapeutiques et galéniques plus sûres, plus adaptées, et plus efficaces. En effet, la recherche scientifique a tendance à se focaliser sur l'exploration de ces produits naturels qui constituent une alternative prometteuse aux anciennes substances d'origine synthétique. Ces substances représentent toujours une source extrêmement précieuse pour la production de nouvelles entités chimiques.

Face à cette situation préoccupante, d'énormes efforts sont consentis dans le domaine de la recherche médicale en vue de trouver de nouvelles molécules naturelles actives, alternatives, efficaces et non toxique (**Sforcin J. M et Bankova, 2011**).

D'autre part, l'apiculture est considérée comme une production alimentaire ubiquiste et très ancienne. Les exemples des cueilleurs de miel que l'on retrouve en Afrique, en Asie, en Amérique et, dans une moindre mesure, en Europe, sont le signe d'une grande ancienneté des usages humains du miel (**Jacques Barra.,1985**).

En raison de sa diversité floristique, faunistique et paysagère importante, le Maroc est doté d'un potentiel apicole important et unique, lui conférant une grande originalité qui en fait l'une des régions les plus intéressantes sur le plan biologique et biogéographique (Ministère de l'Environnement, 1997).

L'apiculture au Maroc est consacrée principalement à la production de miel où se côtoient méthodes modernes et artisanales avec une estimation de la production annuelle de miel d'environ 2500 à 3500 tonnes (**Département de l'Agriculture, Maroc, 2016**). Le département de l'Agriculture, qui déploie des efforts importants pour moderniser la filière,

estime que la production pourrait atteindre 16000 tonnes à l'horizon 2021 (Département de l'Agriculture, Maroc, 2016). En plus, il encourage la production et la commercialisation des autres produits de la ruche.

La propolis est l'un des six produits de la ruche avec le miel, la gelée royale, le pollen, la cire et le venin d'abeille. La propolis est collectée par les abeilles ouvrières, à partir de nombreuses sécrétions résineuses végétales (**Ciftci-Yilmaz et al., 2017**) telles que le mucilage, les gencives, les résines (**Bankova, 2005**) et les écorces et également à partir de bourgeons foliaires (**AbdEl Hady and Hegazi, 2002**) de différentes espèces végétales comme le palmier, le pin, l'aulne, le peuplier, le hêtre, le conifère et le bouleau (**Zheng et al., 2017**) puis mélangée à des sécrétions salivaires et enzymatiques des abeilles (**Sforcin, 2016**).

Elle est également appelée « colle d'abeille » qui est une substance de résine naturelle (semblable à de la cire) (**Abdulrhman et al., 2012**) présente dans les ruches d'abeilles et utilisée par les abeilles comme matériau de cimentation pour fermer les espaces ouverts et les fissures apparaissant dans leurs ruches (**Viuda-Martos et al., 2008**) (**Wagh, 2013**).

Les abeilles utilisent la propolis non seulement pour protéger leurs ruches, en bloquant les fissures, en scellant les espaces et en lissant les parois internes de leurs ruches, mais elles l'utilisent également comme antiseptique (**Shouqin et al., 2005; Seidel et al., 2008**) pour protéger les larves d'abeilles et conserver le miel et le peigne contre les infections microbiennes (**Drescher et al., 2017**).

De plus, il est également utilisé par les abeilles mellifères pour empêcher la décomposition de la carcasse de l'intrus dans les ruches (**Shinohara et al., 2002**) et pour maintenir la température interne de la ruche (**Moreira et al., 2008**) vers 35°C (**Pasupuleti et al., 2017**). De même, la propolis empêche l'entrée de l'eau dans la ruche qui maintient une humidité constante et sert également de contrôle sur le flux d'air vers la ruche (**Kuropatnicki et al., 2013**).

Actuellement, de nombreuses études sont consacrées à la propolis, source importante de composés phénoliques, notamment les flavonoïdes; divers substances de propolis récoltées de différentes régions du monde ont été identifiées, dont les acides phénoliques, les flavones, les flavonols et les flavanones qui marquent leur présence permanente (éléments standards de la propolis). En outre, les activités antimicrobiennes de la propolis ont généralement été attribuées aux flavonoïdes, bien que d'autres composants présents dans les propolis puissent également présenter des actions inhibitrices contre les microorganismes (**Banskota et al., 2001**). En plus de son activité antimicrobienne, d'autres propriétés biologiques et pharmacologiques ont également été attribuées à la propolis, y compris les activités anti-

inflammatoire, anti-viral (**Sforcin, 2016**), anti-oxydante, anti protozoaire, anesthésique, anti-tumorale, anti-cancer, anti-fongique (**Rajpara et al., 2009**), antiseptique, antimutagène, anti-hépatotoxique et en plus elle est utilisée pour l'activité cytotoxique, etc. (**Toreti et al., 2013**).

De nombreuses études ont montré que la composition de la propolis dépend de la région d'origine et surtout, de la végétation qui se situe à l'endroit de son origine. Cela signifie que le produits diffèrent les uns des autres non seulement par leur composition, mais également par leurs propriétés (**Kędzia, 2009 ; Gregoris, E and Stevanato, 2010**). La propolis a récemment regagné de l'intérêt en tant que produit alimentaire naturel à Taiwan, au Brésil, en Europe et aux États-Unis, contre le cancer, du diabète, des maladies cardiovasculaires et inflammatoires (**Akao et al., 2003**).

Cependant, au Maroc, la propolis reste un produit peu connu et moins utilisé en thérapie traditionnelle en comparaisant avec le miel qui est largement connu pour son utilisation. L'une des rares études impliquant des extraits de la propolis ont porté sur l'évaluation *in vitro* et *in vivo* des propriétés anticancéreuses (**Mouse et al., 2012**) et dernièrement une étude publiée en 2019 sous le thème : Propriétés pharmacologiques et caractérisation phytochimique de la propolis et gelée Royale (**El- Guendouz Soukaina et al., 2019**).

S'intéressant à ce sujet, Il s'est avéré difficile de trouver des données et des statistiques sur la propolis marocaine pour mener une analyse approfondie. Les données sont éparpillées, insuffisantes voire absentes. En outre, les publications scientifiques concernant la propolis marocaine sont peu nombreuses. Mais, c'est justement cette contrainte qui a motivée la conduite de ce travail pour valoriser la propolis marocaine tant qu'un produit naturel qui peut être utilisé dans plusieurs domaines comme le domaine médicale et industriel.

L'objectif principal de notre thèse est d'étudier la composition chimique, d'évaluer les propriétés antioxydantes et de tester l'activité antimicrobienne de quatre extraits éthanoliques de la propolis obtenus à partir de quatre régions du Maroc (Agadir, Rabat, Settat et Marrakech) et d'exploiter ses vertus. Cet objectif principal a été motivée par :

- La volonté de valoriser un sous-produit de la ruche ;
- La nécessité d'analyser la propolis Marocaine, et d'établir son activité biologique : anti-oxydante et antimicrobienne ;
- L'amélioration de l'utilisation de la propolis ;
- La mise à disposition auprès des populations d'un produit naturel avec une activité thérapeutique inestimable ;

La recherche s'organise en trois grands chapitres :

Chapitre 1 : Etude bibliographique : Analyse des données de la littérature sur : l'industrie apicole au Maroc, l'histoire de la propolis, sa composition chimique, ainsi que les avantages qui peuvent découler de son utilisation par l'Homme.

Chapitre 2 : Matériel et méthodes

Dans ce chapitre on a étudié les éléments suivants:

- Evaluation des informations des apiculteurs et consommateurs en matière de la propolis.
- Optimisation des techniques d'extraction de la propolis Marocaine.
- Détermination des concentrations de certains minéraux des extraits éthanoliques de la propolis Marocaine.
- Quantification de quelques composés principaux de la propolis.
- Evaluation de l'activité antioxydante de la propolis marocaine par deux méthodes (DPPH et FRAP).
- Etude de l'activité antibactérienne et antifongique de la propolis collectée dans quatre régions du Maroc

Chapitre 3 : Résultats et discussion

Enfin, nous réaliserons une conclusion générale et des perspectives de recherches sur la propolis marocaine.

Chapitre I:
Etude bibliographique

1. Filière Apicole au Maroc

Avant de commencer nos recherches sur la propolis, il s'est avéré nécessaire de collecter un ensemble de données sur la filière apicole au Maroc. En effet et en raison de sa diversité floristique, faunistique et paysagère importante, le Maroc est doté d'un potentiel apicole important et unique donnant ainsi un caractère spécial à cette filière agricole. Afin de moderniser la filière, le Gouvernement déploie, à travers le Plan Maroc Vert (PMV), des efforts importants et mobilise les moyens nécessaires pour atteindre une production de 16000 tonnes à l'horizon de l'an 2021 (Moujanni et al., 2017).

L'importance de cette filière réside également dans son rôle socio-économique de lutte contre la pauvreté et source d'approvisionnement du marché domestique. Sur le plan écologique, l'abeille est décisive voire vital au niveau de la pollinisation des espèces végétales, ce qui permet d'assurer la diversité biologique et la pérennité des espèces végétales.

Au Maroc, trois races d'abeilles prédominent : Deux de couleurs noires «*Apis mellifica intermissa dite tellienne & Apis mellifica major* » qui représentent les 2/3 des colonies marocaines et une de couleur jaune d'or «*Apis mellifica sahariensis* ». Cette dernière se caractérise par sa parfaite adaptation aux conditions dures et chaudes des régions arides du sud de Maroc. Toutefois, cette race semble être en voie de disparition car elle est soumise à des contraintes naturelles qui la menacent (sécheresse, baisse du nombre de colonies, etc.) (Département de l'Agriculture, Maroc., 2016).

Quant au mode d'élevage apicole au Maroc, il est classé globalement en deux types :

Traditionnel (à travers le recours à un savoir transmis et complété depuis des générations au sein d'un ensemble social et culturel particulier) et moderne (qui obéit à un seul et même protocole technique standardisé).

Avant 2010, l'apiculture marocaine était marquée par la prédominance du secteur traditionnel qui représentait près de 70 % de la filière. Cependant, entre 2005 et 2013, les ruches modernes ont subi une évolution par l'utilisation des techniques modernes.

Globalement, la production de miel a atteint 7430 tonnes en 2018 contre 4400 tonnes en 2008. Sur le plan de l'évolution des indicateurs de performance de l'apiculture marocaine, la tendance est légèrement haussière pour le nombre d'apiculteurs, alors que le nombre de ruche connaît une linéarité plus au moins stable (aux alentours de 400000 ruches). La production de miel, par contre, a connu des fluctuations entre hausse, stagnation et baisse durant les dernières quinze années. Concernant la consommation de miel, il est à noter qu'elle s'est améliorée à 250

g / hab / an enregistrée en 2018 contre 200 g / hab / an en 2008. Le taux de couverture des besoins en miel ressort ainsi à 63 % (**Département de l'Agriculture, Maroc., 2016**).

La filière apicole est organisée en une fédération interprofessionnelle marocaine de l'apiculture qui a pour objectif de promouvoir la production de la filière. Elle rassemble des associations et des coopératives de production de miel des différentes régions du Royaume et permet aux apiculteurs d'échanger leurs expériences, de faire appel à l'expertise nationale et internationale et de renforcer leurs capacités à travers la formation.

Le Fonds de Développement Agricole (FDA) vise à promouvoir l'investissement privé dans le secteur agricole et de l'orienter, à travers des subventions et primes ciblées, vers des activités permettant une meilleure exploitation du potentiel agricole national. L'apiculture bénéficie également de ces aides puisque l'état subventionne le matériel nécessaire à la production de produits de la ruche avec un taux de subvention de 30 % sur des matériels tels que le filtre à miel, le gaufrier à cire ou encore les unités de fabrication de cire. Cette filière bénéficie également de subventions forfaitaires comme suit :

- Projet d'agrégation de l'apiculture autour d'une unité d'extraction et de conditionnement du miel (miellerie) : 7 500 dh / tonne ;
- Production des reines d'abeilles reproductrices sélectionnées : éleveurs individuels 250 dh / ruchette et 300 dh / ruchette pour les groupements d'éleveurs.

Malheureusement, les efforts de l'état marocain demeurent insuffisants pour relancer ce secteur. En effet, on est toujours face à ensemble de problème dont; la perte des colonies d'abeilles et les mauvaises pratiques apicoles.

Le sujet d'apiculture au Maroc est généralement lié à la production du miel, pourtant, une ruche est une véritable usine à trésors. Retrouvez comment se fabrique chacun des précieux produits élaborés par les abeilles dont le miel, la propolis, la cire, la gelé royale et bien d'autres sous-produits.

Jusqu'à maintenant, il n'y a pas aucunes données en ce qui concerne la production de la propolis au Maroc.

2. Définition de la propolis

Étymologiquement en Grec, le terme «propolis » signifie « PRO » (Avant, devant, ou à l'entrée de) et « POLIS » (Ville ou communauté); une substance qui est pour ou en défense de la ville ou de la ruche. « 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).

3. Histoire

Dès l'Antiquité, la propolis était employée comme moyen thérapeutique contre les affections de la peau, les plaies et les suppurations. Les égyptiens, les grecs, les romains, les mayas utilisaient les produits issus de la ruche à des fins préventives, curatives et alimentaires. La propolis était utilisée par l'Homme comme médicament traditionnel depuis 300 ans av (Trusheva et al.,2007;Seidel et al., 2008;Veiga et al., 2017). Elle a été utilisée empiriquement pendant des siècles et elle a toujours été mentionnée comme un agent immunomodulateur (Sforcin, 2016).L'histoire atteste que les Egyptiens l'ont utilisé en médecine ainsi que pour embaumer les morts (Khalil ML, 2006).

Aristote, qui a écrit six volumes sur les abeilles et leurs produits, recommande la propolis dans le traitement des plaies infectées. La propolis apparaît aussi dans les récits de la guerre des Boers sous la forme d'une préparation à la vaseline utilisée en chirurgie avec d'excellents résultats. Elle a aussi été utilisée à grande échelle par l'armée russe pendant la Seconde Guerre mondiale. Les Arabes connaissaient aussi la propolis, Avicenne a parlé de deux sortes de cire : la cire propre et la cire noire, cette dernière étant probablement la propolis. Il a dit : « Par sa forte odeur, elle fait éternuer » et «Elle a la qualité de faire éliminer les pointes des flèches et des épines, raréfie, nettoie facilement et amollit fortement» (Anjum et al., 2019).

4. Propriétés organoleptiques et physiques de la propolis

La propolis est une substance résineuse hétérogène de consistance solide qui devient friable en dessous de 15 °C et gluante et molle à haute température. Sa couleur est variable selon la situation géographique. Elle a une odeur spécifique, son goût est pimenté, et est très peu soluble dans l'eau, soluble dans l'alcool mais en fonction de la température (plus soluble à température élevée) (Alphandery R., 2002).

4.1. Caractéristiques organoleptiques

- **Couleur** :

La couleur de la propolis peut varier de jaune à brune, acajou, verdâtre, violacée parfois presque noire en fonction de son origine botanique (Kuropatnicki et al., 2013).

- **Odeur et saveur** :

Elle possède une saveur âcre, voire amère, et dégage une odeur aromatique intense, douce et plaisante liée aux résines aromatiques qu'elle renferme. (Donadieu., 2008).

4.2. Caractéristiques physiques

- Consistance et point de fusion

La propolis est un produit naturel qui a une consistance différente en fonction de la température. Pour des températures élevées entre 20 et 60 °C, elle est visqueuse, souple, et très collante; mais, lorsqu'elle est refroidie, et en particulier lorsqu'elle est congelée ou presque au point de congélation, elle devient dure et cassante. Elle deviendra liquide à 60 à 70 °C, mais pour certains échantillons, le point de fusion peut atteindre jusqu'à 100 °C. (**Kuropatnicki et al., 2013**).

- Solubilité

La propolis d'abeille est soluble de façon partielle dans l'Alcool, l'Acétone, l'Ether, le chloroforme, le benzène, le trichloréthylène etc. seul un mélange adéquat de différents solvants permet de dissoudre la quasi-totalité de ses composants. La partie insoluble est constituée de tissus végétaux, de grains de pollen, de débris de cuticule et de soie d'abeille (**Pasupuleti et al., 2017**).

- Densité

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

5. Composition chimique de la propolis

La propolis (figure 1) est un mélange complexe composé de dérivés végétaux et de composés libérés par les abeilles. Chimiquement, la propolis est composée de plus de 180 types de produits chimiques différents (**Kuropatnicki et al., 2013**) qui varient d'une saison à une autre. La propolis collectée dans les zones tempérées et tropicales est légèrement différente (**Popova et al., 2004**).



Figure 1 : Propolis (<https://fr.wikipedia.org/wiki/Propolis>)

En conséquence, plus de 300 composants différents ont été identifiés dans la propolis (**Banskota et al., 2001 ; Viuda-Martos et al., 2008; Al-Hariri, 2011; Chan et al., 2013; Drescher et al., 2017**). En général, la propolis contient du polyphénols (flavonoïdes, acides phénoliques et esters) (Król et al., 2013) aldéhydes et cétones phénoliques, des acides aliphatiques et aromatiques, des esters, de l'alcool, des terpènes et des quinones et d'autres constituants chimiques. (**Frezza et al., 2013; Elnakady et al., 2017**). On trouve aussi des oligo-éléments (argent, fer, zinc, cuivre, manganèse, calcium, aluminium), de nombreuses vitamines (B₁, B₂, B₆, C et E). (**Abbasi AJ et al., 2018**) (Tableau 1).

Tableau 1: Composition brute de la propolis

| Composition | Composants |
|---|---|
| Acides aminés | Alanine, b-alanine, acide a-amino butyrique, acide d-amino butyrique, arginine, asparagine, acide aspartique, cystine, cystéine, acide glutamique, glycine, histidine, hydroxyproline, isoleucine, leucine, lysine, méthionine, ornithine, phénylalanine, Proline, acide pyroglutamique, sarcosine, sérine, thréonine, tryptophane, tyrosine, valine (Abd El Hady and Hegazi, 2002). |
| Esters | Palmitate de méthyle, cinnamyl-trans-4-coumarate, palmitate, d'éthyle, ester méthylique d'acide stéarique, ester phtalate, benzoate de benzyle, benzyl-trans-4-coumarate, isoférule 3-méthyl-3-butényle, isoférule 3-méthyl-2-butényle, Cafféate de 3-méthyl-3-butényle, Cafféate de 2-méthyl-2-butényle, Cafféate de 3-méthyl-2-butényle, Cafféate de benzyle, Cafféate de phényléthyle, Cafféate de cinnamyle, Cafféate de tétradécyle, Cafféate de tétradécényle, Cafféate de tétradécényle (isomère) b, Cafféate de tétradécanyle, Cafféate d'hexadécyle (Abd El Hady and Hegazi, 2002). |
| Alcool, cétones, phénols et composés hétéro aromatiques | Alcool benzylique, acétate d'hexadécanol, coumarine, ptérostilbène, Xanthorrhoea, Scopoletol (Walker and Crane, 1987). |
| Terpène, Sesquiterpène, alcool et dérivés | Geraniol, Neroledol, b-bisabolol, Guaiol, Farnisol, Dihydroeudesmol, acetoxybetulenol (Walker and Crane, 1987). |

Tableau 1 (suite): Composition brute de la propolis

| | |
|---|--|
| Hydrocarbons sesquiterpéniques et triterpéniques | b-patchoulène, b-bisabolène, Squalène, b-bourbonène, Copaène, Calarène, Calamenène, Caryophyllène, Patchoulane, Selenène, Aromadendrene (Walker and Crane, 1987). |
| Stérols et hydrocarbures stéroïdes | Cholestérol, Cholestérol, Stigmastérol, b-dihydrofucostérol, Lanostérol, Cholestérol (Walker and Crane, 1987). |
| Minéraux | Sr, Ba, Cd, Sn, Pb, Ti, Ag, Co, Mo, Al, Si, V, Ni, Mn, Cr Na, Mg, Cu, Ca, Zn, Fe, K, (Khalil, 2006), (Pasupuleti et al., 2017) (Walker and Crane, 1987). |
| Enzymes | Glucose-6-phosphatase, Phosphatase acide, Adénosine tri phosphatase, Déshydrogénasesuccinique (Khalil, 2006), (Pasupuleti et al., 2017), (Walker and Crane, 1987). |
| Cétones | Acétophénone, p-acétophénolacétophénone, dihydroxy-acétophénone, méthylacétophénone, Hept-5-en-2-one, 6 méthylcétone (Marcucci, 1995a). |
| Acides cireux | Acide aride, acide béhénique, acide cérotique, acide laurique, acide linoléique, acide lignocérique, acide montanique (Marcucci, 1995a). |
| Acides aliphatiques et esters Aliphatiques | Acide acétique, acide angélique, acide butyrique, acide crotonique, acide fumarique, acide isobutyrique, acide méthylbutyrique, acétate d'isobutyle, acétate d'isopentyle, acétate d'isopentynyle (Marcucci, 1995a) |
| Alcools | Benzène méthanol, alcool cinnamylique, glycérol, a-glycérophosphate, Alcool phénylique, isobuténol, hydroquinone, alcool prénylique (Marcucci, 1995a). |

Tableau 1 (suite) : Composition brute de la propolis

| | |
|---|---|
| <p>Acides aliphatiques</p> | <p>Acidelactique, acidehydroxyacétique, acide malique, acide 5-hydroxy-n-valérique, acide 2,3-dihydroxypropanoïque, acidepentonique - 2-désoxy-3,5-dihydroxy-c-lactoneb, acidepentonique - 2-désoxy-3, 5- dihydroxy-c-lactone (isomère) b, Acidesuccinique, acide 2,3,4,5-tétrahydroxypentanoïque - 1, 4-lactone, acide 2,3,4,5- tétrahydroxypentanoïque - 1, 4-lactone (isomère) b, acidenonanoïque, acidepalmitique, acideoléique, Acidedécanoïque, acidedodécanoïque, acidetétradécanoïque, acideheptadécanoïque, acideoctadécénoïque, acidetétracosanoïque, acideeicosanoïque, acidehexacosanoïque, 2- acide hydroxy hexacosanoïque b (Abd El Hady and Hegazi, 2002).</p> |
| <p>Acides gras (acides C7-C18)</p> | <p>Acidephosphorique, 1,4-dihydroxybenzène, 4 -hydroxybenzaldéhyde, 4- hydroryacétophénone, 1,2,4-trihydroxy butane, 1,2,3 trihydroxy butanal, 1,2,3-trihydroxy butanal (isomère) b, myristicine, 2,4-bis (diméthylbenzyl) -6-t-butylphénol, 1,8-dihydrox 3-méthyl anthraquinone, myristicine (isomère) (Abd El Hady and Hegazi, 2002).</p> |

Selon Kuropatnick le pourcentage de ces substances est le suivant : Résines et baume végétal 50 %, cire d'abeille 30 %, pollen 5 %, huiles essentielles et aromatiques 10 %, et quelques autres substances qui comprennent également des composés organiques (**Kuropatnicki et al., 2013; Abdulkhani et al., 2017 ;Sabir and Sumidarti, 2017**). Le pourcentage de matériaux divers présents dans la propolis dépend du moment de sa collecte et également de l'origine géographique (**Afrouzan et al., 2017; Bueno-Silva et al., 2017**).

6. Propriétés de la propolis

De nos jours, la propolis est utilisée comme antibactérienne, antifongique, anti-inflammatoire, antivirale, anesthésique, antioxydante (**Boukraâ and Sulaiman, 2009 ; Omar, R et al., 2017**), antitumorale, antiprotozoaire, anticancéreux (**Bankova, 2005 ; Ramos and Miranda, 2007; Abdulrhman et al., 2012**) ; antihypertenseur, anticarcinogène et anti-hépatotoxique en plus elle possède une activité cytotoxique, (**Toreti et al., 2013**). (Tableau 3).

6.1. Activité antibactérienne de la propolis

La propolis est utilisée par les abeilles pour maintenir l'hygiène dans la ruche : elle évite le développement de bactéries et les moisissures. Son pouvoir antibactérien varie selon son origine et sa composition. La propolis agit sur la majorité des bactéries qu'on retrouve dans les infections les plus courantes :

- Sur les *Staphylococcus aureus* colonisant les fosses nasales et la peau y compris certaines souches pouvant être résistantes à certains antibiotiques et sur les *Staphylococcus mutans* (**Rowe NH et al., 1996**).

- Sur les bactéries pathogènes du tube digestif tel que :

- *Escherichia coli* qui est une bactérie intestinale pouvant causer des intoxications alimentaires et des infections urinaires (**AL-Waili et al., 2012**).

- *Enterococcus faecalis*, bactérie du tube intestinal qui présente un haut niveau de résistance aux antibiotiques (**Netíková et al., 2013**).

- *Salmonella*, genre de bactéries responsable de la salmonellose, principale cause d'intoxication alimentaire (**Orsi et al., 2005**).

- Sur le *Pseudomonas*, bactérie qui peut être à l'origine de surinfections de plaies et de brûlures, d'infections viscérales, de septicémies et d'infections nosocomiales. Certaines souches sont résistantes aux antibiotiques communs (**Siripatrawan et al., 2013**).

- Sur la *Listeria*, genre de bactéries responsables de la listériose, une infection qui peut se manifester par une septicémie, une méningite et une encéphalite et des infections intra-utérine ou cervicales chez les femmes enceintes avec un risque de fausse couche.(Yang et al., 2006).

- Sur la *Helicobacter pylori*, bactérie impliquée dans l'apparition d'ulcères gastroduodénaux. (Nicolaÿ J et al., 2019 ; Denis R 2020).

La propolis possède un spectre antibactérien large, cette activité est due à des nombreuses molécules : tels que les composés aromatiques, les composés phénoliques et les flavonoïdes (Khurshid et al., 2017) et d'autres composés tels que la pinocembrine, la galangine , l'acide cinnamique et la pinobanksine (Castaldo and Capasso, 2002 ; Wagh, 2013 ; Wolska et al., 2019). (Tableau 2). En général, la propolis agit comme un agent bactéricide (Khalil, 2006 ; Machado et al., 2016).

Il est également apparu que les extraits éthanoliques de la propolis étaient plus efficaces contre les bactéries Gram+ et elles montraient un effet moins important vis-à-vis les bactéries Gram- (Castro, 2001), mais elles peuvent être inhibées les bactéries Gram- par des fortes concentrations des extraits de la propolis (Sforcin et al., 2000).

Tableau 2: Activité anti bactérienne des certains composants de la propolis *vis-à-vis* de quelques microorganismes (Martinotti and Ranzato, 2015).

| Composants de la propolis | Microorganismes et mode d'action |
|---|----------------------------------|
| Pinocembrine | <i>Streptococcus spp</i> |
| Artepilline C, l'acide p-coumarique et l'acide 3-phényl-4-di hydrocinnamylocinnamique | <i>Helicobacter pylori</i> |

6.2. Activité antifongique de la propolis

La propolis a montré une activité inhibitrice de la croissance de différents champignons et levures (Marcucci, MC., 1995b ; Acikelli et al., 2013;Aghel et al., 2014). Il a été signalé que la propolis inhibe la croissance des champignons aflatoxigènes et diminue également la croissance des conidieschez *Aspergillus flavus*.

La propolis de différentes régions montre une activité *vis-à-vis* de certaines levures : *Candida guilliermondii*, *C. guilliermondii*, *C. krusei*, *C. albicans*. Dans une autre étude, la propolis française a été utilisée efficacement contre l'agent pathogène fongique humain *C. albicans*, *C. glabrata*.

Un constituant de la propolis appelé pinocembrine a montré une activité contre *Penicillium italicum*, qui arrête la croissance mycélienne et agit sur la respiration du pathogène et l'homéostasie énergétique conduisant à la rupture de la membrane cellulaire et au trouble du métabolisme (Sforcin, 2016).

La présence de flavonoïdes dans la propolis a montré une activité fongicide contre *C. pelliculosa*, *C. parapsilosis* et *pichiaohmeri*, *C. famata*, *C. glabrata* (Wagh, 2013). La propolis australienne a présenté une activité antifongique envers *C. albicans*, en raison de la plus grande quantité de pinocembrine (Banskota et al., 2001). Il a été signalé que des constituants de la propolis tels que la 3-acétylpinobanksine, la pinobanksine-3-acétate, la pinocembrine, l'acide p-coumarique et l'acide caféique sur 26 constituants ou plus présentent une activité antifongique. De plus, l'acide caféique a montré une activité antimycotique *vis-à-vis* du carbone de l'helminthosponum (Oliveira et al., 2006). La propolis a donné de bons résultats contre les mycobactéries, *Candida*, *Trichophyton*, *Fusarium* ainsi que d'autres champignons infectieux cutanés (Grange and Davey, 1990).

6.3. Activité antiparasitaire de la propolis

L'activité antiparasitaire de la propolis *vis-à-vis* de nombreux protozoaires qui causent des maladies chez l'homme et d'autres animaux tels que la giardiase (Freitas et al., 2006), la maladie de Chagas, la leishmaniose (Duran et al., 2008), la trichomonase, la toxoplasmose (Castro, 2001) a été signalé (Aghel et al., 2014). Cependant, la propolis a montré une activité antiprotozoaire contre *Leishmania donovani*, *Trypanosomacruzi*, *Giardia lamblia*, *Trichomonas vaginalis*, *Toxoplasma gondii* et *G. duodenalis* (Wagh, 2013).

Certains composants de la propolis ont montré une activité antiparasitaire telle que l'acide caféique, la chrysine, l'acide moronique, l'acide Protocatechuic, l'acide p-coumarique, l'apigénine et d'autres constituants comme les terpénoïdes, les esters et les phénols (Sforcin, 2016). La propolis présente une meilleure activité (coccidostatique) contre *Chilomonas paramecium* (Marcucci, 1995a).

6.4. Activité antivirale

En raison de sa teneur en divers constituants (acide caféique, acide benzoïque, quercétine,) et les flavonoïdes qui sont présents en grande quantité, la propolis est également active contre différents virus. La propolis pourrait être efficace contre le virus, Herpès Simplex Virus (HSV-1 et HSV-2), impliqué dans les boutons de fièvre. Une application topique de propolis peut convenir pour lutter contre l'infection herpétique. (Yildirim A et al., 2016 ; Schnitzler P et al., 2010).

L'utilisation de la propolis à un grand effet sur la santé humaine, elle possède un large spectre d'activité *vis-à-vis* des micro-organismes pathogènes (Activité biologique). (Tableau 3).

Tableau 3 : Effets de la propolis *vis-à-vis* des micro-organismes pathogènes

| Microorganismes | Espèces |
|---------------------------------|---|
| Bactéries à Gram positif | <i>Bacillus cereus, Bacillus mesentericus, Corynebacterium spp., Corynebacterium diphtheriae, Diplococcus pneumoniae, Enterococcus spp., Mycobacteria spp., Mycobacterium tuberculosis, Staphylococcus aureus, Streptococcus : S. critecus, S. epidermis, S. faecalis, S. mutans, S. pyogenes, S. viridans, S. sobrinus.,</i> |
| Bactéries à Gram négatif | <i>Branhamella catarrhalis, E. coli, Helicobacter pylori, Klebsiella mozaemae, Proteus vulgaris, Pseudomonas aeruginosa, Salmonella : S. choleraesuis, S. dublin, S. enteritidis, S. exneri, S. gallinarum, S. pullorum, S. paratyphi-A, S. paratyphi-B, Shigella dysintariae, Sh. Sonnei.</i> |
| Champignons | <i>Aspergillus sp., Candida albicans, C. guiliermondi, C. parapsilosis, C. tropicalis; Cryptococcus spp., Cryptococcus neoformans, Histoplasma capsulatum, Madurella mycetomi, Microsporium: audoinini, canis, cepleo, distortum, ferrugeneum, gypseum; Piedrahortae, Phialophora jeanselmei, Saccharomyces sp., Trichophyton: spp., mentagrophytes, rubrum, Trichosporon Cutaneum.</i> |
| Virus | <i>Adenovirus, Coronavirus, Herpes symplex, Influenca A et B virus, Newcastle disease virus, Polio virus, Vaccinia, Rotavirus; Vesicular Stomatitis Virus, Coronar virus.</i> |
| Parasites | <i>Cholomonas paramecium, Eimeria: magna, media, perforans; Giardia lambia, Giardia duodenalis, Trichomonas vaginalis, Trypanosoma cruzi, Trypanosoma evansi.</i> |

6.5. Activité antioxydante de la propolis

La propolis est connue pour ses propriétés antioxydantes et qui est plus actif par rapport de reste des produits de la ruche (**Volpi et Bergonzini, 2006**).

Les effets antioxydants relativement puissants de l'extrait éthanolique de la propolis (EEP) provenant de différentes origines géographiques (Argentine, Australie, Chine, Hongrie et Nouvelle-Zélande) ont été corrélés avec des teneurs élevées en polyphénols et flavonoïdes, en particulier le

kaempferol et le phénéthylcaffeate (**Kumazawa et al., 2004**).

D'autres échantillons de propolis provenant de Turquie et de différentes régions de Corée ont donnés des résultats similaires (**Ahn et al., 2004**).

Les extraits de propolis possèdent un potentiel antioxydant élevé. L'extrait de propolis montre une forte activité de piégeage des radicaux libres et un fort pouvoir réducteur.

L'acide ferulique, la quercétine, l'acide caféique, les composés prénylés, l'apigénine ainsi que la galangine, l'acide p-coumarique et l'CAPE (caffeicacidphenethyl ester) ont été identifiés comme composés bioactifs responsables du potentiel antioxydant dans différents échantillons de propolis (**Cuesta-Rubio et al., 2002 ; Orsolich et Basic, 2005 ; Orsolich et al., 2006 ; Volpi et Bergonzini, 2006 ; Fischer et al., 2007**).

En plus des composés cités, (**Oyaizu et al. (1999)**) ont rapporté que l' α -tocophérol est contenu dans presque tous les échantillons de propolis et elle est fortement corrélée avec son effet antioxydant.

6.6. Activité antitumorale de la propolis

Les composants de la propolis possèdent une propriété anti-tumorale (**Banskota et al., 2001b ; Martinotti and Ranzato, 2015**) tels que l'ester phénéthylique de l'acide caféique (CAPE) (**Castaldo and Capasso, 2002**) et l'artepilline C (**Chan et al., 2013**).

Ces composés de propolis sont impliqués dans l'arrêt du cycle cellulaire, l'inhibition des métalloprotéinases matricielles, l'effet anti-angiogénèse et ils inhibent également le transfert de maladies d'une partie du corps à une autre (**Sforcin et al., 2000**).

La propolis a la capacité d'arrêter la synthèse d'ADN dans les cellules tumorales, elle a la propriété de provoquer le vieillissement des cellules tumorales (apoptose). Elle possède aussi la capacité de mettre en action les globules blancs pour générer les agents capables de réguler la fonction de B, Cellules T et tueuses naturelles respectivement (**Wagh, 2013**). D'autres composés tels que la galangine, le cardanol, la némorosone et la chrysine sont impliqués pour empêcher la division rapide des cellules tumorales (**Sforcin, 2016**).

L'activité cytotoxique des cellules tueuses naturelles (NK) contre le lymphome a augmenté avec l'utilisation de propolis pendant 3 jours (**Sforcin, 2007**). La présence de protéines suppresseurs de tumeurs dans l'ester phénéthylique de l'acide caféique provoque l'apoptose des cellules du gliome C6 (**Watanabe et al., 2011 ; Sforcin, 2016**). L'acide caféique et les esters ainsi que les diterpénoïdes et les composés phénoliques avaient la capacité destructrice contre les cellules tumorales.

6.7. Activité hépato protectrice de la propolis

La propolis agit comme un agent hépato protecteur (**Andrade et al., 2008**). Elle augmente le niveau de glutathion tout en arrêtant la peroxydation lipidique et le niveau de glutathion oxydé. Par conséquent, la propolis augmente l'activité antioxydante contre la toxicité induite par le mercure et agit comme un agent hépato protecteur.

Des études ont également montré que l'extrait de propolis possède un rôle protecteur contre le stress oxydatif hépatorénal incitant CCL₄ et les blessures qui en résultent (**Wagh, 2013**). La propolis a montré un effet hépatoprotecteur contre les dommages au foie chez le rat en raison de l'alcool allylique CCL₄ et du paracétamol (**Castaldo and Capasso, 2002**). (**Banskota et al. 2001**) ont isolé des composants phénoliques ainsi que des acides diterpéniques de la propolis brésilienne, montrant une propriété hépatoprotectrice (**Trusheva et al., 2007**).

6.8. Activité anti-inflammatoire de la propolis

La propolis est un agent anti-inflammatoire dans les stades aigus et chroniques de l'inflammation. Elle est utilisée pour les muscles, les articulations ainsi que d'autres types d'inflammations (rhumatismes, asthmes). (**Ramos AFN et al., 2007**). La propolis a une activité sur les plaies : elle réduit l'impact des radicaux libres à l'origine de la réaction d'oxydation ; favorise la synthèse de collagènes et des fibronectines, des protéines qui participent à la cicatrisation. (**Denis R 2020**).

6.9. Autres activités

De nombreuses autres propriétés biologiques et pharmacologiques de la propolis ont été décrites dans plusieurs études (**Marcucci, 1995b**), y compris les propriétés régénératrices des tissus, les propriétés immunogènes. Des effets cardio protecteurs, neuroprotecteurs ont également été rapportés (**Shimazawa et al., 2005**).

La propolis semble diminuer le taux de cholestérol et la tension artérielle, ce qui rend possible son utilisation dans la prévention et le traitement de l'athérosclérose (**Castaldo et Cappasso, 2002**). D'ailleurs, **Maruyama** et ses collaborateurs (**2009**) suggèrent que l'EEP de la propolis verte brésilienne et ses principaux constituants peuvent être utiles pour la prévention de l'hypertension. La propolis a une activité anesthésique avec des effets similaires à ceux de la cocaïne.

7. Intérêt de la propolis

7.1. Utilisation de la propolis par les abeilles

Les abeilles font un double usage de la propolis. D'une part, elles utilisent les propriétés de la propolis pour assainir la ruche (antiseptique), puisque la propolis a une propriété anti-infectieuse, d'autre part, ce matériau fait de résine et de cire fonctionne comme un mortier (mastic de ciment ou de baume) qui permet de réaliser plusieurs actions (**Silva et al., 2008**) :

- Assurer une meilleure isolation thermique ;
- Colmater les fissures ;
- Réduire les dimensions du trou de vol à l'approche de l'hiver;
- Enduire les corps étrangers (Souris, cétoines, frelons) 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 secrète ;
- Stériliser les alvéoles avant la ponte (**Silva et al., 2008**).

7.2. Utilisation de la propolis par l'Homme

La propolis est largement utilisée dans plusieurs domaines tels que :

7.2.1. 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. (**Moujanni et al., 2017**).

7.2.2. Médecine

La propolis est utilisée dans divers traitements tels que :

- Problèmes cardio-vasculaires,
- Appareil respiratoire (pour diverses infections),
- Soins dentaires,
- Ulcère,
- Infections des muqueuses et les lésions,
- Cancer.

Elle est utilisée aussi dans le soutien et l'amélioration du système immunitaire (**Neumann et al., 1986**).

7.2.3. Technologie industrielle

La propolis est utilisée dans l'industrie sous forme de dentifrices, de pastilles, des bains de bouche, des shampooings, des lotions pour la peau, des crèmes, des gels, de poudre, de savon, de sirops contre la toux (**Wagh, 2013; Khurshid et al., 2017**) ainsi que des bonbons, de chewing-gums, de chocolat et des gâteaux (**Ferreira et al., 2017**).

7.3. Récolte par les abeilles

La propolis est récoltée par des abeilles âgées. Cette récolte s'effectue schématiquement de la façon suivante :

- La butineuse fait d'abord usage de ses antennes pour situer la partie la plus intéressante de la source. Ensuite elle l'attaque avec ses mandibules, enfin elle détache la particule saisie.

- Elle l'entasse dans l'une des corbeilles de ses pattes postérieures (3^{ème} paire) à l'aide de ses autres pattes pour accumuler ainsi progressivement une pelote (qui est en général un peu plus petite qu'une pelote de pollen) qu'elle rapportera à la ruche.

Au retour à la ruche, la butineuse de propolis est déchargée de sa récolte par d'autres ouvrières, le plus souvent à l'endroit même où la substance est utilisée. C'est une opération longue qui peut durer une à plusieurs heures (**Lavie 1975**).

7.4. Récolte par l'Homme

La propolis peut être récoltée selon des techniques diverses :

- Par raclage ou grattage des cadres ou des parois de la ruche (Figure 2) : La récolte se fait de préférence à température assez basse. La propolis, alors dure et friable, se détache mieux. Cette méthode assez simple ne donne aucune garantie quant à la qualité du produit récolté : Présence de contaminants dans la ruche (produits utilisés pour les traitements), impuretés (particules de bois, abeilles). La récolte systématique sur la tête des cadres permet d'obtenir une propolis fraîche (Figure 3).
- Utilisation de grilles spécifiques qui se placent sur la tête des cadres sans isolant par-dessus (Figure 4). Cette utilisation de grilles en bois, en plastique souple moulé ou en métal inoxydable permet une récolte ponctuelle durant les périodes de grande production et en dehors des périodes de traitement des ruches. Les interstices doivent être compris entre 0,1 et 3 mm. La grille en bois permet un grattage immédiat des barreaux. Il faut placer les autres grilles au froid (surgélation). La propolis durcie se détachera facilement lors de la torsion de la grille (Figure 4). L'idéal est de travailler dans une pièce froide, car les grilles prennent très vite la température ambiante. Le moment idéal se situe normalement après la récolte d'été et avant ou après le traitement d'été en fonction du produit utilisé ou de la biotechnique mise en œuvre contre le varroa. Plus la température sera basse, plus le pourcentage de cire sera faible dans la sécrétion récoltée (**Figure 5**). (**Yuanjun Xu et al., 2009**) –



Figure 2: Raclage de propolis sur les flancs de la ruche



Figure 3 : Propolis de la région de Marrakech récoltée par la méthode de raclage



Figure 4 : Grille de la récolte de la propolis



Figure 5 : Propolis de la région de Rabat récoltée par la méthode de la grille

7.5. Quantités

La quantité que peut récolter un apiculteur par ruche est très variable en fonction des abeilles et de l'environnement. Elle se situe généralement entre 100 et 300 grammes de produit brut par an et par ruche. Certaines techniques intensives basées principalement sur une augmentation de la ventilation des ruches permettent avec des abeilles productives d'atteindre 800 g/ruche/an. (Yuanjun Xu et al., 2009).

8. Source botanique et géographique de la propolis au niveau mondiale

Il existe plusieurs types de propolis qui dépendent de l'espèce de l'abeille, de la zone géographique, de la diversité de la flore locale et de la disponibilité des végétaux durant la saison. On peut donc retrouver des propolis de couleur jaune ambre, brun foncé ou encore verte ou rouge. L'origine végétale de la propolis détermine sa diversité chimique. De ce fait, il y a une grande variété de propolis avec des compositions différentes et des propriétés pharmacologiques propres à chaque type de propolis. La fraction polyphénolique (les flavonoïdes) permet d'identifier l'origine botanique de chaque type de propolis (Tableau 4) (Giancarlo Ricciardelli d'Albore., 1979).

Tableau 4 : Source botanique et géographique de la propolis au niveau mondial.

| Genre et / ou espèces | Région | Référence |
|--|--------------------------|-------------------------|
| Peuplier (<i>Populus nigra</i> , <i>Populus italica</i> , <i>Populus tremula</i>) | Bulgarie | (Kumazawa et al., 2008) |
| Peuplier (<i>Populus nigra</i>) | Albanie | (Kumazawa et al., 2008) |
| Peuplier (<i>Populus suaveolens</i>) | Mongolie | (Kumazawa et al., 2008) |
| Peuplier (<i>Populus fremontii</i>) | USA (Mainland) | (Marcucci, 1995b) |
| Plumeria (<i>Plumeria acuminata</i> , <i>Plumeria acutifolia</i>) | USA (Hawaiian, Islands) | (Marcucci, 1995b) |
| Peuplier (<i>Populus euramericana</i>) | United Kingdom | (Marcucci, 1995b) |
| Bouleau (<i>Betula spp.</i>), Peuplier (<i>Populus spp.</i>), Pin (<i>Pinus sp.</i>), <i>Prunus spp.</i> , <i>Acacia</i> . | Hungary | (Marcucci, 1995b) |
| Bouleaux (<i>Betula spp.</i>), Aulnes (<i>Alnus spp.</i>) | Poland | (Marcucci, 1995b) |
| Clusia (<i>Clusia spp.</i>), <i>Delchampia spp.</i> | Region Equatorial | (Kumazawa et al., 2008) |
| Clusia (<i>Clusia minor</i> et <i>Clusia major</i>) | Venezuela | (Marcucci, 1995b) |
| Xanthorrhoea (<i>Xanthorrhoea spp.</i>) | Australie | (Burdock, 1998) |
| Peuplier (<i>Populus spp.</i>), Bouleaux (<i>Betula spp.</i>), Orme (<i>Ulmus spp.</i>) et les Conifères. | La Zone tempérée Du Nord | (Burdock, 1998) |
| | La Zone tempérée Du Nord | (Burdock, 1998) |

Tableau 4 (suite): Source botanique et géographique de la propolis au niveau mondial

| Genre et / ou espèces | Région | Référence |
|--|---------|---|
| Romarin des champs (<i>Baccharis dracunculifolia</i>), | Brésil | (Silva et al., 2008)(Vardar-Ünlü et al., 2008) |
| Peuplier (<i>Populus spp</i>), | Brésil | (Silva et al., 2008)(Vardar-Ünlü et al., 2008) |
| Peuplier (<i>Populus spp</i>), Eucalyptus (<i>Eucalyptus spp</i>) et le Châtaignier (<i>Castanea sativa</i>). | Turkie | (Teixeira et al., 2005) |
| Bouleaux (<i>Betula Verrucosa</i>) | Russie | (Silva et al., 2008) (Vardar-Ünlü et al., 2008) |
| Mahang (<i>Macaranga tanarius</i>) | Okinawa | (Kumazawa et al., 2008) |
| Eucalyptus (<i>Eucalyptus spp</i>), Bouleaux (<i>Betula spp</i>), | Uruguay | (Teixeira et al., 2005) |
| Peupliers (<i>Populus spp</i>), Saule (<i>Salix spp</i>). | Uruguay | (Teixeira et al., 2005) |

9. Source botanique et géographique de la propolis Marocaine

Le Maroc, pays méditerranéen du nord de l’Afrique, est classé deuxième mondial en termes de biodiversité des plantes et compte une flore très riche d’environ 7000 espèces végétales dont plus de 4500 plantes vasculaires phanérogames, réparties en 940 genres et 135 familles caractéristiques du bassin méditerrané, des montagnes de l’Atlas, des plaines du Gharb et du Sahara marocain. Sur le plan territoriale, le Maroc compte des forêts d'Eucalyptus (environ 220000 Ha), des vergers d'agrumes et de rosacées (environ 74.000 Ha), des cultures fourragères (environ 18000 Ha), des cultures industrielles (coton, tournesol, colzas), des plantes naturelles de montagne (Thym, Euphorbe, Romarin, Lavande, Armois) et des plantes spontanées du sous-bois (environ 5 millions d’Ha) (Figure 6 et 7). Outre ces ressources mellifères extraordinaires, le Maroc occupe une place privilégiée parmi les pays méditerranéens avec un savoir-faire traditionnel de production de miel authentique à base de plantes médicinales (Moujanni et al., 2017).



Figure 6 : Quelques plantes source de la propolis au Maroc

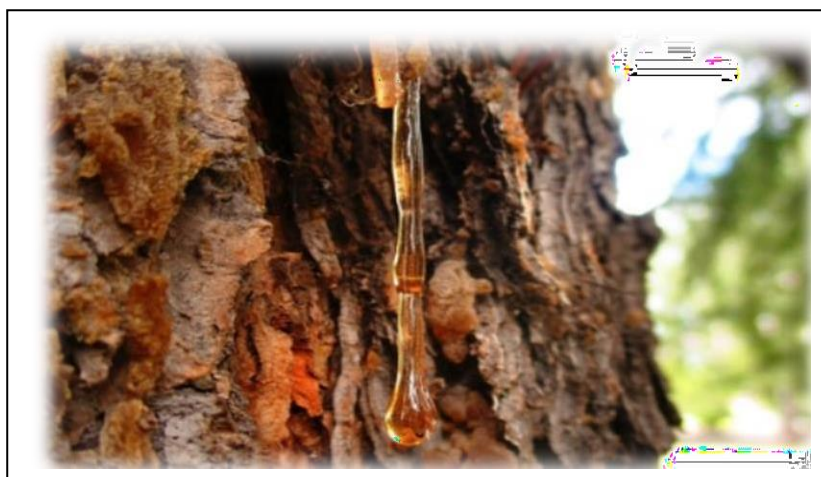


Figure 7 : Résine secrétée par le tronc du Pin région de Rabat

Le tableau 5 présente les principales plantes selon les principales zones de production de miel au Maroc (la production de la propolis au Maroc est liée généralement à la production du miel). Les périodes de floraison sont variables et s'étalent sur toute l'année, ce qui constitue un facteur stimulant pour le développement de l'activité apicole dans les grandes zones bioclimatiques marocaines (Moujanni et al., 2017).

Tableau 5 : Source botanique et géographique de la propolis Marocaine (Moujanni et al., 2017)

| Région | Plantes |
|------------------------|---|
| Gharb | Eucalyptus, Agrumes, pin. |
| Tadla Azilal | Eucalyptus, Agrumes, Amendier, Europhobes, thym, cactus, jujubier, cyprès, pin. |
| Agadir | Agrumes, Avocatier, Amendier, Arganier, thym, cactus, jujubier |
| Tafilalet Daraa | Amendier, thym, jujubier. |
| Marrakech | Agrumes, Amendier, thym, cactus, jujubier. |
| Ouarzazate | Amendier, thym, cactus, jujubier. |
| Oriental | Amendier, thym, cactus, jujubier. |
| Rabat | pin, chênesjujubier. |
| Chefchaouen | Thym. |
| Settat | Eucalyptus, olivier, Cactus. |

10. Les avancés de recherche sur la propolis au Maroc

Au Maroc les recherches sur la propolis marocaine sont rares. **Mouse et al. (2012)** ont trouvés que l'activité cytotoxique des extraits de propolis est un phénomène complexe qui dépend non seulement de la nature de l'extrait et de ses composants, mais également du type de cellule tumorale. Leurs études rapportaient une réduction efficace du volume tumoral par l'extrait éthanolique de propolis chez les souris porteuses de tumeurs P₈₁₅ et l'induction de l'apoptose dans les cellules P₈₁₅.

Une autre étude réalisée par **El-Guendouz et al., 2016b** a prouvé une corrélation négative entre les valeurs de IC₅₀ et la concentration de phénols et de flavones. **El-Guendouz et al., 2016a** ont trouvé que la propolis marocaine présente une activité antibactérienne forte contre la *staphylococcus aureus*. **El-Guendouz et al., 2018** ont prouvé que la propolis marocaine est un antioxydant naturel.

Chapitre II :
Matériel et Méthodes

1. Evaluation des informations des apiculteurs et consommateurs en matière de la propolis

Une enquête de renseignements a été mise en œuvre afin d'évaluer les informations des apiculteurs et des consommateurs en matière de la propolis, cette enquête a été réalisé sur 85 producteurs et 200 consommateurs dans les 4 régions (Rabat, Agadir, Settat et Marrakech).

1.1. Enquête sur l'évaluation des informations des apiculteurs

Un échantillonnage aléatoire a été adopté dans notre enquête. Quatre-vingt-cinq apiculteurs ont été visités pour évaluer leurs informations en se basant sur un questionnaire de collecte des données (annexe 1). Les apiculteurs ont été répartis comme suit ; 1) Agadir (13 apiculteurs), 2) Rabat (28 apiculteurs), 3) Settat (27 apiculteurs), 4) Marrakech (17 apiculteurs).

1.2. Enquête sur la collecte des données auprès des consommateurs de la propolis Marocaine

En parallèle, un questionnaire est distribué d'une manière aléatoire aux 200 personnes (Consommateurs entrains d'acheter de miel) afin d'avoir une idée sur leurs connaissances en matière de la propolis (annexe 2).

2. Optimisation de l'extraction de la propolis marocaine

Pour la valorisation de la propolis marocaine, dans un premier temps, on a étudié l'effet de temps d'extraction sur le rendement de la propolis en utilisant l'éthanol à 70 %, puis on a comparé les différents solvants (Éthanol 70 %, Acétone, Propanole, Chloroforme, Hexane, Méthanol ou Eau) sur le rendement, la teneur en polyphénol et l'activité antioxydante des propolis collectées dans les quatre régions du Maroc.

2.1. Echantillonnage et collecte de la propolis

Un échantillonnage aléatoire a été fait dans cette étude. La propolis a été collectée entre Décembre - 2014 et Septembre - 2015 dans les quatre régions étudiées du Maroc. La propolis est collectée chez les mêmes apiculteurs dont on a fait notre enquête. La propolis collectée a été mélangée pour donner un échantillonnage représentatif pour chaque région et conserver en congélateur jusqu'à son utilisation ultérieure.

2.2. Préparation des extraits

Toutes les étapes du procédé qui précèdent ou succèdent l'extraction de propolis doivent être maîtrisées avec précision pour obtenir un produit final de qualité optimale.

Pour préparer les extraits de la propolis (EP), des échantillons de la propolis de chaque région (EP₁: Agadir, EP₂: Marrakech, EP₃: Rabat, EP₄: Settat) ont été découpés en petits morceaux (30 g de propolis) puis extraire avec 100 mL de chaque solvant (Éthanol 70 %, Acétone, Propanole, Chloroforme, Hexane, Méthanol ou Eau) sous agitation (150 tpm) à température ambiante et dans l'obscurité 14 jours afin d'étudier l'influence du solvant de l'extraction sur le rendement, la teneur en polyphénols, en flavonoïdes et sur l'activité anti oxydante. En parallèle, nous avons étudié l'effet du temps de l'extraction sur le rendement en préparant des extraits éthanoliques à 70 % (EEP) pendant 24 heures, 7 jours, 14 jours et 30 jours. Les solutions des extraits sont laissées pour sédimentation et le surnageant a été centrifugé pendant 30 min à 2550 g. La phase éthanolique obtenue est alors évaporée à 50°C puis séchée dans une étuve à 40°C. La poudre résultante est conservée à 4°C à l'obscurité jusqu'à l'utilisation (Eraslan et al., 2007) (Figure 8).

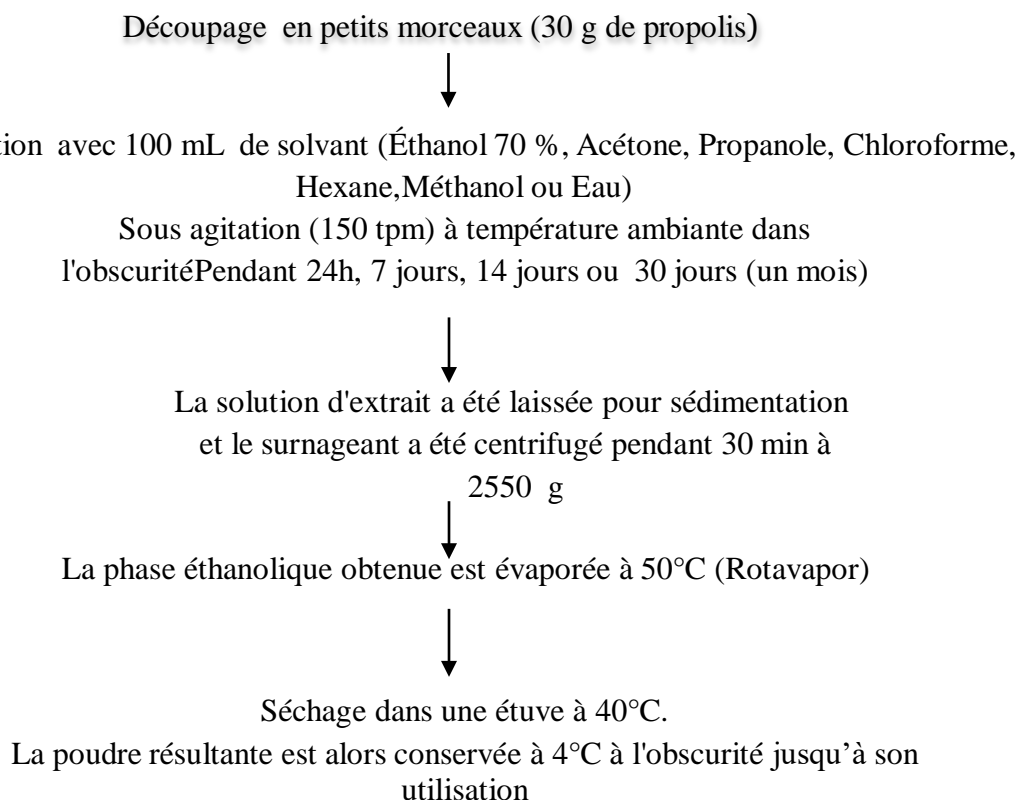


Figure 8 : Diagramme des étapes d'extraction de la propolis

3. Détermination des concentrations de certains minéraux des extraits éthanoliques de la propolis Marocaine

En spectrométrie d'absorption atomique, la concentration est déduite de la mesure de l'absorption de la lumière par les atomes de l'élément restés à l'état fondamental lorsqu'ils sont éclairés par une source lumineuse convenable. La mesure de l'intensité est faite à une longueur d'onde spécifique de l'élément.

Les poudres de la propolis (0,6 g) ont été transférées dans des tubes de réaction en téflon. Après addition de 4,0 ml d'une solution aqueuse à 65 % d'acide nitrique, les tubes ont été bouchés puis soumis à une minéralisation à la micro-onde. Le programme de chauffage suivant a été appliqué :

- 250 W / 5 min ; 500W / 2 min ; 800W / 4 min. et ventilation pendant 4 min.

Les échantillons ont ensuite été transférés dans des flacons en polyéthylène, lavés et le volume a été complété à 10,0 mL d'eau désionisée. A partir de cette solution, nous avons effectué le dosage des éléments minéraux suivant : Na^+ , K^+ , Ca^{++} et Mg^{++} .

Les concentrations de métaux ont été déterminées à l'aide d'un spectrophotomètre à flamme à absorption atomique de marque JENWAY. L'équipement a été étalonné avec une solution standard en fonction de chaque cation à doser (Santana et al., 2008). Tous les échantillons avaient été analysés en triple.

4. Quantification de quelques composés principaux de la propolis

En utilisant le meilleur protocole d'extraction trouvé dans l'étape précédente, on a continué nos travaux sur l'étude de la composition en polyphénol et flavonoïdes des 4 extraits éthanolique de la propolis (EEP) marocaine (EEP₁ : Agadir, EEP₂ : Marrakech, EEP₃ : Rabat, EEP₄ : Settat).

4.1. Dosage des polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux dans les quatre extraits a été réalisé par la méthode de Folin-Ciocalteu (Li et al., 2008). (Gülçin et al., 2005), avec une modification mineure.

Le réactif de Folin-Ciocalteu est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$) et phosphomolibdique ($\text{H}_3\text{PMo}_{12}\text{O}_{40}$), réduit par les phénols en un mélange d'oxydes bleus de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (Mo_8O_{23}). L'intensité de cette coloration bleue est proportionnelle aux taux de composés phénoliques présents dans le milieu ayant un maximum d'absorption à 760 nm

La teneur totale en polyphénols a été calculée sur la base d'une courbe standard préparée à l'aide d'acide gallique et exprimée en milligrammes d'Equivalent d'Acide Gallique

(GAE) par gramme d'échantillon (**Kanazawa et al., 2002**). Dosage des flavonoïdes

Les quantités de flavonoïdes dans les extraits ont été déterminées selon la méthode de (Miguelet al. 2014), avec des modifications mineures. Une quantité de 100 μL d' Al_2Cl_3 (20%) a été ajoutée à 100 μL des extraits éthanoliques de la propolis des quatre régions, les mélanges ont été incubés pendant 1 h à température ambiante et l'absorbance a été mesurée à 420 nm. La teneur totale en flavonoïdes a été calculée en équivalents de quercétine (mg QE / g) en utilisant une courbe d'étalonnage.

5. Evaluation de l'activité antioxydante de la propolis marocaine

L'activité antioxydante des extraits étudiés est évaluée par deux méthodes différentes :

5.1. Activité antiradicalaire de la propolis par le test de DPPH

Pour étudier l'activité antiradicalaire des différents extraits, nous avons opté pour la méthode qui utilise le DPPH (2,2'-DIPHENYL-1-PICRYLHYDRAZYL) comme un radical libre relativement stable.

Dans ce test, les antioxydants réduisent le diphenyl-picrylhydrazyl ayant une couleur violette en un composé jaune (Figure 10), dont l'intensité de la couleur est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu de donner des protons (**Sanchez-Moreno et al., 2002**). On a ajouté, 100 μL des solutions d'extraits éthanoliques de la propolis des quatre régions étudiées à 1300 μL de DPPH (0,004 % préparée dans du méthanol). En parallèle, un témoin négatif a été préparé en mélangeant 100 μL de l'éthanol à 70 % avec 1300 μL de la solution méthanolique de DPPH. La lecture de l'absorbance a été réalisée contre un blanc préparé pour chaque concentration à 517 nm après 30 min d'incubation à l'obscurité et à température ambiante. Le témoin positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard : l'acide ascorbique dont l'absorbance a été mesurée dans les mêmes conditions que les échantillons et pour chaque concentration (Figure 9). Tous les essais ont été effectués trois fois afin de vérifier la reproductibilité.

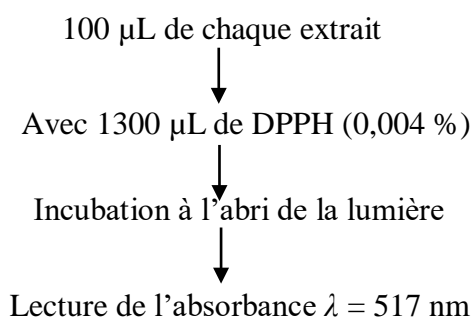


Figure 9 : Etapes de test DPPH

Le pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH (Activité antiradicalaire) est estimé selon l'équation suivante :

$$I \% = [(A \text{ témoin} - A \text{ éch})/A \text{ témoin}] \times 100$$

I % : Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH.
 A témoin : Absorbance du témoin négatif.
 A éch : Absorbance de l'échantillon

La figure 10 représente la réaction chimique de la réduction du radical libre DPPH* en DPPH

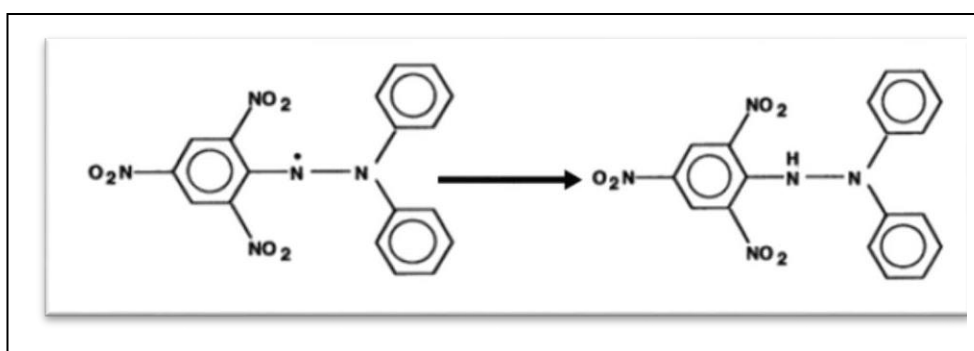


Figure 10 : Réduction du radical libre DPPH* en DPPH (Molyneux, 2004).

Détermination d'IC₅₀

Le pourcentage d'inhibition est exprimé ensuite par la valeur de la IC₅₀, sachant que l'IC₅₀ est la concentration d'extrait nécessaire pour l'obtention de 50 % de la forme réduite du radical DPPH•.

5.2. Détermination du Pouvoir Réducteur de la propolis par le test de FRAP

Le test de FRAP est considéré comme un test direct et rapide pour la mesure du pouvoir réducteur des antioxydants.

Le pouvoir réducteur de la propolis par le test de FRAP a été déterminé comme décrit par (Haisha Yang et al, 2011) avec des modifications. Cette méthode est basée sur une réaction redox dans laquelle, les antioxydants agissent comme réducteurs, et un oxydant facilement réduit (Fe³⁺) est utilisé en excès stœchiométrique, résultant en un complexe ferreux bleu. L'absorbance à 593 nm a été lue à l'aide d'un spectrophotomètre avec un volume de 3,0 mL d'un complexe Fe³⁺- TPTZ fraîchement préparé, solution pré-incubée à 37°C. Cette solution (réactif de FRAP) a été préparée en mélangeant du tampon acétate (300 mmol L⁻¹, pH 3,6),

TPTZ (10 mmol L⁻¹ dans 1,0 mol L⁻¹ HCl) et FeCl₃ (20 mmol L⁻¹) à 10 :1 :1 (v/v/ v). Différentes concentrations de 100 µL de solutions d'extrait de la propolis ont été ajoutés aux cuvettes avec 300 µL d'eau distillée et 3,0 mL de complexe Fe³⁺ –TPTZ, soit une dilution de 1:34.

Les mélanges ont été homogénéisés et incubé à 37° C pendant 30 min avant lecture d'absorbance à 593 nm. Tous les traitements ont été effectués en triple et Trolox TM (acide (±) - 6- hydroxy-2, 5, 7,8-tétraméthylchromane-2-carboxylique) a été utilisé comme témoin positif. Le potentiel des antioxydants de l'extrait de la propolis pour réduire Fe³⁺ en Fe²⁺ a été exprimée en µmol Fe²⁺ + g- d'extrait de la propolis.

On a supposé que plus la valeur FRAP mesurée était élevée, plus la teneur en antioxydants de l'extrait de propolis était élevée, ce qui pourrait réduire l'ion ferrique en ion ferreux.

6. Etude de l'activité antimicrobienne de la propolis marocaine

Dans la présente étude, l'activité antimicrobienne (antibactérienne et antifongique) des 4 extraits éthanoliques de la propolis marocaine (EEP₁ : Agadir, EEP₂ : Marrakech, EEP₃ : Rabat, EEP₄ : Settat), a été étudiée.

6.1. Evaluation de l'activité antibactérienne

6.1.1. Préparation des souches bactériennes

Il s'agit de quatre souches bactériennes (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* et *Pseudomonas aeruginosa*), souches bactériennes isolées au laboratoire de l'hôpital Hassan II de Settat, issues des infections humaines.

6.1.2. Repiquage des souches bactériennes

Les différentes souches bactériennes ont été repiquées par la méthode des stries dans les boîtes de Pétri contenant une gélose nutritive, puis incubées à l'étuve à 37°C pendant 24 heures afin d'obtenir une culture jeune et des colonies bien isolées. Les colonies isolées ont servi à préparer l'inoculum.

6.1.3. Méthode de diffusion sur disque en milieu solide

Nous avons utilisé en première temps la méthode de diffusion en milieu solide (milieu Muller-Hinton) pour la mise en évidence de l'activité antibactérienne qui permet de déterminer l'activité inhibitrice de croissance bactérienne par la mesure du diamètre d'inhibition autour d'un disque (Sharififar *et al.*, 2007).

Pour évaluer la concentration bactérienne, une suspension de chaque bactérie est

préparée avec de l'eau physiologique stérile et ajustée à 0,5 Mc-Farland (10^8 CFU / mL) à partir d'une culture bactérienne jeune de 24 h sur gélose nutritive. A l'aide d'un écouvillon stérile bien imbibé de la suspension microbienne ajustée, les surfaces du milieu gélosé Mueller-Hinton des boîtes de Pétri de 90 mm de diamètre ont étéensemencées. Ensuite on a déposé à la surface de milieuensemencé, des disques de papier Wattman N° 04 stériles de 6 mm de diamètre, imbibés de 20 μ L de chaque extrait de la propolis.

Trois répétitions ont été réalisées pour chaque extrait (03 disques du même extrait et de la même concentration par boîte). Les disques du contrôle négatif sont imprégnés de 20 μ L de solvant (éthanol à 70 %). Des disques standards de gentamicine (10 μ g / disque) sont utilisés comme témoins positifs.

Les boîtes de Pétri ont été incubées à 37 °C pendant 24 heures. A la fin de l'incubation, nous avons noté l'activité des extraits, en mesurant la zone d'inhibition (Diamètre) autour des disques.

6.1.4. Évaluation des Concentrations Minimales Inhibitrices (CMI) et des Concentrations Minimales Bactéricides (CMB) de la propolis

Après avoir réalisé la mise en évidence de l'activité antibactérienne par la méthode de diffusion, nous avons procédé à la détermination des CMI et des CMB des extraits de la propolis des quatre régions par la méthode de la dilution en milieu liquide, décrite par **Ramos et Miranda, 2007**.

La gamme de concentrations des extraits a été préparée dans des tubes à essai par la méthode d'une dilution avec des concentrations allant de 50 μ g / mL à 800 μ g / mL.

Nous avons introduit un volume de 0,2 mL des concentrations des extraits éthanoliques de la propolis EEP dans des tubes à essai contenant 8,7 mL de bouillon de Müller-Hinton. Ensuite le mélange a été inoculé avec 0,1 mL de l'inoculum des souches bactériennes dont la turbidité est ajustée à 0,5 Mc-Farland (soit 10^8 CFU / mL) et ramenée à 10^6 CFU. Des échantillons sans bactéries ont été utilisés comme témoin négatif (blancs). Des échantillons sans extraits de la propolis ont été utilisés comme témoins positifs.

Enfin, la série des tubes à essaiensemencés, ainsi que les deux tubes témoins sont incubés à 37°C pendant 24 heures. Après l'incubation, on examine la croissance bactérienne, dans chaque tube, qui se traduit par une turbidité. La CMI d'un extrait *vis-à-vis* d'une souche donnée sera, la plus petite concentration ne montrant aucune croissance bactérienne.

La CMB est la plus faible concentration de l'extrait pour laquelle l'effet bactéricide

souhaité est de 99,99 % (soit 0,01 % de survivants. Les valeurs minimales de concentration bactéricide (CMB) de la propolis ont été évaluées avec une concentration égale ou supérieure à la CMI.

6.2. Activités antifongiques

6.2.1. Souches

Des souches de *Candida albicans* d'origines humaines ont été utilisées. Toutes les souches ont été identifiées par des méthodes standard, qui comprennent une identification basée sur les caractéristiques macroscopiques et microscopiques de la souche de culture. Le produit 'Fluconazole' a été utilisé comme un contrôle antifongique positif.

6.2.2. Milieux de culture

Le bouillon de Sabouraud est le milieu utilisé pour la technique de la dilution afin de déterminer la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) en milieu liquide. Le milieu de Sabouraud- dextrose Agar (SDA) est utilisé pour la détermination de la Concentration Minimale Fongicide (CMF) en exploitant la méthode de diffusion de disque.

6.2.3. Tests de sensibilité

L'activité antifongique des échantillons de propolis a été étudiée par les méthodes de dilution et de diffusion sur milieu solide, conformément aux directives standard du Comité National de Laboratoire Clinique.

6.2.4. Détermination de Concentration Minimale Inhibitrice

L'activité antifongique de différents extraits a été étudiée en utilisant la méthode de dilution en bouillon (Cosentino et al., 1999). La culture microbienne est ajustée à 0,5 McFarland soit (10^8 UFC / mL), puis elle a été diluée dans l'eau peptonée (0,1% p/v) jusqu'à 10^4 et 10^4 CFU / mL. Ensuite, 100 μ L de chaque culture ont été mis en suspension dans des bouillons de Sabouraud contenant différentes concentrations de chaque extrait éthanolique de la propolis allant de 3,125 μ g / mL jusqu'à 100 μ g / mL. Le contrôle positif se composait du bouillon de Sabouraud inoculé seulement avec la suspension microbienne. Le tube non inoculé contenant de l'extrait a servi comme témoin négatif. Les tubes ont été incubés pendant 48 h à 25°C. La croissance microbienne est indiquée par la présence d'une turbidité sur le fond du tube. La CMI est définie comme la plus faible concentration des extraits éthanoliques de la propolis donnée capable d'inhiber la croissance visible de levure dans le milieu liquide. Le premier tube, dans l'ordre croissant, qui ne présente pas de turbidité au fond de tube, correspond à la CMI.

6.2.5. Détermination de la Concentration Minimale Fongicide

La Concentration Minimale Fongicide (CMF) est la plus petite concentration d'extrait qui ne laisse que 0,01 % ou moins de survivants de l'inoculum initial après 48 h d'incubation à 25°C. Pour déterminer la CMF, 10 µL de chaque bouillon à partir de CMI et plus a été ensemencé dans des boîtes de Pétri contenant le milieu de Sabouraud-dextrose Agar (SDA). Après incubation, le nombre des micro-organismes a été déterminé. La CMF est la concentration où 99,9 % ou plus de l'inoculum initial a été détruit.

6.2.6. Méthode de diffusion sur disque

L'activité antifongique a été déterminée par la méthode de diffusion sur disque. Un volume de 100 µL de suspension contenant 10^6 CFU / mL de cellules microbiennes, ont été étalées sur des boîtes Pétri contenant le milieu de Sabouraud-dextrose Agar(SDA). Les disques stériles (6 mm de diamètre) ont été séparément imprégnés avec 20 µL de divers extraits avec une concentration finale de 10 µg / mL et déposés sur la gélose qui a déjà été inoculée avec les levures de *Candida albicans*. Un disque d'antibiotique de référence approprié a été appliqué sur chaque boîte de Pétri (Itraconazole (8 µg / disque); il a servi comme témoin positif. Des disques de l'éthanol à 70 % ont été utilisés comme témoin négatif. Les boîtes ont été conservées à 4°C pendant 1 h. Puis, elles ont été incubées pendant 48 h à 25°C. L'activité antifongique a été évaluée en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition de croissance en millimètres (y compris le diamètre du disque de 6 mm). Trois répétitions ont été réalisées pour chaque extrait.

7. Analyses statistiques

Les analyses statistiques ont été effectuées en utilisant le programme JMP SAS 11.0.0 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA).

Pour optimiser l'extraction de la propolis marocaine, un plan factoriel ANOVA à deux facteurs a été utilisé pour analyser les données de l'effet des extraits et de solvant sur la CI_{50} et la teneur en polyphénol et l'effet des extraits et le temps d'extraction sur le rendement dans la propolis marocaine. Lorsque des différences statistiquement significatives ont été détectées, le post hoc de Tukey a été utilisé pour comparer les moyennes et l'erreur standard, compte tenu du niveau de signification de $P < 0,05$. Les données sont exprimées en moyenne \pm erreur standard (ES).

Afin d'étudier les activités antioxydante et antimicrobienne, un plan factoriel ANOVA à un seul facteur (extrait) a été utilisé pour analyser les données du polyphénol et du flavonoïde, I %, IC_{50} , et les diamètres d'inhibition bactériennes et fongiques dans chaque extrait de propolis. Le modèle statistique incluait l'effet fixe de l'extrait de propolis. Lorsque

des différences statistiquement significatives ont été détectées, le post hoc de Tukey a été utilisé pour comparer les moyennes et l'erreur standard, compte tenu du niveau de signification de $P < 0,05$. Les données sont exprimées en moyenne \pm erreur standard (ES).

Le test de corrélation du test de Spearman a été utilisé, le coefficient a été calculé pour évaluer la relation entre le polyphénol, le flavonoïde et le pourcentage d'inhibition (I %). Les différences entre les variables étaient considérées comme significatives, à $P < 0,05$.

Chapitre III :
Résultats Et Discussion

Introduction

Afin d'évaluer les produits Marocains locaux et de contribuer à leur valorisation, cette thèse a été consacrée à l'étude de la propolis Marocaine, un produit naturel plus ou moins inconnu et mal exploitée et qui est l'un des trésors de la ruche. Pour atteindre cet objectif et avoir la volonté de valoriser un sous-produit de la ruche, différents axes de recherche ont été élaborés dans le but de justifier l'importance de ce produit de la ruche. En effet, notre étude a été dédiée à une révision détaillée des données scientifiques disponibles concernant la propolis à partir de laquelle nous avons conclu que les recherches scientifiques concernant ce produit ont été très peu nombreuses.

Avant de commencer une étude au niveau de laboratoire, une série d'enquête a été abordée auprès des producteurs (85 producteurs) et des consommateurs (200 consommateurs) dans le but d'évaluer les informations et les connaissances sur ce produit. Par la suite, le travail a été consacré essentiellement sur l'étude quantitative et qualitative de certains constituants de la propolis ainsi que son activité antioxydante et antimicrobienne.

Dans ce contexte des échantillons de la propolis ont été collectés à partir de quatre régions du Maroc (Agadir, Rabat, Marrakech et Settat) et ils ont fait l'objet d'études approfondies sur leurs propriétés biologiques et leurs compositions chimiques. Afin d'obtenir les meilleurs résultats, une optimisation des techniques d'extraction de la propolis Marocaine a été étudiée.

L'étude de la composition chimique de la propolis, a été réalisée en quantifiant quelques composés principaux de la propolis (Polyphénols et flavonoïdes) avec la détermination des concentrations de certains minéraux des extraits étudiés.

La propriété biologique de la propolis d'origines des quatre régions a été étudiée en réalisant les activités : antioxydantes, antibactériennes et antifongiques. La mise en évidence de l'activité antibactérienne est évaluée, d'abord par la méthode de diffusion en milieu solide (milieu Muller-Hinton) pour la mise en évidence de l'activité inhibitrice de la croissance bactérienne par la mesure du diamètre d'inhibition autour d'un disque, ensuite par la méthode de dilution en milieu liquide pour la détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) et la Concentration Minimale Bactéricide (CMB).

L'activité antifongique des échantillons de propolis a été étudiée par les méthodes de dilution et de diffusion sur milieu solide, conformément aux directives standard du Comité national de laboratoire clinique.

Partie I :

1 Evaluation des informations des apiculteurs et consommateurs en matière de la propolis

1.1. Résultats

1.1.1. Questionnaire de l'évaluation des informations des apiculteurs

Une série d'enquête a été réalisé pour la collecte des différentes informations auprès de 85 producteurs de 4 régions étudiées (Rabat, Agadir, Settat et Marrakech). Les apiculteurs ont été répartis comme suit ; Agadir (13 apiculteurs), Rabat (28 apiculteurs), Settat (27 apiculteurs), Marrakech (17 apiculteurs).

Dans cette étude, on a remarqué que les apiculteurs dans leur majorité, sont âgés entre 40 et 50 ans (41 %). On a constaté aussi que, 1% sont de sexe féminin, par contre 99 % des apiculteurs adhérant à cette enquête sont de sexe masculin.

L'enquête a révélé que, que seulement 10 % des apiculteurs interrogés ont un niveau universitaire.

D'après l'enquête toujours, on ne constate que 40 % qui adoptent l'apiculture comme source de revenu principale. Notre étude a révélé aussi que 10 % des apiculteurs forment des coopératives, alors que 90 % travaillent individuellement.

Dans notre enquête, on a constaté que, uniquement 35 % ont suivis une formation dans ce domaine alors que, 65 % des apiculteurs n'ont pas eu une formation en apiculture. On a constaté aussi que, 20 % qui ont quelques connaissances sur ce produit

Les informations de notre enquête montrent que juste 5 % des apiculteurs produisent de la propolis. De même les apiculteurs qui connaissent l'utilité de la propolis ne représentent que 60 %.

Notre étude montre que, 20 % n'ont pas de matériel pour produire de la propolis, 30 % des apiculteurs déclarent un manque d'information concernant la production de la propolis et 40 % trouvent des difficultés de communications dans ce sujet.

En ce qui concerne la commercialisation de la propolis notre enquête a révélé que la marchandise de la propolis ne représente que 1% de la totalité des ventes réalisés par les apiculteurs interrogés.

L'étude a révélée aussi que 90 % des apiculteurs n'ont pas des connaissances sur la valeur de la propolis dans le marché local et international.

1.1.2. Evaluation des informations des consommateurs en matière de la production de la propolis

Sur un échantillon de 200 consommateurs qui ont accepté de répondre à notre questionnaire, l'enquête a montré que la plupart des consommateurs sont âgés de plus de 20 ans (Adultes), dont 46 % ont un âge entre 50 et 60 ans, et 37 % entre 40 et 50 ans, 25 % entre 30 et 40 ans, enfin, 2 % appartient à une tranche d'âge de 20 à 30 ans. Parmi les adhérents à cette enquête, le sexeféminin représente 85 %, contre 15 % pour le sexe masculin.

L'étude a montré que la consommation 90 % des personnes interrogés sur l'utilité de la propolis. L'enquête a révélé aussi que 98 % des consommateurs n'ont pas des informations sur la disponibilité de la propolis sur le marché local et uniquement 6 % des personnes interrogées ont consommées de la propolis auparavant.

Pour l'approvisionnement, 99 % des consommateurs achètent la propolis en ligne, par contre 1 % achètent la propolis directement à la ferme.

1.2. Discussion

En raison de sa diversité floristique, faunistique et paysagère importante, le Maroc est doté d'un potentiel apicole important et unique donnant ainsi un caractère spécial à cette filière agricole.

L'apiculture est un levier de développement rural accessible à des acteurs qui ne possèdent pas de terres et qui n'exige que des moyens relativement limités. À ce titre, les pouvoirs publics considèrent cette activité comme stratégique, à la fois d'un point de vue socio-économique et agro-écologique.

Au Maroc en particulier, l'apiculture tient traditionnellement une place importante dans la société. Le corpus documentaire concernant l'apiculture et les miels marocains est abondant (**Aazza et al., 2014**). Pourtant, malgré des efforts importants de l'État pour moderniser la filière, son développement reste bien limité, en particulier du fait de difficultés techniques (**Moujanni et al., 2017**).

Le travail présenté dans ce rapport, propose d'élaborer un diagnostic de la production et de la consommation de la propolis en se basant sur une enquête. On a distribué un questionnaire aux 85 apiculteurs et 200 consommateurs dans les quatre régions étudiées (Rabat, Agadir, Settat et Marrakech) pour tenter d'évaluer les connaissances de ces intervenants et enfin prendre cette étude comme point de départ pour d'autres recherches dans ce domaine.

D'après notre étude, on a remarqué que la filière apicole au Maroc se base encore sur les techniques traditionnelles. Cela vient du fait que la majorité des apiculteurs n'ont pas eu de

formation professionnelle et il y a un grand pourcentage d'apiculteurs dans le niveau d'étude ne dépasse pas le primaire et le secondaire. Ajoutant à cela, que le manque de coopérative rend l'encadrement de cette filière difficile.

En effet, l'apiculture marocaine était marquée par la prédominance du secteur traditionnel qui représentait près de 70 % de la filière. Cependant, dernièrement sur le plan de l'évolution des indicateurs de performance de l'apiculture marocaine, la tendance est légèrement haussière pour le nombre d'apiculteurs, alors que le nombre de ruche connaît une linéarité plus au moins stable (aux alentours de 400.000 ruches).

Le manque d'information sur la propolis et des moyens chez les apiculteurs nécessite une formation qui doit être encadré par les autorités nationales. En effet, Le Fonds de Développement Agricole (FDA) vise à promouvoir l'investissement privé dans le secteur agricole et de l'orienter, à travers des subventions et des primes ciblées, vers des activités permettant une meilleure exploitation du potentiel agricole national.

La propolis tant qu'un produit de la ruche est mal connu par les consommateurs marocains, c'est pour cette raison qu'il faut cerner les envies et les attentes des consommateurs pour adopter l'offre, qui doit correspondre à l'image qu'ils se font de ce produit.

Le but de notre étude était de dresser un portrait, dans le contexte actuel de la filière apicole (Production de la propolis), de la perception du consommateur marocain de la propolis, de ses attentes et de ses préférences. Les résultats de notre étude vont permettre aux professionnels de cette filière de mieux cerner la situation actuelle en termes de comportements de consommation ainsi que les problématiques en termes de commercialisation, de dégager les principaux enjeux et d'identifier des pistes de solutions (opportunités et orientation des efforts de développement, ainsi que l'identification des outils de valorisation), par conséquent, en se basant sur l'enquête réalisée on a constaté que la majorité des consommateurs ne connaissent pas l'importance de cette substance tant que produit alternatif sans oublier la difficulté de trouver le produit dans le marché local. Il faut signaler que en général la propolis qui existe au Maroc il s'agit d'un produit chinois.

Devant cette situation, pour développer la production de la propolis au Maroc, il faut encourager les apiculteurs de produire de plus ce produit en fournissant les moyens et les techniques modernes et fournir les conditions et les mécanismes pour le commercialiser au niveau local et international sans oublier d'organiser des foires et des journées de sensibilisation de l'importance de ce produit organisées par les autorités compétentes afin d'encourager les consommateurs d'utiliser de plus la propolis marocaine.

Partie II :

2. Optimisation de l'extraction de propolis collectée dans différentes régions du Maroc

Toutes les étapes de l'extraction doivent être maîtrisées avec précision pour obtenir un produit final de qualité optimale. Dans cette optique, le temps d'extraction, les solvants d'extraction et l'origine de la propolis jouent un rôle décisif dans l'optimisation d'extraction de la propolis.

L'objectif principal de cette partie est de déterminer les principaux facteurs qui influencent l'extraction de la propolis pour avoir des bonnes propriétés biologiques, c'est à dire une bonne activité biologique d'une part, et d'autre part d'optimiser l'extraction de certains composés chimiques et des éléments minéraux. Il faut signaler que cette optimisation est une étape très importante pour la suite de notre travail.

2.1. Résultats

L'analyse de la variance montre que l'extrait et le solvant ainsi que leurs combinaisons avaient un effet sur l'IC₅₀, sur le rendement et aussi sur la teneur en polyphénol ($P < 0,05$). L'extrait et le temps d'extraction ainsi que leurs relations avaient un effet significatif sur le rendement (Tableau 6). Le temps d'extraction dans cette étude avait un effet significatif sur le rendement, ($P < 0,05$) (Tableau 6).

Tableau 6 : Signification des facteurs (extrait / solvant et temps d'extraction) sur l'IC₅₀, la teneur en polyphénol et le rendement

| Paramètres | Source | Probabilité |
|------------------------------|------------------------------|--------------------|
| Rendement | Origine de la propolis | < 0,05 |
| | Solvant | < 0,05 |
| | Origine / Solvant | < 0,05 |
| | Temps d'extraction | < 0,05 |
| | Origine / Temps d'extraction | < 0,05 |
| Teneur en polyphénols | Origine de la propolis | < 0,05 |
| | Solvant | < 0,05 |
| | Origine / Solvant | < 0,05 |
| IC₅₀ | Origine de la propolis | < 0,05 |
| | Solvant | < 0,05 |
| | Origine /Solvant | < 0,05 |

On constate aussi d'après le tableau 7, que quel que soit l'origine de la propolis, la

valeur d'rendement est maximale après 14 jours, ces valeurs varient entre 31,45 % pour la propolis de Marrakech et 69,45 % pour la propolis de Rabat. Ensuite, le rendement se stabilise jusqu'à un mois (30 jours) ($P < 0,05$). L'EEP₃ a enregistré le meilleur rendement quel que soit la durée d'extraction, ce rendement varie entre 33,67 % et 69,45 %) suivis de l'EEP₁ dont les valeurs varient entre 23,73 % et 45,12 % .Par contre L'EEP₂ a donné les plus faibles rendements quel que soit la durée d'extraction, ces valeurs sont comprises entre 17,41 % et 31,45 %. Tandis que les résultats enregistrés pour l'EEP₄ ont été intermédiaires avec des valeurs obtenues entre 24,39 % et 43,15 %.

Tableau 7 : Effet de la variation du temps d'extractions sur le rendement (%) de l'extrait éthanolique à 70 % des différentes propolis prélevées dans différentes régions marocaines (EEP₁ : Agadir, EEP₂: Marrakech, EEP₃ : Rabat, EEP₄ : Settat)

| Temps | EEP₁ | EEP₂ | EEP₃ | EEP₄ |
|------------------|---------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| 24 heures | 23,73±0,85 ^{cC} | 17,41±0,42 ^{cD} | 33,67±0,59 ^{cA} | 24,39±0,61 ^{dB} |
| 7 jours | 41,46±0,66 ^{bB} | 29,53±0,16 ^{bC} | 67,32±0,45 ^{bA} | 40,33±0,78 ^{bB} |
| 14 jours | 45,12±0,52 ^{aB} | 31,45±0,78 ^{aD} | 69,45±0,13 ^{aA} | 42,42±0,58 ^{aC} |
| 30 jours | 45,10 ±0,78 ^{aB} | 31,19±0,58 ^{aD} | 69,75±0,87 ^{aA} | 43,15±0,72 ^{aC} |

- Les valeurs sont en moyennes ± écart type. Les moyennes avec différentes lettres en exposant (a, b, c, d, e) sur une colonne indiquent un effet significatif de temps d'extraction pour chaque extrait à $P < 0,05$
- Les valeurs sont en moyennes ± écart type. Les moyennes avec différentes lettres en exposant (A, B, C, D) sur une ligne indiquent un effet significatif de d'extrait pour chaque temps d'extractions à $P < 0,05$

Les résultats des effets de différents solvants sur le rendement (%) des propolis prélevée à partir de différentes régions marocaines (EP₁ : Agadir, EP₂ : Marrakech, EP₃ : Rabat, EP₄ : Settat).sont présentés dans la figure 11.

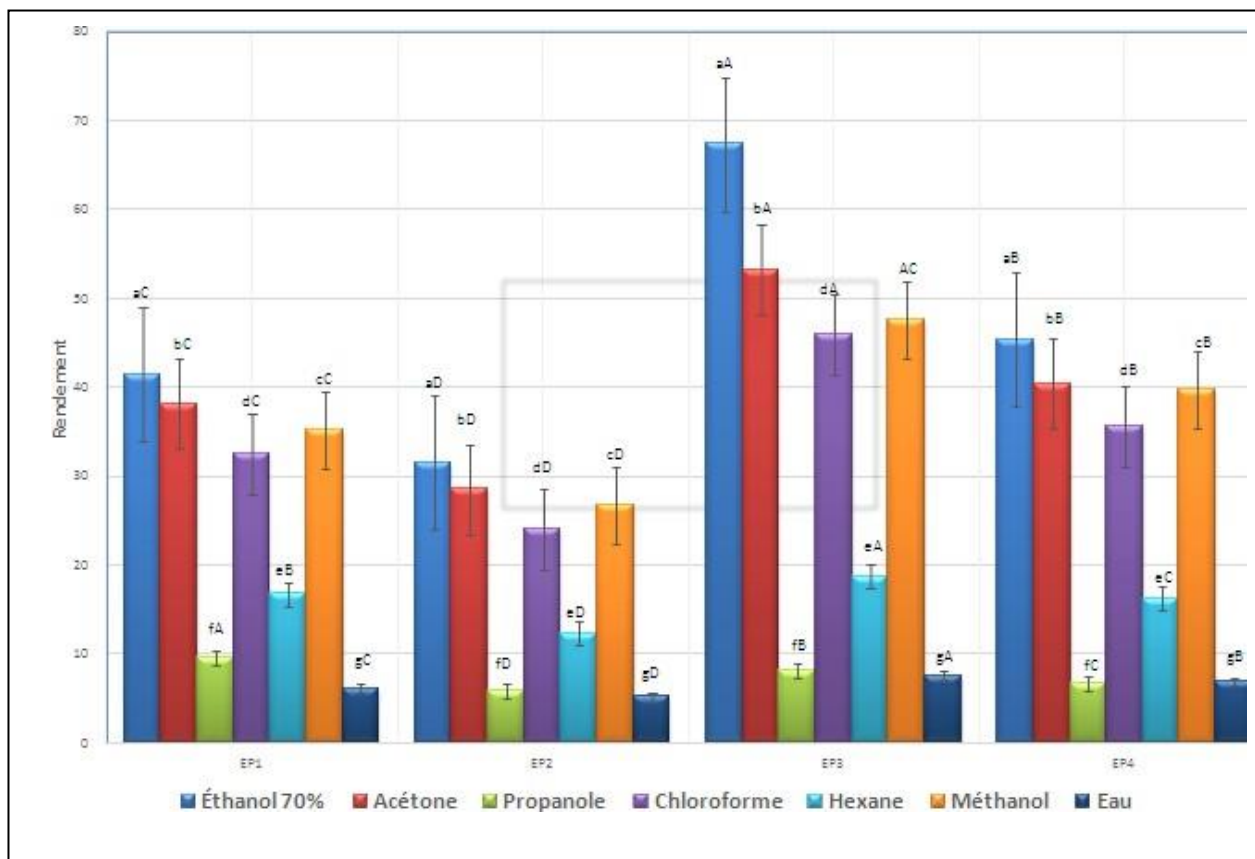


Figure 11 : Effet de différents solvants sur le rendement (%) des propolis prélevées dans différentes régions marocaines (EP₁ : Agadir, EP₂ : Marrakech, EP₃ : Rabat, EP₄ : Settat).

- Les valeurs sont en moyennes \pm écart type. Les moyennes avec différentes lettres en exposant (a, b, c, d, e) sur une colonne indiquent un effet significatif de solvant pour chaque extrait à $P < 0,05$
- Les valeurs sont en moyennes \pm écart type. Les moyennes avec différentes lettres en exposant (A, B, C, D) sur une ligne indiquent un effet significatif de d'extrait pour chaque solvant à $P < 0,05$

On remarque d'après les résultats de la figure 26 que l'extrait éthanolique à 70 % a enregistré significativement les rendements les plus élevés pour toutes les propolis avec une valeur de 69,45 % , suivis par l'acétone 53,13 % , puis le méthanol 47,49 % ; après, c'est le chloroforme 45,91 % , l'hexane 18,75 % ; Propanole 8,16 % et finalement l'eau 7,56 %.

L'extrait de la propolis d'origine de Rabat (EP₃) a donné les rendements les plus élevés pour tous les solvants sauf pour le propanole ($P < 0,05$). Suivis par l'extrait de la propolis d'origine de Settat (EP₄) avec tous les solvants sauf pour le propanole et l'hexane ($P < 0,05$). L'extrait de la propolis d'origine d'Agadir (EP₁) a donné les meilleurs rendements pour le propanole suivis par le méthanol ($P < 0,05$) ; alors que les autres solvants ont donné les plus faibles rendements. Finalement et quel que soit le solvant utilisé ($P < 0,05$), on a obtenu les plus faibles rendements avec l'extrait de la propolis d'origine de Marrakech (EP₂).

La concentration en polyphénol a été significativement affectée par l'origine de l'extrait, par le solvant utilisé et également par leurs combinaisons (tableau 8).

Tableau 8 : Effet de différents solvant sur la teneur en polyphénol en (mg GAE / g) de propolis prélevées dans différentes régions marocaines (EP₁ : Agadir, EP₂ : Marrakech, EP₃ : Rabat, EP₄ : Settat).

| Solvant | EP ₁ | EP ₂ | EP ₃ | EP ₄ |
|--------------------|----------------------------|---------------------------|----------------------------|-----------------------------|
| Ethanol 70% | 191,18± 0,91 ^{ab} | 77,89± 1,91 ^{ad} | 241,66± 2,84 ^{aA} | 127,22 ± 2,61 ^{aC} |
| Acétone | 160,42±43 ^{cB} | 50±0,86 ^{cD} | 213±0,72 ^{cA} | 73±0,66 ^{cC} |
| Propanole | 3,91±0,41 ^{fC} | 2,23±0,91 ^{fD} | 4,15±0,87 ^{fA} | 3,10 ±0,22 ^{fB} |
| Chloroforme | 138±0,73 ^{dB} | 42,23±0,61 ^{dD} | 199±0,72 ^{dA} | 65,19±0,85 ^{eC} |
| Hexane | 23,23 ±0,68 ^{eD} | 22,14±0,75 ^{eC} | 29±0,49 ^{eA} | 7,18±0,17 ^{fB} |
| Méthanol | 166,78±0,33 ^{bB} | 55,13±0,45 ^{bD} | 222±0,86 ^{bA} | 89±0,54 ^{bC} |

- Les valeurs sont en moyennes ± écart type. Les moyennes avec différentes lettres en exposant (a, b, c, d, e) sur une colonne indiquent un effet significatif de solvant pour chaque extrait à P <0,05.
- Les valeurs sont en moyennes ± écart type. Les moyennes avec différentes lettres en exposant (A, B, C, D) sur une ligne indiquent un effet significatif d'extrait pour chaque solvant à P <0,05.

On remarque que, quel que soit le solvant utilisé, l'extrait EP₃ a donné la concentration la plus importante de polyphénol avec des valeurs, entre 4,15 GAE / g et 241,66 mg GAE /g. Tandis que, l'extrait EP₂ a enregistré la teneur en polyphénol la plus faible entre 2,23 mg GAE/ g et 77,89 mg GAE/g.

On remarque aussi d'après les résultats du tableau 8, que l'extraction avec l'éthanolique à 70% a donné les meilleurs teneurs en polyphénol pour les quatre extraits (77,89 mg GAE / g et 241,66 mg GAE / g), tandis que le l'extraction avec du propanole, a donné les plus faibles concentrations en polyphénol (2,23 mg GAE / g et 4,15 mg GAE / g).

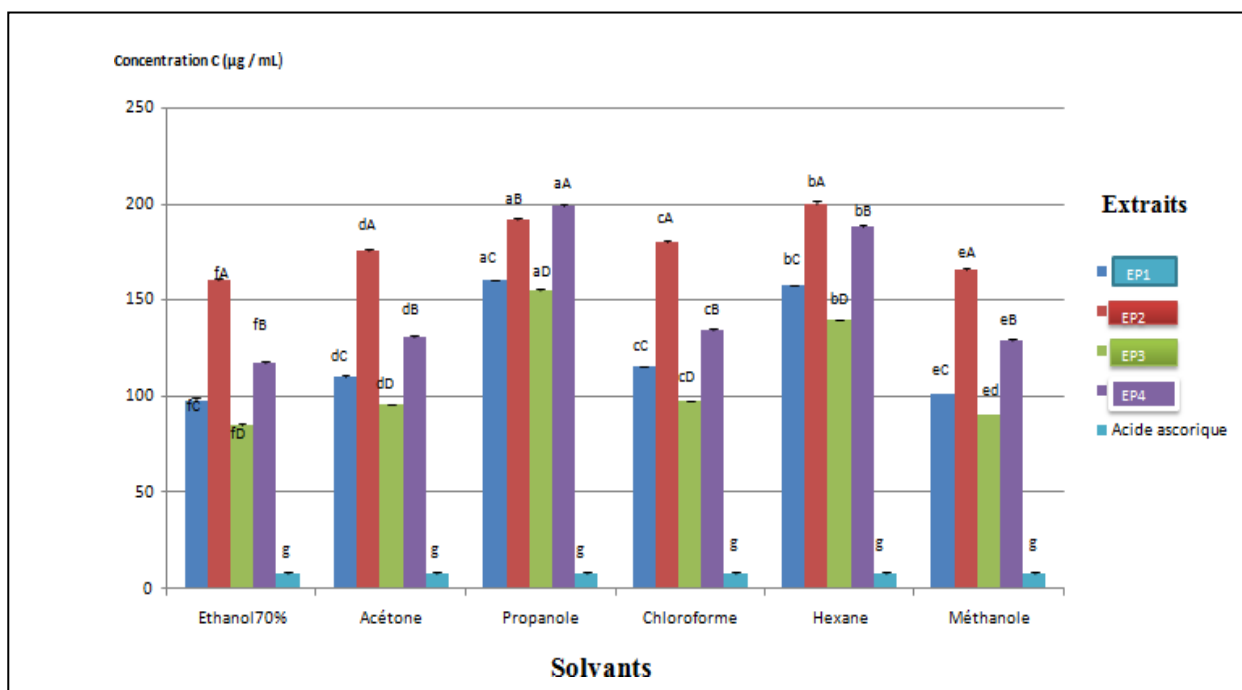


Figure 12 : Effet de différents solvants sur la valeur de l'IC₅₀ de propolis prélevées dans différentes régions marocaines (EP₁ : Agadir, EP₂ : Marrakech, EP₃ : Rabat, EP₄ : Settat).

- Les valeurs sont en moyennes ± écart type. Les moyennes avec différentes lettres en exposant (a, b, c, d, e) sur une barre indiquent un effet significatif de solvant pour chaque extrait à P < 0,05.
- Les valeurs sont en moyennes ± écart type. Les moyennes avec différentes lettres en exposant (A, B, C, D) sur une barre indiquent un effet significatif de d'extrait pour chaque solvant à P < 0,05.

On remarque d'après la figure 12, que quel que soit l'extrait de propolis, l'extraction avec l'éthanol à 70 % a donné les plus faibles IC₅₀ par rapport aux autres solvants (P < 0,05). Tandis que le propanole a enregistré les plus grandes valeurs d'IC₅₀ avec EP₁, EP₃ et EP₄ (P < 0,05), pour l'extrait EP₂, c'est le solvant hexane qui donne les meilleurs résultats (P < 0,05).

En ce qui concerne les autres solvants (Acétone, Chloroforme, Méthanol), ils ont donné des résultats intermédiaires (P < 0,05). Quel que soit le solvant utilisé, l'extrait EP₂ a enregistré les plus grandes valeurs d'IC₅₀ (P < 0,05), suivis par l'EP₄ (P < 0,05) puis l'EP₁ (P < 0,05) et finalement l'extrait EP₃ a donné les plus faibles valeurs d'IC₅₀.

2.2. Discussion

Le but de cette étude est d'optimiser l'extraction de la propolis marocaine. Dans un premier temps, on a constaté que la durée de 14 jours d'extraction avec de l'éthanol à 70 % a donné les meilleurs rendements. Ensuite, on a utilisé différents solvants pour optimiser l'extraction de la propolis (rendement et teneur en polyphénol élevés). En effet, le méthanol, l'hexane, l'acétone, le propanole, l'éthanol et l'eau sont les solvants courants pour extraire les composés phénoliques de la propolis, en particulier l'éthanol et l'eau (Bankova et al., 2000).

Nos résultats montrent que l'extrait éthanolique à 70 % donne de meilleurs résultats. Ces résultats sont cohérents avec des études précédentes.

Par exemple, (**Papova et al. 2015**) ont rapporté que le rendement d'extraction avec de l'éthanol pour extraire la propolis brésilienne était le meilleur par rapport aux autres solvants (acétone, chloroforme, hexane, méthanol et propanole).

Il était intéressant de noter dans notre étude que l'extrait éthanolique à 70 % de la propolis contenait une riche composition phénolique, non seulement des composés polaires, mais également d'autres composés faiblement polaires et apolaires (composée d'hydrocarbure et de myricyle palmitate qui forment ensemble un lipide insoluble dans l'eau est donc apolaire).

Des résultats similaires ont été illustrés dans les recherches précédentes, indiquant que le solvant éthanol / eau est particulièrement adapté pour obtenir des extraits de propolis riches en composants phénoliques, en particulier en flavonoïdes à haute teneur (**Pietta et al., 2002**). Cela peut être dû au fait que les solvants aqueux conviennent pour l'extraction de certains composés bioactifs à forte polarité ; l'éthanol ou le solvant éthanol / eau convient pour l'extraction de certains composés bioactifs avec une large gamme de polarité. Ainsi, ces résultats impliquent que l'éthanol à 70 % peut être appropriés pour extraire les composés phénoliques de la propolis.

Les propriétés antioxydantes des extraits de propolis ont été déterminées par la méthode d'IC₅₀. Notre étude a révélé que l'extrait éthanolique à 70 % a montré une activité antioxydante plus importante par rapport aux autres solvants (acétone, chloroforme, hexane, méthanol et propanole). Des résultats similaires ont été observés par (**Mello and Hubinger., 2012**), rapportant que les extraits d'éthanol présentaient une activité antioxydante importante. Une autre étude a également montré que l'éthanol à 70 % pouvait affecter l'activité antioxydante des extraits de propolis (**Cottica et al., 2011**). Le pouvoir antioxydant observé dans cette étude a été en concordance avec les teneurs en polyphénols. Chose qui nous permet de supposer que ce sont les polyphénols qui sont responsables de l'activité antioxydante observée.

En effet, le mécanisme de la propriété antioxydante de la propolis est dû aux composés phénoliques qui donnent des ions hydrogène aux radicaux libres pour protéger les cellules contre les réactions d'oxydation.

La propolis a la capacité d'éliminer les radicaux libres, qui sont la principale cause de l'oxydation des lipides, des acides nucléiques et des protéines (**Chandna et al., 2014**). Dans cette étude on a constaté que le rendement, la concentration en polyphénol et l'activité antioxydante étaient plus fortes avec les extraits de la propolis de la région de Rabat et

d'Agadir.

Cela vient du fait que l'origine de la propolis est un facteur marquant dans sa composition, vu que cette dernière dépend de la région, de l'environnement de la flore botanique qui se situe à proximité immédiate des ruches et aussi aux préférences alimentaires de l'abeille (**Kumazawa et al.,2008**).

Partie III :

3. Quantification de quelques composés principaux de la propolis et l'étude de l'activité antioxydante

3.1. Résultats

3.1.1. Dosage des polyphénols et flavonoïdes

La teneur en polyphénols est estimée par la méthode de Folin-Ciocalteu, chaque extrait a été rapporté en mg équivalent d'acide gallique / g d'extrait sec. De même les résultats obtenus après le dosage des flavonoïdes dans les extraits issus des différents extraits de la propolis, en utilisant la méthode de trichlorure d'aluminium.

Les résultats des concentrations totales en polyphénols et en flavonoïdes des échantillons d'extraits de la propolis des quatre régions du Maroc sont rapportés dans le (tableau 9). Ces résultats montrent qu'il y avait un effet significatif entre les régions de collecte ($P < 0,05$). Les quantités de composés phénoliques et de flavonoïdes des extraits de propolis varient en fonction de l'endroit où les échantillons ont été prélevés.

La concentration en polyphénol la plus élevée a été enregistrée avec l'extrait de propolis de la région de Rabat ($241,66 \pm 2,84$ mg GAE / g), suivi de l'extrait d'Agadir ($191,18 \pm 0,91$ mg GAE / g), ensuite l'extrait de Settat ($127,22 \pm 2,61$ mg GAE / g) et enfin, l'extrait de Marrakech avec les valeurs les plus faibles ($77,89 \pm 1,91$ mg GAE / g).

De même la plus faible la concentration en flavonoïdes a été obtenue avec l'extrait de la région de Marrakech ($12,13 \pm 0,29$ mg QE / g) et la plus élevée avec l'extrait de la région de Rabat ($91,48 \pm 1,47$ mg QE / g).

Tableau 9: Teneur totale en phénols et flavonoïdes des différents extraits éthanoliques de propolis prélevés dans différentes régions

| Extraits éthanoliques de la propolis | Teneur en phénols totale (mg GAE / g) | Teneur en flavonoïde (mg QE / g) |
|---|--|---|
| EEP₁ | $191,18 \pm 0,91^b$ | $70,93 \pm 2,26^b$ |
| EEP₂ | $77,89 \pm 1,91^d$ | $12,13 \pm 0,29^d$ |
| EEP₃ | $241,66 \pm 2,84^a$ | $91,48 \pm 1,47^a$ |
| EEP₄ | $127,22 \pm 2,61^c$ | $46,52 \pm 0,63^c$ |

- Les valeurs sont en moyenne \pm écart type. Les moyennes avec différentes lettres en exposant dans une colonne sont significativement différentes à $P < 0,05$.

- Les valeurs sont en moyennes \pm écart type. Les moyennes avec différentes lettres en exposant (a, b, c, d) sur unecolonne sont significativement différentes à $P < 0,05$.

4. Activité antioxydante et corrélation avec les teneurs en phénols et flavonoïdes

4.1. Résultats

4.1.1. Activité antiradicalaire de la propolis par le test de DPPH

- Pourcentage d'inhibition I %

Le test DPPH° permet de mesurer le pouvoir antiradicalaire de molécules pures ou d'extraits végétaux dans un système modèle (solvant organique, température ambiante). Il mesure la capacité d'un antioxydant (composés phénoliques généralement) à réduire le radical chimique DPPH° (2,2- diphenyl-1-picrylhydrazyl) par transfert d'un hydrogène.

Le DPPH°, initialement de couleur violet, se transforme en DPPH-H, de couleur jaune pâle. La réduction du DPPH° est facilement mesurée par spectrophotométrie à 517 nm (λ max DPPH°). Les résultats obtenus sont exprimés en I %. L'acide ascorbique est utilisé comme un contrôle positif.

- Courbe d'étalonnage de la solution de DPPH°

Avant de commencer les tests de l'activité antioxydante, la stabilité et l'intervalle de linéarité des solutions de DPPH° doit être évalués et les résultats sont présentés graphiquement. Six volumes de solutions du DPPH° (5, 10, 15, 25, 50 et 60 μ M) à base du méthanol ont été testées (figure 13).

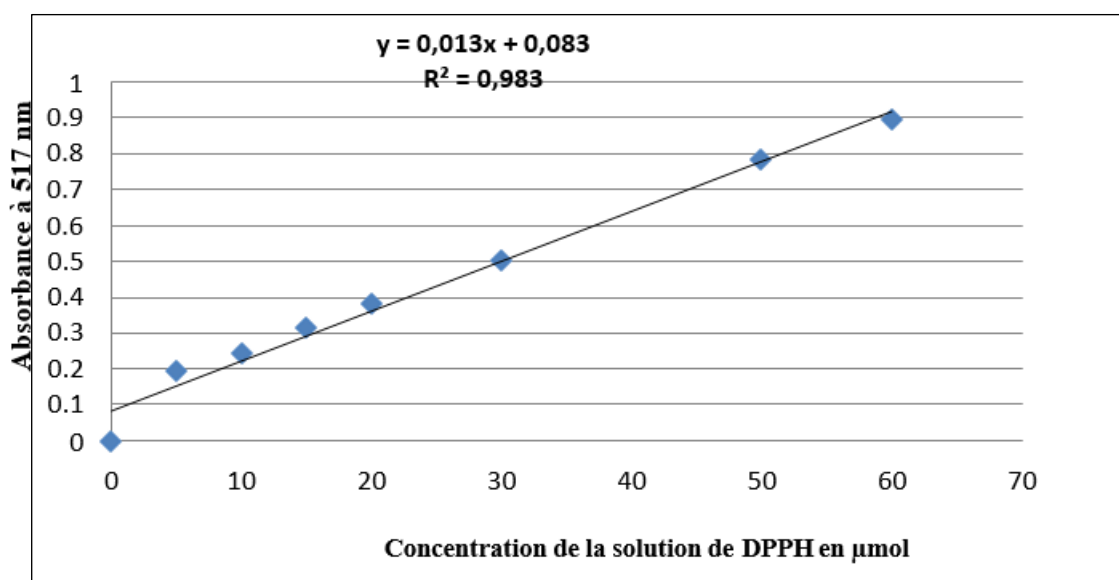


Figure 13 : Courbe d'étalonnage de la solution du DPPH°

On remarque que tous les extraits éthanoliques des échantillons étudiées possèdent une activité antioxydante et ils sont capables de piéger le radical DPPH avec des valeurs variables

selon les régions étudiées. Les pourcentages d'inhibition des différents extraits de la propolis et de l'acide ascorbique (AS) sont illustrés dans la figure 14. Les activités antioxydantes les plus élevées ont été obtenues avec les extraits de Rabat et d'Agadir avec des pourcentages d'inhibition (I %) de valeurs de (I % = 88 %) et (I % = 77 %), respectivement. Un faible pourcentage d'inhibition a été enregistré avec les extraits éthanoliques de Settat (I % = 66 %), et de Marrakech (I % = 49 %). L'acide ascorbique a enregistré le pourcentage d'inhibition le plus élevé (I % = 92 %). Les capacités antioxydantes de ces quatre extraits sont statistiquement significativement différentes.

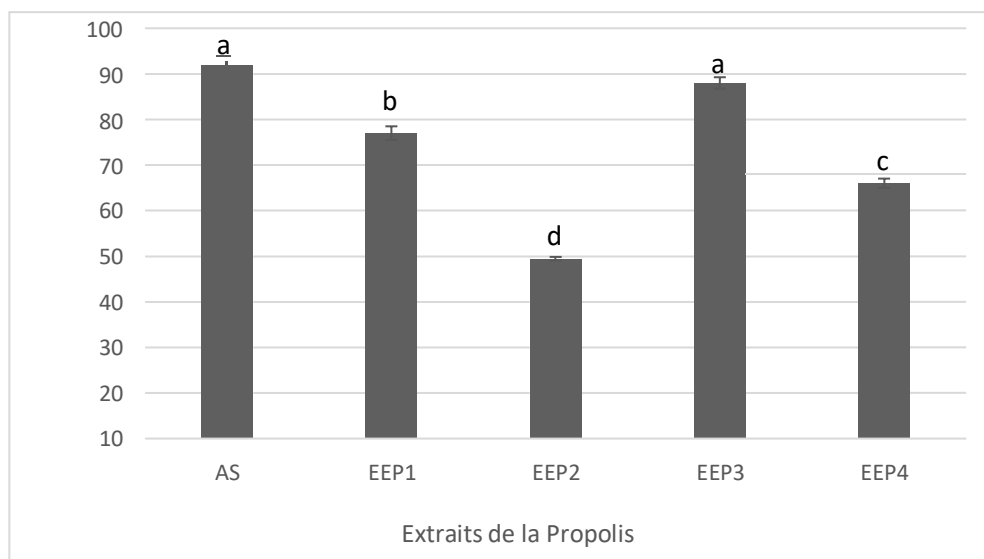


Figure 14: Activité de piégeage des radicaux libres DPPH (I%) des différents extraits éthanoliques de la propolis d'origines marocaines EEP₁ : Agadir, EEP₂ : Marrakech, EEP₃ : Rabat, EEP₄ : Settat).

- Les valeurs sont en moyennes \pm écart type. Les moyennes avec différentes lettres en exposant (a, b, c, d) sur une barre sont significativement différentes à $P < 0,05$. Etude de la corrélation entre les teneurs en polyphénols et flavonoïdes et l'activité antioxydante

On constate qu'il existe une forte corrélation positive entre les concentrations de polyphénols et de flavonoïdes de propolis dans les quatre régions du Maroc. Une corrélation positive hautement significative ($P < 0,001$) a été observée entre le polyphénol, la teneur en flavonoïdes et l'activité antioxydante (tableau 10).

Le coefficient de corrélation (Tableau 10) établi entre la teneur des extraits éthanoliques de la propolis en polyphénols et l'activité antioxydante est fortement significatif (0,979), indiquant que 97,9 % de la capacité antioxydante des extraits, sont dus à la contribution des composés phénoliques qui sont les antioxydants dominants dans ces extraits.

La teneur en polyphénols totaux des extraits éthanoliques de la propolis s'est corrélée

significativement avec leurs activités antiradicalaires.

Tableau 10 : Corrélation entre polyphénol, teneur en flavonoïde et I% des différents extraits éthanoliques de la propolis prélevés dans différentes régions marocaines

| Variable | Par variable | ρ de Spearman | Prob.> $ \rho $ |
|-------------|--------------|--------------------|-----------------|
| Flavonoïdes | Polyphénols | 0,902 | < 0,001 |
| I% | Polyphénols | 0,979 | < 0,001 |
| I% | Flavonoïdes | 0,909 | < 0,001 |

La corrélation est significative à $P < 0,05$. I% : pourcentage d'inhibition.

- **Détermination de l'IC₅₀ (Concentration inhibitrice à 50 %)**

L'IC₅₀ est inversement proportionnel à la capacité antioxydante d'un composé, parce qu'il exprime la quantité d'antioxydant requise pour diminuer la concentration du radical libre de 50 %. Plus la valeur d'IC₅₀ est faible, plus l'activité antioxydante d'un composé est importante.

On détermine la cinétique de la réaction et les paramètres de calcul de l'activité antioxydante pour l'acide ascorbique (index IC₅₀) (figure 30), dans le but de faire une comparaison entre le pouvoir antioxydant des extraits étudié et celui de l'acide ascorbique.

Pouvoir anti oxydant de l'acide ascorbique :

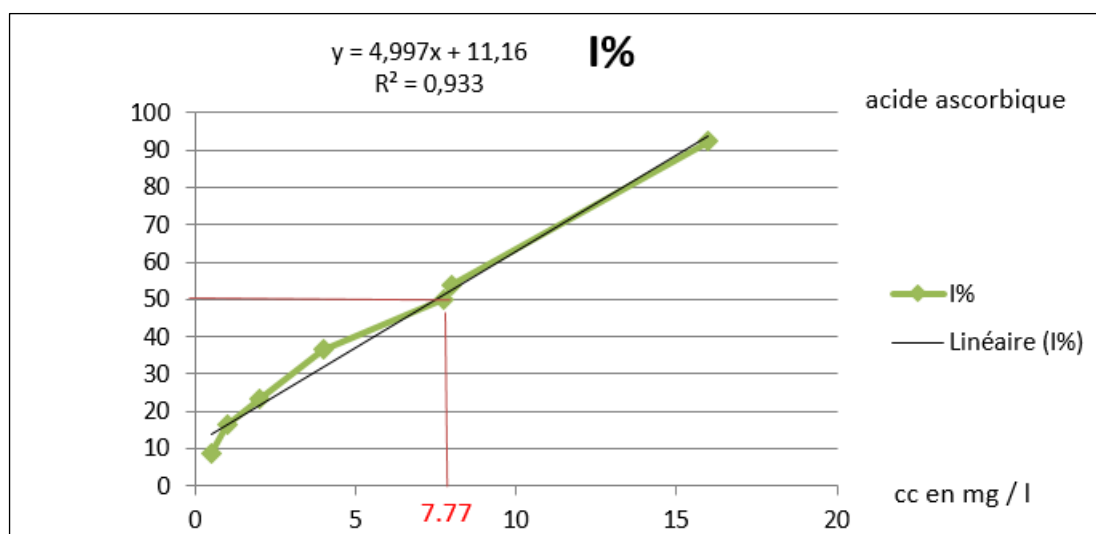


Figure 15 : Valeur de l'IC₅₀ de l'acide ascorbique

Le pouvoir antioxydant étant inversement proportionnel à la valeur de l'IC₅₀. L'acide ascorbique ayant l'IC₅₀ le plus faible, soit 7,77 ± 0,2 µg / mL (figure 31), possède alors la plus grande activité antiradicalaire comparativement aux autres extraits éthanoliques testés. Les quatre extraits ont un pouvoir antioxydant moins important par rapport à l'acide ascorbique comme la molécule de référence pour le test au DPPH.

Les valeurs d'IC₅₀ obtenues (Figure 16) permettent de classer la capacité de piégeage du radical DPPH par les extraits testés par rapport à l'acide ascorbique et entre elles. L'EEP₁ (IC₅₀ : 99,26 ± 1,05 µg / mL) et l'EEP₃ (IC₅₀ : 84,97 ± 0,92 µg / mL) ont une activité antiradicalaire proche. Ces deux extraits ont une activité antioxydant plus importante par rapport aux extraits de l'EEP₂ (IC₅₀: 159,55 ± 1,9 µg / mL) et l'EEP₄ (IC₅₀ : 118,97 ± 1,2 µg / mL).

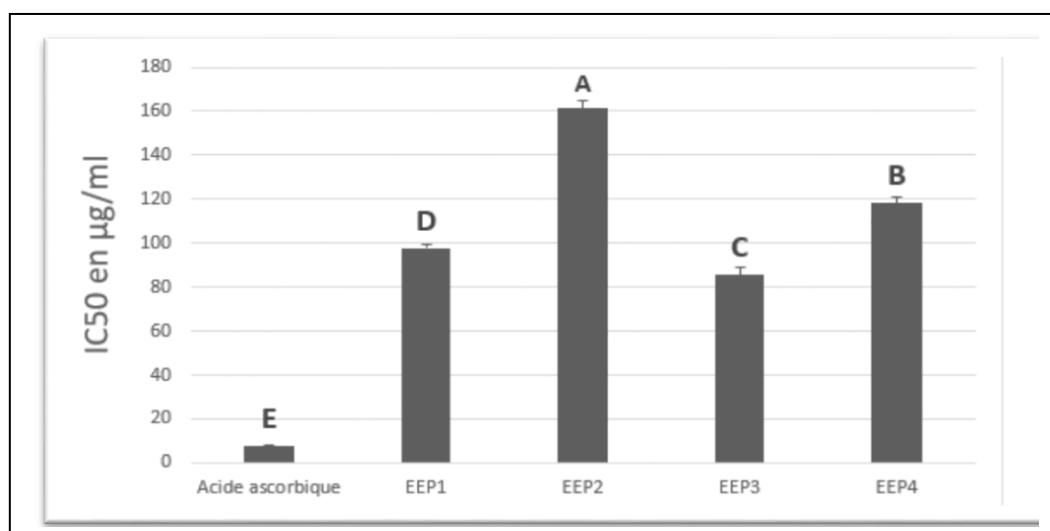


Figure 16 : Valeurs d'IC₅₀ de l'acide ascorbique et les différents extraits éthanoliques de la propolis de différentes régions marocaines (EEP₁ : Agadir, EEP₂ : Marrakech, EEP₃ : Rabat, EEP₄ : Settat)

4.1.2. Détermination du pouvoir réducteur de la propolis par le test de FRAP

Le test de réduction du fer a été réalisé pour mesurer l'activité antioxydante des extraits éthanoliques de la propolis des 4 régions étudiées. La présence des réducteurs dans les extraits a donc provoquée la réduction de l'ion fer Fe³⁺ (complexé) en ion ferreux Fe²⁺. Les résultats obtenus sont présentés le tableau 11.

L'analyse de l'extrait EEP₃ par le test de FRAP montre également une valeur plus élevée de l'équivalent µmol Fe²⁺ / g, indiquant une activité antioxydante plus importante.

Une activité antioxydante plus faible a été observée dans l'extrait EEP₂, à la fois par l'activité anti-radicalaire de la propolis par le test de DPPH et par la détermination du pouvoir réducteur de la propolis par le test de FRAP (tableau 11).

De même, cet extrait de propolis présentait la concentration la plus faible de composés

phénoliques totaux et de flavonoïdes. Plusieurs études établissent une relation entre l'activité antioxydante des extraits éthanoliques de propolis et leur contenu de composés phénoliques, tels que les flavonoïdes (Kortenska et al., 2002 ; Kumazawa, et al., 2004) .

Tableau 11 : Activité anti oxydante et composition des extraits éthanoliques de la propolis Marocaine

| Extraits | DDPH/ IC ₅₀ µg/ mL | FRAP (µmol Fe ²⁺ /g PE) | polyphénols (mg GAE/g) | Flavonoïdes (mg (QE/g) |
|-------------------------|-------------------------------|------------------------------------|------------------------|------------------------|
| EEP₁ | 97,66 ± 1,52 | 816 ± 3,1 | 191,18 ± 0,91 | 70,93 ± 2,26 |
| EEP₂ | 161,33 ± 3,21 | 533±2 | 77,89 ± 1,91 | 12,13 ± 0,29 |
| EEP₃ | 85,66 ± 3,5 | 1040 ± 2,9 | 241,66 ± 2,84 | 91,48 ± 1,47 |
| EEP₄ | 118,33 ± 2,51 | 610 ± 4,8 | 127,22 ± 2,61 | 46,52 ± 0,63 |
| Acide ascorbique | 7,72 ± 0,30 | 2104 ± 4 | ----- | ----- |

Les corrélations entre les résultats de la méthode, DPPH et le FRAP, et le contenu des composés phénoliques et des flavonoïdes sont indiquées dans la figure 17. Une corrélation négative est observée entre la teneur en DPPH - flavonoïde (-0,9875), la teneur en DPPH-polyphénols (- 0,9564) et la DPPH -FRAP (-0,9576), parce qu'une faible valeur d'IC₅₀ dans la méthode DPPH est liée à des teneurs élevées en composés phénoliques et en flavonoïdes.

La corrélation entre la teneur en polyphénols - flavonoïdes était fortement positive (0,9898), ainsi que la corrélation entre le contenu FRAP - phénolique (0,9831), ce qui indique que la puissance de réduction élevée par la méthode de FRAP peut être lié à la teneur en composés phénoliques présents dans les extraits.

D'autre part, la valeur du FRAP est liée aussi à la teneur en flavonoïdes, car le coefficient de corrélation entre la teneur en flavonoïdes du FRAP est de 0,9501. Ceci indique que les flavonoïdes est les polyphénols dans les extraits analysés sont importants pour l'activité antioxydante par le test des radicaux libres de DPPH, mais aussi pour la puissance de réduction observée par la méthode FRAP.

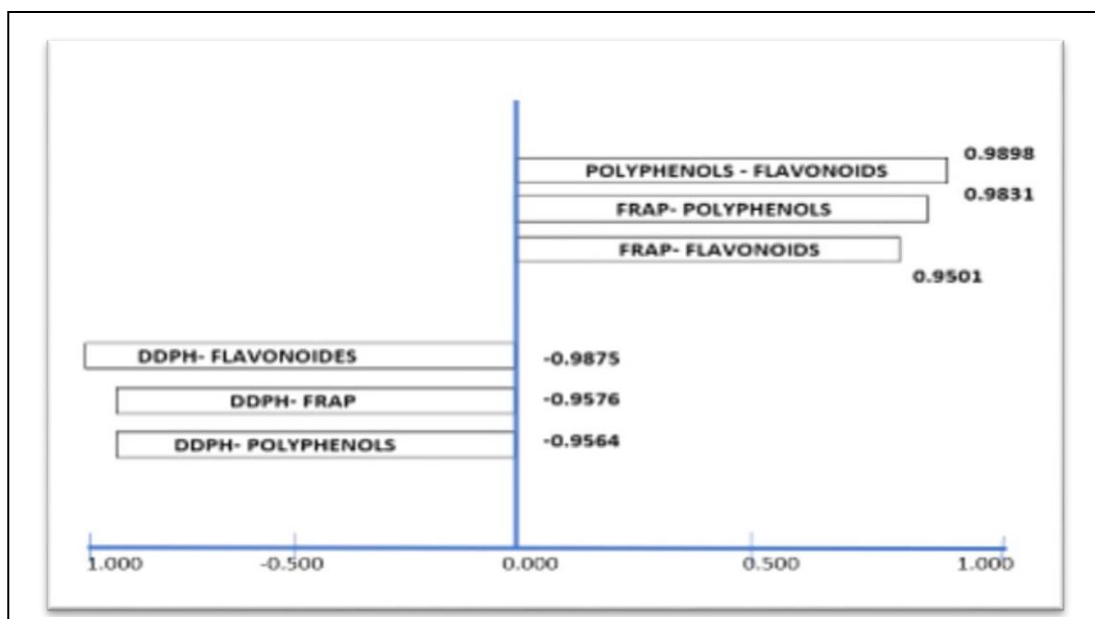


Figure 17: Coefficient de corrélation entre les méthodes DDPH, FRAP et les composés en polyphénols et en flavonoïdes

4.1.3. Détermination des concentrations de certains minéraux des extraits éthanoliques de la propolis Marocaine

Comme le montre les résultats de la figure 18, la teneur en calcium des EEP_1 et EEP_4 est de 34 mg / 100 g et 48 mg / 100 g respectivement tandis que cette teneur dans l' EEP_2 et l' EEP_3 , est de 13 mg / 100 g et 19 mg / 100 g respectivement. Ces valeurs sont inférieures aux résultats rapportées pour la propolis de différente origine telle que 91 mg /100 g pour la propolis chilienne (M. Inmaculada González-Martín et al.,2015); 140 – 390 mg / 100 g pour la propolis de l'Argentine (Beatriz Lima et al.,2009); 40,4 mg / 100 g – 263,7 mg / 100 g pour la propolis chinoise et 177,3 mg / 100 g – 668,3 mg / 100 g pour la propolis du de l'Espagne (Serra-Bonvehí J.S et al.,2013) et ces valeurs sont supérieur aux valeurs indiquées pour la propolis de la Turkey (7,9 mg / 100 g – 11,8 mg / 100 g) (Cantarelli M.A et al.,2011); 4,0 mg / 100 g – 31,7 mg / 100 g pour la propolis de la Croatie (Cvek J et al.,2008).

Parmi les minéraux étudiés, la teneur en magnésium est la plus abondante avec des concentrations comprises entre de 88 mg / 100 g et 150 mg / 100 g. Ces valeurs sont supérieurs à ceux de la propolis du sud de l'Espagne avec des valeurs varient entre 30,1 mg / 100 g – 140,5 mg / 100 g (Serra-Bonvehí J.S et al., 2013) et 113,5 mg / 100 g – 112,9 mg / 100 g pour la propolis Chinoise (Gong S et al.,2012).

Le sodium (Na) des extraits de la propolis Marocaine variait entre 8 mg / 100 g et 15 mg / 100 g (figure 33). Ces valeurs sont en général comparables avec celui de la propolis d'origine coréen 3,83 mg / 100 g - 18,24 mg / 100 g, et inférieure à celle de la propolis chinoise et brésilienne 25,18 mg /100 g et 38,23 mg / 100 g respectivement (M. Inmaculada González-

Martín et al., 2015).

Les concentrations de potassium (K) de la propolis Marocaine étudiées ont été entre 23 mg / 100 g et 51 mg / 100 g, les valeurs obtenues ont été plus ou moins supérieures aux valeurs rapportées pour les propolis de l'Argentine 10,1 – 169,7 mg / 100 g (Beatriz Lima et al.,2009) ; de la propolis de la Turkey 12,1 – 36,4 mg / 100 g (M.A Cantarelli M.A et al.,2008) et de la propolis de la Pologne 8,2 mg / 100 g (Formicki G et al .,2013).

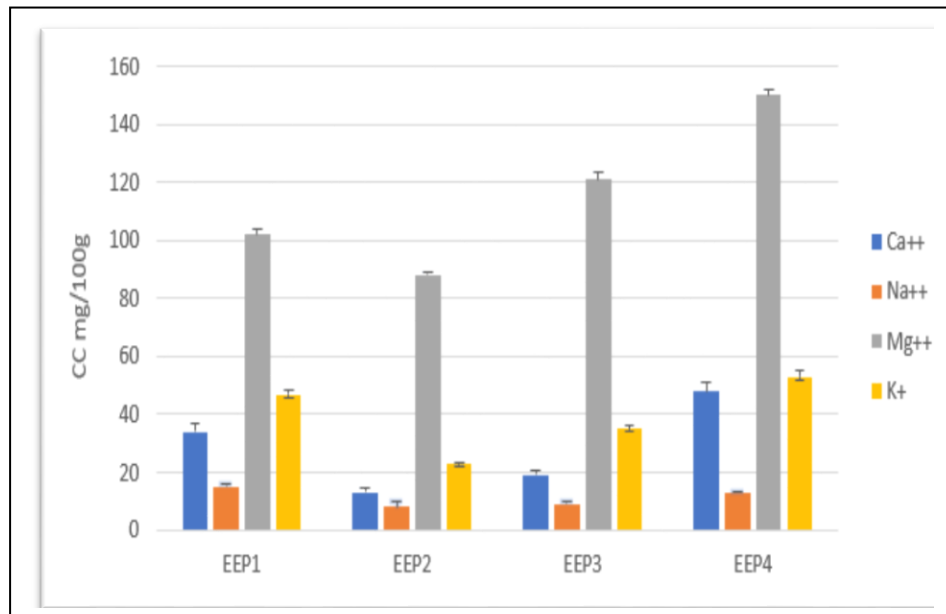


Figure 18 : Teneur en minéraux des extraits de la propolis Marocaine

4.2. Discussion

Les objectifs de cette partie étaient d'abord, de déterminer les teneurs en polyphénols et en flavonoïdes et ensuite de mettre en évidence l'activité antioxydante des extraits éthanoliques et enfin la détermination des concentrations de certains minéraux des extraits éthanoliques de la propolis des quatre régions du Maroc (Rabat, Settat, Agadir et Marrakech).

Les molécules présentes dans les espèces végétales étudiées, en général ont une importance pour le traitement de certaines pathologies et une exploitation non judicieuse des organes des plantes médicinales pourrait compromettre la préservation de la biodiversité.

La propolis a été largement utilisée comme antioxydant naturelle. Pourtant ses bienfaits dépendent strictement de la région de collecte. Dans ce chapitre, le contenu total en polyphénols et flavonoïdes a été évalué. Les propolis étudiées des quatre régions du Maroc contiennent différentes concentrations de polyphénols ($p < 0,05$), allant d'une valeur minimale de 77,89 mg / g GAE pour la propolis de Marrakech à une valeur maximale de 241,66 mg / g GAE pour la propolis de Rabat.

La concentration la plus élevée de flavonoïdes a également été obtenue dans un échantillon de Rabat (91,48 mg / g QE) et la plus faible provenait d'un échantillon de Marrakech (12,13 mg / g QE). Certains auteurs ont étudié la propolis de différentes régions et ont également trouvé des différences quantitatives dans les teneurs totales en phénols et en flavonoïdes.

Les données de la littérature ont montré une plus grande variabilité des teneurs en polyphénols de différentes régions de Chine : 43 - 302 mg / g, Inde : 159 - 269 mg / g, Iran : 31-187 mg / g, Portugal : 151-329 mg / g et Algérie : 55-279 mg / g (**Aganga et Mosase 2001; Bouzid et al.,2010; Merouane et al., 2014 ; El Hazzat et al., 2015**).

Différentes études ont montré que les facteurs extérieurs, comme : Les facteurs géographiques et climatiques, les facteurs génétiques, mais aussi le degré de maturation de la plante et la durée de stockage ont une forte influence sur la teneur en polyphénols (**Aganga et Mosase 2001; Bouzid et al, 2010 ; Merouane et al., 2014 ; El Hazzat et al., 2015**).

La teneur en flavonoïdes de la propolis en provenance de Chine se situe entre 8 et 188 mg / g de propolis. La propolis de Grèce et de Chypre contenait des flavonoïdes à des niveaux de 8,8 à 182,6mg / g et la teneur en flavonoïdes de la propolis d'Algérie variait entre 10 et 69 mg / g (Miguel et al,2014). Une plus grande variabilité des teneurs en flavonoïdes a été obtenue avec la propolis collectée dans différentes régions de l'Iran, variant de 12 à 78 mg / g.

Les résultats de l'effet de piégeage des radicaux libres des quatre échantillons de propolis et du contrôle positif (acide ascorbique) dans le système de radicaux libres DPPH ont été déterminés. Ainsi dans ce chapitre, on a cherché le pouvoir réducteur de la propolis Marocaine par le test de FRAP.

Les valeurs d'IC₅₀ (Concentration Inhibitrice à 50 %) obtenues (Figure 16) permettent de classer la capacité de piégeage du radical DPPH par les extraits testés par rapport à l'acide ascorbique et entre elles. L'EEP₁ (IC₅₀ : 99,26 ± 1,05 µg / mL) et l'EEP₃ (IC₅₀ : 84,97 ± 0,92 µg / mL) ont une activité antiradicalaire plus proche. Les propriétés de ces deux extraits sont plus antioxydants que l'EEP₂ (IC₅₀ : 159,55 ± 1,9 µg / mL) et l'EEP₄ (IC₅₀ : 118,97 ± 1,2 µg / mL), le pouvoir antioxydant étant inversement proportionnel à la valeur de l'IC₅₀. L'acide ascorbique ayant l'IC₅₀ le plus faible, soit 7,77 ± 0,2 µg / mL (figure 31), possède alors la plus grande activité antiradicalaire comparativement aux autres extraits éthanoliques testés.

Les quatre extraits ont une activité antioxydant inférieure à celle de l'acide ascorbique prise comme la molécule de référence pour le test au DPPH.

La quantification des antioxydants dans la propolis a donné des valeurs significativement différentes entre les échantillons ($p < 0,05$). L'EEP de Marrakech avait une capacité moins importante pour piéger les radicaux libres DPPH et aussi pour le test de FRAP avec une valeur de 49 % et 533 ± 2 ($\mu\text{mol Fe}^{2+} / \text{g PE}$) respectivement, suivie par des échantillons de Settat avec 66 % et 610 ± 4.8 ($\mu\text{mol Fe}^{2+} / \text{g PE}$) respectivement. Tandis que l'EEP de Rabat et Agadir ont donnés les meilleurs résultats.

Ces variations sont attribuées à la source florale et à l'origine géographique (**Bankova et al., 2000; Kumazawa et al., 2004**). Une corrélation positive entre l'activité antioxydante et les concentrations de flavonoïdes et de polyphénols sont exposées dans cette étude.

Des résultats similaires ont été rapportés par plusieurs études, y compris les travaux de

Balasundram et al. (2006) et Beretta et al. (2005).

Il a été noté que la propolis avait une propriété antioxydante en raison de ses composants, la galangine et la pinocembrine (**El-Guendouz et al., 2016**). En effet, les antioxydants avaient la capacité de faire face aux radicaux libres et empêchaient également la vitamine C, les lipides et d'autres composés de se détruire ou de s'oxyder. Surtout que les radicaux libres et d'autres facteurs sont la principale cause du vieillissement des cellules et du déclenchement des maladies tel que le Parkinson, la maladie d'Alzheimer, l'arthrite, le cancer, le diabète et les maladies cardiovasculaires (**Kuropatnicki et al., 2013**).

Des composants de la propolis tels que la vanilline et les acides phénoliques présente la capacité de pénétrer dans l'épiderme ainsi que le derme et de les protéger contre les oxydations (**Królet al., 2013**).

Le mécanisme de la propriété antioxydante de la propolis est dû aux composés phénoliques qui donnent des ions hydrogène aux radicaux libres pour protéger les cellules contre les réactions d'oxydation. La propolis avait la capacité d'éliminer les radicaux libres, qui sont la principale cause de l'oxydation des lipides, des acides nucléiques et des protéines (**Chandna et al., 2014**). La propolis avait la propriété antioxydante et empêchait la peroxydation lipidique dans les globules rouges de l'homme (**Zabaiou et al., 2017**).

La présence des réducteurs dans les extraits de la propolis provoque la réduction de l'ion Fe^{3+} à la forme Fe^{2+} . Les antioxydants sont considérés comme des réducteurs et inactivateurs des oxydants (**Al-Farsi et al., 2005**).

Le coefficient de corrélation (Figure 17) établi entre la teneur en polyphénols et l'activité antioxydante est fortement significatif ($R_2 = 0,979$) indiquant que 97,9 % de la

capacité antioxydante des extraits, sont dus à la contribution des composés phénoliques qui sont les antioxydants dominants dans ces extraits. La teneur en phénols totaux des extraits de la propolis s'est corrélée significativement avec leurs activités antiradicalaires.

Ces résultats concordent avec ceux rapportés par d'autres auteurs qui ont démontré une corrélation positive entre la teneur totale des composés phénoliques et l'activité antioxydante (**Djeridane et al., 2006; Wojdylo et al., 2007**). Le niveau de corrélation entre le contenu phénolique et l'activité antioxydante est un aspect à ne pas négliger, car on doit considérer que les composés phénoliques répondent différemment dans l'analyse, selon le nombre de groupes phénoliques et que les composés phénoliques totaux n'incorporent pas nécessairement tous les antioxydants qui peuvent être présents dans un extrait (**Athamena et al., 2010**).

Pour discuter les résultats trouvés pour les minéraux étudiés, il faut signaler que les teneurs en macro et micro-minéraux du sol diffèrent selon la région géographique influençant ainsi le type de minéraux disponibles pour les plantes (**Alloway et al., 2013**).

Des plantes spécifiques peuvent produire des résines avec différentes teneurs en minéraux. L'absorption des nutriments dans le sol varie en fonction des besoins de chaque espèce végétale, de leur développement et des conditions climatiques

De plus, la teneur en pollen de la propolis pourrait interférer avec les résultats de l'étude, car le pollen représente environ 5 % de la composition finale de la propolis. Le pollen présent dans la propolis peut varier selon l'origine botanique et les minéraux contenus dans le pollen sont affectés par les variations géographiques et saisonnières (**Morgano et al., 2012**), ces facteurs peuvent influencer la composition minérale de la propolis.

Par conséquent, d'éventuelles différences dans la résine collectée, dues à la diversité végétale ou à la préférence des abeilles pour une certaine espèce végétale, pourraient expliquer les résultats obtenus.

Partie IV :

5. Activité antibactérienne et antifongique de la propolis collectée dans quatre régions du Maroc

Le phénomène de la résistance des microorganismes aux antibiotiques est depuis quelques années maintenant est un sujet d'actualité et c'est un grave problème de santé publique mondial qui ne cesse de progresser très rapidement, malgré les nombreuses recommandations et les nombreux moyens de communication, d'où la nécessité de trouver des alternatives naturelles capable d'aider résoudre ce problème de résistance microbienne.

La propolis est largement utilisée dans la médecine populaire, et un certain nombre des études ont montrés que la propolis possède des propriétés antibactériennes, antivirales et antifongiques (**Hegazi et El Hady 2001**). Cependant, peu d'études ont été effectuées au Maroc pour chercher l'efficacité de la propolis Marocaine *vis-à-vis* de certains microorganismes. De plus, il a été démontré qu'il existait des variations de l'activité antimicrobienne en fonction de l'origine de la propolis (**Hegazi et El Hady 2001**).

Le but de cette étude était d'étudier les propriétés antimicrobiennes de l'extrait éthanolique de 4 échantillons de la propolis (EEP) de différentes régions du Maroc *vis-à-vis* de 5 micro-organismes (Résistants ou multirésistants aux antibiotiques).

5.1. Résultats

5.1.1. Activité antibactérienne

L'activité antibactérienne a été évaluée sur quatre souches bactériennes pathogènes pour l'Homme : Une souche d'*Escherichia coli*, une souche de *Staphylococcus aureus*, une souche de *Klebsiella pneumoniae* et en fin une souche de *Pseudomonas aeruginosa*. Souches isolées et identifiées au niveau de l'hôpital Hassan II de Settat. Le choix de ces souches est justifié par leurs résistances ou multirésistances aux antibiotiques. L'étude de l'activité antibactérienne des extraits de propolis (EEP) a donc été réalisée dans un premier temps par la méthode de diffusion sur gélose en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition induite par les extraits et dans un deuxième temps par l'évaluation des Concentration Minimales Inhibitrices (CMI) et des Concentrations Minimales Bactéricides (CMB).

5.1.1.1. Diamètres d'inhibition de croissance (mm) bactérienne

Les résultats de l'évaluation des activités antibactérienne des 4 échantillons de la propolis obtenus par la méthode de diffusion sur gélose, ont montrés des activités antibactériennes significatives contre les bactéries Gram-positives, mais moins contre les

bactéries à Gram négatif (Tableau 12).

Les extraits EEP₁ et EEP₃ ont montré le diamètre d'inhibition le plus important *vis-à-vis* de *S. aureus*, *E. coli* (Figure 19) et *K. pneumoniae* (P <0,05), tandis que l'EEP₂ et l'EEP₄ avaient le plus faible diamètre d'inhibition (P < 0,05). Les extraits de la propolis d'origines de quatre régions ont montré une activité plus élevée contre *E. coli* et *S. aureus* avec des zones d'inhibition qui varient entre 12,77 – 18,63 mm et entre 13,43 – 20,4 mm respectivement, tandis une activité moins importante a été observée pour les quatre extraits contre *K. pneumonia* (P <0,05) (tableau 12). Par contre, les quatre extraits ont montré l'absence de toute activité *vis-à-vis* de *Pseudomonas aeruginosa* (Figure 20).

Tableau 12 : Zone d'inhibition (mm) de la croissance bactérienne en fonction de différentes concentrations d'extrait éthanolique de propolis marocaine collectées dans 4 régions

| EEP | Microorganismes | | | | Produit |
|------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------|-------------|
| | <i>S. aureus</i> | <i>E. coli</i> | <i>K. pneumoniae</i> | <i>P. aeruginosa</i> | Gentamicine |
| EEP ₁ | 20,4 ± 0,73 ^{aA} | 18,63 ± 0,34 ^{aB} | 15,53 ± 0,53 ^{aC} | < 6 | ≥ 15mm |
| EEP ₂ | 13,73 ± 0,18 ^{bA} | 12,83 ± 0,09 ^{bB} | 13,1 ± 0,06 ^{bAB} | < 6 | ≥ 15mm |
| EEP ₃ | 19,93 ± 0,17 ^{aA} | 17,67 ± 0,23 ^{aB} | 15,37 ± 0,09 ^{aC} | < 6 | ≥ 15mm |
| EEP ₄ | 13,43 ± 0,26 ^{bA} | 12,77 ± 0,38 ^{bA} | 12,7 ± 0,06 ^{bB} | < 6 | ≥ 15mm |

Les valeurs exprimées sont des moyennes de trois répétitions.

Les valeurs dans chaque ligne suivies de lettres différentes (a, b, c) sont significativement différentes à P <0,05. Les valeurs dans chaque ligne suivies de lettres différentes (A, B, C) sont significativement différentes à P <0,05.

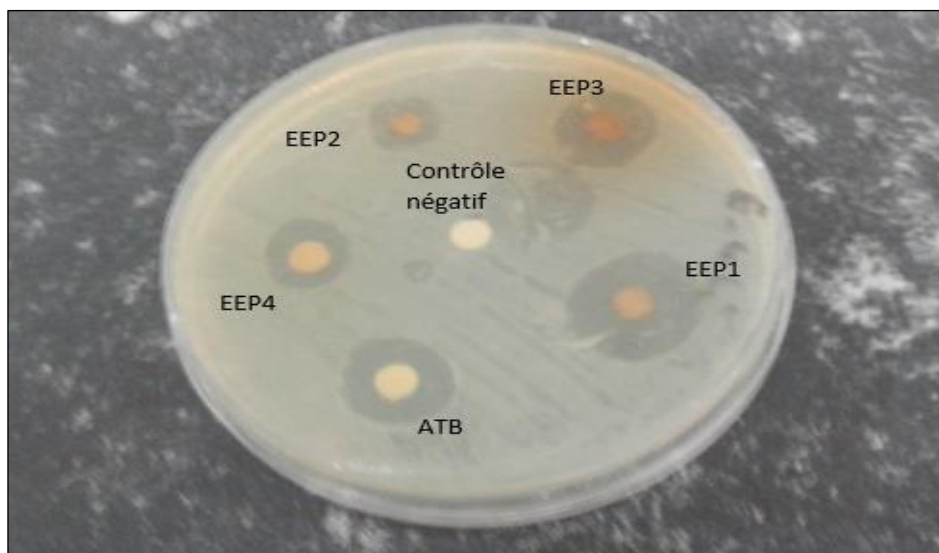


Figure 19: Zone d'inhibition des extraits éthanolique de la propolis collectées de différentes régions du Maroc vis-à-vis d'*Escherichia coli*.

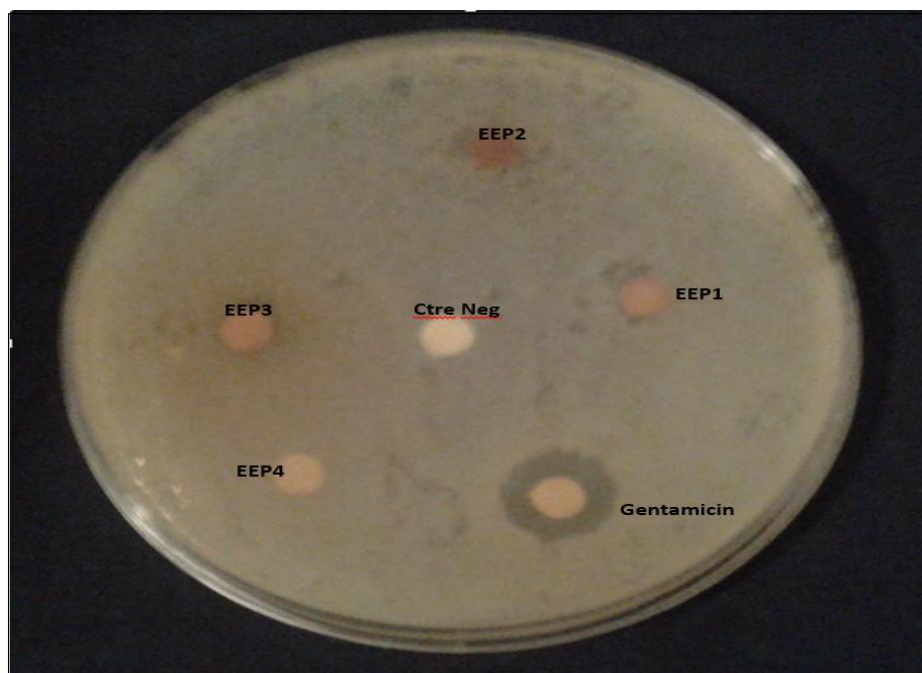


Figure 20: Zone d'inhibition des extraits éthanolique de la propolis collectées de différentes régions du Maroc vis-à-vis le *Pseudomonas aeruginosa*

5.1.1.2. Evaluation des Concentrations Minimales Inhibitrices (CMI) et des Concentrations Bactéricides Minimales (CMB) de la propolis

L'analyse des valeurs moyennes des CMI des extraits de la propolis a permis de confirmer que la souche étudiée Gram-positif (*Staphylococcus aureus*) est plus sensibles que les souches à Gram négatif (*Escherichia coli* et *klebsiella pneumoniae*) (tableau 13).

Les extraits éthanoliques de la propolis marocaine collectée dans les quatre régions

(EEP₁: Agadir, EEP₂: Marrakech, EEP₃: Rabat, EEP₄: Settat) ont montré l'activité antibactérienne la plus élevée contre le *Staphylocoque aureus*, leurs CMI varient entre 100 µg / mL et 200 µg / mL et avec la bactérie *Escherichia coli*, des valeurs qui varient entre 100 µg / mL et 250 µg / mL. Néanmoins, *Klebsiella pneumoniae*, a montré la (CMI) la plus élevée des extraits testés, avec des valeurs de concentrations qui varient entre 250 µg / mL et 300 µg / mL.

L'EEP₁ (Agadir) et l'EEP₃ (Rabat) ont inhibé la prolifération bactérienne à des faibles concentrations par rapport à l'EEP₂ (Marrakech) et l'EEP₄ (Settat). De même, l'EEP₁ et l'EEP₃ ont montré les activités bactéricides les plus élevées à de faibles concentrations par rapport à l'EEP₂ et l'EEP₄. Nous notons également l'absence d'activité antibactérienne contre les *Pseudomonas aeruginosa* (Tableau 13).

Tableau 13: Concentration minimale inhibitrice et bactéricide de différentes concentrations d'extrait éthanolique de propolis marocaine *vis-à-vis* des différentes espèces bactériennes.

| <i>Souches</i> | <i>CMI</i> <i>µg/mL</i> | | | | <i>CMB</i> <i>µg/mL</i> | | | |
|----------------------|----------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|----------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|
| | EEP₁ | EEP₂ | EEP₃ | EEP₄ | EEP₁ | EEP₂ | EEP₃ | EEP₄ |
| <i>S. aureus</i> | 100 | 200 | 100 | 200 | 100 | 400 | 100 | 200 |
| <i>E. coli</i> | 100 | 200 | 100 | 250 | 100 | 400 | 150 | 250 |
| <i>K. pneumoniae</i> | 250 | 300 | 175 | 300 | 250 | 400 | 175 | 400 |
| <i>P. aeruginosa</i> | R | R | R | R | R | R | R | R |

R : Résistant

Le rapport d'activité CMB / CMI pour toutes les souches bactériennes étudiées varient entre la valeur 1 (un) et la valeur 2 (deux). (Tableau 14).

Tableau 14 : CMB/CMI des extraits éthanoliques de la propolis Marocaine

| EEP | Microorganismes | CMB/CMI | Pouvoir |
|------------------|----------------------|---------|-------------|
| EEP ₁ | <i>S. aureus</i> | 1 | Bactéricide |
| | <i>E. coli</i> | 1 | Bactéricide |
| | <i>K. pneumoniqe</i> | 1 | Bactéricide |
| | <i>P. aeruginosa</i> | R | Bactéricide |
| EEP ₂ | <i>S. aureus</i> | 2 | Bactéricide |
| | <i>E. coli</i> | 2 | Bactéricide |
| | <i>K. pneumoniqe</i> | 1,3 | Bactéricide |
| | <i>P. aeruginosa</i> | R | Bactéricide |
| EEP ₃ | <i>S. aureus</i> | 2 | Bactéricide |
| | <i>E. coli</i> | 2 | Bactéricide |
| | <i>K. pneumoniqe</i> | 1,3 | Bactéricide |
| | <i>P. aeruginosa</i> | R | Bactéricide |
| EEP ₄ | <i>S. aureus</i> | 1 | Bactéricide |
| | <i>E. coli</i> | 1 | Bactéricide |
| | <i>K. pneumoniqe</i> | 1,3 | Bactéricide |
| | <i>P. aeruginosa</i> | R | Bactéricide |

R : Résistant

Dans cette étude, le pouvoir antifongique des extraits éthanoliques de la propolis provenant de quatre régions étudiées a été testé sur des souches de *Candida albicans* d'origine Humain (souches isolées et identifiées au niveau de l'Hôpital Hassan II de Settat), et les résultats ont été comparée avec les résultats de la Fluconazole, un médicament antifongique utilisé comme un contrôle positif. Ce pouvoir d'activité a été évalué par la détermination du diamètre de zone d'inhibition (Tableau 15) et la détermination de la CMI et la CMF. L'activité a été analysée sur la base des normes (CLSI = **Clinical and Laboratory Standars Institute**).

Les résultats obtenus ont montré que les quatre extraits éthanoliques de la propolis ont une activité antifongique importante *vis-à-vis* *Candida albicans*. Les extraits d'Agadir (EEP₁) et les extraits de Rabat (EEP₃) ont donné la plus forte activité antifongique *vis-à-vis* *Candida albicans* avec des zones d'inhibitions de $28,7 \pm 0,11$ mm et $27,33 \pm 0,07$ mm respectivement. Tandis que les extraits de Settat et de Marrakech, leurs résultats ont été les plus faibles avec une valeur de $24,4 \pm 0,11$ ($P < 0,05$).

Tableau 15: Zone d'inhibition (mm) de la croissance fongique (*Candida albicans*) en fonction de différentes concentrations d'extrait éthanolique de propolis marocaine collectées dans 4 régions en moyenne \pm écart type.

| EEP | Diamètre d'inhibition (mm) |
|------------------|-------------------------------|
| EEP ₁ | 28,7 \pm 0,11 ^A |
| EEP ₂ | 24,4 \pm 0,11 ^D |
| EEP ₃ | 27,33 \pm 0,07 ^B |
| EEP ₄ | 26,4 \pm 0,12 ^C |

Les valeurs exprimées sont des moyennes de trois répétitions.

Les valeurs dans chaque ligne suivie de lettres différentes (A, B, C) sont significativement différentes à P < 0,05.

En ce qui concerne la CMI et la CMF, tous les extraits ont montré une activité antifongique avec des valeurs qui varient entre 6,12 μ g / mL et 25 μ g / mL pour la CMI et 12,5 μ g / mL et 50 μ g / mL pour la CMF (Tableau 16).

Tableau 16 : Concentration Minimale Inhibitrice et Fongicide de différentes concentrations d'extrait éthanolique de la propolis d'origine marocaine collectées dans les 4 régions

| EEP | CMI μ g/mL | CMF μ g/mL |
|------------------|----------------|----------------|
| EEP ₁ | 6,12 | 12,5 |
| EEP ₂ | 25 | 50 |
| EEP ₃ | 6,12 | 12,5 |
| EEP ₄ | 12,5 | 25 |
| Fluconazole | 0,25 | 0,25 |

5.2. Discussion

Il y a une augmentation constante de l'incidence de la résistance aux antimicrobiens dans le monde. La résistance aux antimicrobiens a été désignée comme une menace fondamentale pour la sécurité sanitaire à l'échelle nationale et internationale. La résistance

s'est particulièrement répandue dans le milieu hospitalier par les agents pathogènes causant des infections nosocomiales, mais aussi chez les organismes causant des infections acquises dans la communauté (Levy, 2002).

Outre les agents pathogènes bien connus, une résistance est apparue chez les microorganismes opportunistes comme les levures et les *staphylocoques blancs* (Levy 2002). Les conséquences directes d'une infection par des micro-organismes résistants peuvent être graves : une durée plus longue de la maladie, induit une hausse de la mortalité, une hospitalisation prolongée, et à une augmentation du coût des soins de la santé.

L'une des propriétés de la propolis dans la ruche est de l'assainir pour maintenir un environnement sain car la propolis possède des vertus antifongiques et antibactériennes.

La composition chimique de la propolis est très complexe et dépend de la source botanique des zones où elle a été récoltée (Bankova et al. 2000). Par conséquent les variations de l'activité antimicrobienne selon l'origine de la propolis (Hegazi et El Hady 2001) ne sont pas surprenantes. Cependant, les résultats de l'évaluation des activités antimicrobiennes de 4 échantillons de propolis de différentes régions du Maroc, obtenu par la méthode de diffusion sur gélose a révélé des variations significatives ($P < 0,05$) dans l'activité antimicrobienne selon l'origine de la propolis.

Les extraits éthanoliques de la propolis prélevée dans les quatre régions ont montré une activité antibactérienne plus élevée contre *Staphylococcus aureus* (bactéries Gram-positives) avec des valeurs de la CMI qui varient entre 100 µg / mL et 200 µg / mL seulement, par rapport aux bactéries Gram-négatives (*Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*) qui ont montré des valeurs de la CMI qui varient entre 100 µg / mL et 400 µg / mL.

Des résultats similaires ont été rapportés dans d'autres études (Massaro CF et al, 2015) avec des valeurs qui varient entre 0,37 – 2,04 mg / mL, qui corroborent nos conclusions selon lesquelles la propolis est principalement plus active contre les Gram positifs. Cependant, il a été rapporté que dans cette étude, l'EEP est efficace sur les bactéries Gram-négatives à des concentrations Minimales Inhibitrices (CMI) plus élevées par rapport aux CMI contre les bactéries Gram négatives, des résultats comparables ont été obtenus dans d'autres études (Sforcin et al., 2000).

Nos résultats sont également en accord avec ceux de Izabela przybyłek et al, 2019, qui ont constaté une action marquée de la propolis contre les bactéries Gram-positives et une activité limitée contre les bactéries Gram-négatives avec des valeurs qui varient entre 117–1840 µg / mL.

Dobrowolski et al. (1991), ont également obtenu des résultats similaires soutenant l'hypothèse que la propolis est active principalement contre les bactéries Gram-positives.

Santos et al. (2002) ont démontré que la propolis a une activité antibactérienne contre plusieurs anaérobies.

Egalement les auteurs **Castaldo and Capasso. (2002)** ont étudié que les échantillons de propolis présentaient une activité antibactérienne *in vitro* principalement contre les bactéries à Gram positif (*Staphylococcus spp.* et *Streptococcus spp.*) et à Gram négatif (*Escherichia coli* et *Klebsiella pneumoniae*). Dans cette étude, l'absence de toute activité antibactérienne contre *Pseudomonas aeruginosa* peut s'expliquer par le fait qu'il s'agit d'une bactérie issue d'une infection nosocomiale, cette bactérie est connue par sa multirésistance aux antibiotiques (Tableau 14).

Il est préférable de comparer l'effet de la propolis (EEP) sur la base de l'origine géographique de *S. aureus* comme un représentant des bactéries Gram-positives et *E. coli* représentant des souches Gram-négatives. C'est le plus grand nombre de tests disponibles sur les espèces répertoriées.

Chez la bactérie *S. aureus*, l'activité la plus élevée a été observée avec l'EEP de la Turquie, de Taïwan et d'Oman dont les valeurs de CMI sont de 8, 10 et 81 µg / mL, respectivement (**Popova et al., 2013; Uzel, A et al., 2005 ; Yue-Wen et al., 2018**).

L'activité antibactérienne la plus faible a été observée pour les échantillons de la propolis du Chili, d'Australie et d'Allemagne: les valeurs des CMI pour l'EEP étaient de 1445, 1200 et 750 µg / mL, respectivement (**Bridi et al., 2015 ; Barrientos, et al., 2013**).

Pour l'activité *vis-à-vis* d'*E. coli*, Les extraits éthanoliques de propolis d'origine de la Turquie, Oman et Slovaquie, qui ont été les plus actifs, avec des CMI de 116, 302 et 510 µg / mL respectivement (**Torres et al., 2018**). L'activité la plus faible a été obtenue avec des échantillons de propolis d'Allemagne, de Corée et d'Irlande avec des valeurs de CMI comprises entre 1 200 et 5 000 µg / mL (**Yue-Wen, C et al., 2018**).

Une étude Marocaine effectuée par Soukaïna El-Guendouz et al., 2018 a donné des résultats de l'activité antibactérienne contre *S. aureus* avec des valeurs variables entre 980 et 1220 µg / mL.

Nos résultats montrent aussi que les quatre extraits éthanoliques de la propolis ont montré une activité antifongique importante *vis-à-vis* de *Candida albicans*. Les extraits d'Agadir (EEP₁) et les extraits de Rabat (EEP₃) ont manifesté la plus forte activité antifongique *vis-à-vis* à *Candida albicans*. Tandis que les extraits de Settat et de Marrakech ont donné les résultats les plus faibles. Des résultats similaires pour la propolis brésilienne ou australienne ont été publiés (**Isis Regina Grenier Capoci et al., 2015**).

En effet, la propolis a montré une activité contre différents champignons (**Marcucci, 1995; Acikelli et al., 2013; Aghel et al., 2014**). Il a été signalé que des constituants de la

propolis tels que la 3-acétylpinobanksine, la pinobanksine-3-acétate, la pinocembrine, l'acide p-coumarique et l'acide caféique présentent une activité antifongique (**Oliveira et al., 2006**).

Les activités antibactériennes et antifongiques de l'EEP dans cette étude étaient en général en harmonie avec les concentrations de polyphénols et de flavonoïdes obtenus dans le chapitre précédent en utilisant les mêmes extraits. Dans lequel, les teneurs totales en polyphénols et en flavonoïdes ont été évaluées. En conséquence, nous avons constaté que la propolis de différentes régions du Maroc est riche en polyphénols et flavonoïdes, avec des concentrations variables. La valeur la plus faible est obtenue avec la propolis de Marrakech et la valeur la plus élevée avec la propolis de Rabat et d'Agadir.

La présence de polyphénols a été signalée comme étant associée, à de précieuses propriétés pharmacologiques et biologiques de la propolis (**Gülçin et al., 2010**). La propolis de différentes régions varient dans sa capacité à inhiber la croissance des bactéries, ce qui suggère que l'origine botanique joue un rôle important dans l'influence de l'activité antibactérienne antifongiques d'une propolis (**Jorge et al., 2008 ; Valencia et al., 2012**).

Il a été indiqué que les acides phénoliques et les composants flavonoïdes de la propolis découpent la membrane cytoplasmique transfusant l'énergie, ce qui conduit à l'inhibition de la viabilité bactérienne. L'action antimicrobienne de la propolis peut être attribuée à ces effets sur le statut bioénergétique de la membrane (**Kim et Chung, 2011**).

En ce qui concerne le rapport d'activité CMB / CMI, selon **SENHADJLI. 2019**, lorsque le rapport d'activité CMB / CMI d'une substance antimicrobienne est inférieur ou égal à quatre (≤ 4) cette dernière est qualifiée de substance bactéricide et si le rapport CMB/CMI est supérieur à quatre (> 4), alors elle est dite bactériostatique. Les extraits éthanoliques de la propolis d'origine Marocaine dont les résultats du rapport d'activité CMB / CMI varient de la valeur 1 (un) à 2 (deux) peut être qualifié de substance bactéricide. Ces extraits ont donc une activité bactéricide *vis-à-vis* toutes les souches bactériennes étudiées.

La source botanique et la diversité végétale ont une influence directe sur la composition de la propolis et par conséquent sur ses activités biologiques à savoir activités antioxydantes et anti microbiennes et autres.

En raison de sa diversité floristique, faunistique et paysagère importante, le Maroc est dotée d'un potentiel apicole important et unique lui conférant une grande originalité qui en fait l'une des régions les plus intéressantes sur le plan biologique et biogéographique (**Ministère de l'environnement. 1997**).

Le Maroc, pays méditerranéen du nord de l'Afrique, est classé deuxième mondial en terme de biodiversité des plantes et compte une flore très riche d'environ 7000 espèces végétales dont plus de 4500 plantes vasculaires phanérogames, réparties en 940 genres et 135

familles caractéristiques du bassin méditerranéen, des montagnes de l'Atlas, des plaines du Gharb et du Sahara marocain. Sur le plan territoriale, le Maroc compte des forêts d'Eucalyptus (environ 220.000 Ha), des vergers d'agrumes et de rosacées (environ 74.000 Ha), des cultures fourragères (environ 18.000 Ha), des cultures industrielles (coton, tournesol, colza...), des plantes naturelles de montagne (Thym, Euphorbe, Romarin, Lavande, Armoise...) et des plantes spontanées du sous-bois (environ 5 millions d'Ha). (**Schweitzer. P., 2010**).

En relation avec la propolis des régions étudiées, on a remarqué que la propolis de la région de Rabat et d'Agadir se caractérisent par un pouvoir antioxydant et antimicrobien important, avec des teneurs en polyphénols et en flavonoïdes assez élevés, et ça peut être expliqué par la richesse de ces deux régions en point de vue botanique sachant bien que les abeilles se basent en premier lieu pour la fabrication de la propolis sur les écorces et les bourgeons des arbres.

Dans la région de Rabat, on désigne sous le nom de Mamora la grande forêt de chênes - lièges (*Quercus suber*) ou subéraie qui occupait en presque totalité la région géologique décrite par **Lepoutre et Combes (1967)**. Selon **Charles Sauvage et Maurer (1961)**, la Mamora est unité botanique, une forêt de chênes - liège ou subéraie. Du moins, ce qu'il en reste actuellement, car cette forêt a régressé et une partie a été reboisée en Eucalyptus, avec plus ou moins de succès, ce qui explique la richesse de la propolis de cette région.

D'autre part la région d'Agadir est une région montagneuse, connue par sa richesse et sa diversité floristique avec presque le tiers de la flore totale du pays et un endémisme très marqué. Mais, l'arganier (*Argania spinosa*) est incontestablement l'espèce qui marque le plus cette zone, l'Arganier représente plus des deux tiers des forêts. On trouve aussi le thuya (*Tetraclinis articulata*) et le chênevert (*Quercus ilex*) (**El hafian et al., 2014**), ce qui explique aussi la richesse et la qualité de la propolis de cette région.

Conclusion générale

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

Notre travail qui est une contribution à l'étude des propriétés biologiques et biochimiques de la propolis Marocaine selon les régions pédoclimatiques, nous a permis de comprendre que le domaine des produits de la ruche demeure encore un terrain valable de recherches scientifiques.

Les extraits testés ont été obtenus à partir de quatre régions du Maroc (Agadir, Rabat, Settat et Marrakech) en utilisant de l'éthanol à 70 %. Nous avons obtenu un meilleur rendement pour l'extrait éthanolique de Rabat ($69,45 \% \pm 0,13$) et d'Agadir ($45,12 \pm 0,52$), alors que des moyens rendements ont été obtenus avec les extraits éthanoliques de Settat et de Marrakech ($43,15 \% \pm 0,72$ et $31,45 \pm 0,78$ respectivement).

Le rendement d'extraction des composés de la propolis est conditionné par la matrice de solvant, le temps de contact et l'origine de la propolis.

Concernant les minéraux étudiés : Le Potassium, le Sodium, Magnésium et Calcium, on a trouvé des valeurs importantes qui varient entre 13 - 48 mg / 100 g pour le Calcium et entre 88 – 150 mg / 100 g pour le Magnésium. Ces valeurs sont assez importantes en comparaison avec les valeurs trouvées dans la propolis des autres régions du Monde (Ibrahim. W. A et al., 2011).

L'étude de l'activité antioxydante des échantillons de la propolis Marocaine par l'évaluation de leurs pouvoirs anti-radicalaires et leurs pouvoir réducteur et la quantification de leurs composées phénoliques (polyphénols et flavonoïdes), a donné des valeurs importantes tant qu'un produit naturel et un antioxydant puissant, qu'on peut exploiter dans les domaines médicaux et alimentaires. Suivant les résultats qu'on a obtenus expérimentalement, nous pouvons en déduire que la propolis de Rabat et Agadir présentent une meilleure activité antioxydante par rapport aux autres régions avec des valeurs qui varient entre I % = 88 % et I % = 77 %, respectivement.

En ce qui concerne l'étude de la propriété antimicrobienne de la propolis Marocaine, nos résultats montrent que:

- L'extrait éthanolique de la propolis marocaine présente une forte activité antibactérienne et antifongique.

- Les bactéries Gram-positives sont plus sensibles à l'activité antibactérienne des EEP que les bactéries Gram-négatives. Les résultats des activités antimicrobiennes obtenues ont été en harmonie avec la concentration en flavonoïdes et polyphénols.

- La propolis collectée de Rabat et d'Agadir a montré un fort potentiel antimicrobien par rapport à celle collectée de Settat ou de Marrakech.

Par le biais de ce travail et en fonction de ces résultats, nous espérons avoir apporté notre modeste contribution à la valorisation d'un sous-produit de la ruche, et parvenir à mettre à la disposition de la population un produit naturel, avec une activité thérapeutique inestimable, efficace et accessible.

Perspectives

Les travaux de cette thèse ouvrent plusieurs questions de recherche sur la propolis Marocaine. Donc afin de mieux valoriser ce produit naturel (la propolis), il est recommandé de faire avancer les recherches sur ce produit :

- Analyse approfondie de la composition et caractérisation chimique en utilisant de la HPLC, CPG et Spectroscopie de masse.
- Isolement de la ou les substances responsables de chaque activité biologique.
- Caractérisation physique.
- Etude de l'effet anticancéreux.
- Etude d'un susceptible rôle de la race des abeilles dans l'activité biologique de la propolis.
- Etablir une carte d'identification de la propolis Marocaine en fonction des zones de récolte.
- Faire une étude approfondie en collaboration avec le Ministère de l'Agriculture sur les contraintes et les solutions pour produire la propolis Marocaine et la commercialiser à l'échelon national et international.
- Organiser des formations en faveur des apiculteurs en utilisant les dernières techniques dans ce domaine.
- Préparer une base de données de tout ce qui en relation avec la propolis au Maroc pour servir la recherche scientifique, les apiculteurs et les consommateurs.

Articles publiés

- Ouamani, A., Bencharki, B., Nacera, D., Hilali, L., 2017. Antioxidant Activities of Propolis collected from Different Regions of Morocco. International Journal of Scientific & Engineering Research Volume 8, Issue 11
- Harmouch, G., El Idrissi, M., Amechrouq, A., Hilali, L., Bencharki, B., Ouamani, A., 2017. Evaluation of the antibacterial property and the phytochemical analysis of extracts essential oil of *Origanum majorana* L. World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences. Vol 5, Issue 9.
- Hakizimana, J.N., Gourich, B., Vial, Ch., Drogui, P., Ouamani, A., Naja, J., Hilali, L., 2016. Assessment of hardness, microorganism and organic matter removal from seawater by electrocoagulation as a pretreatment of desalination by reverse osmosis. Desalination, Fouling and Scaling in Desalination 393, 90–101.

Papier en cours

- ❖ **Anti-microbial activity of Moroccan propolis.**

Ouamani Abdelati, Bencharki Bouchaib, Nacera Dari, Hilali Lahoucine.

Communications orales et poster

- **Activités antioxydantes de la propolis recueillie dans différentes régions du Maroc.** 4^{ème} Edition journée doctorant FST Settât. Ouamani Abdelati, Bencharki Bouchaib, Nacera Dari, Hilali Lahoucine. 2016
- **Contribution à l'étude de l'influence des sources de carbone et la concentration du glucose sur la production des substances bioactives des souches d'actinomyces.** Ouamani Abdelati, Bencharki Bouchaib, Nacera Dari, Hilali Lahoucine. 2^{ème} Edition, journée doctorant FST Settât. 2014
- **Antibacterial activity and quantitative chemical composition of propolis collected from four regions of Morocco.** Ouamani Abdelati, Bencharki Bouchaib, Nacera Dari, Hilali Lahoucine. 3^{ème} édition de la Journée Doctorant Fstsettât. 2015.
- **Antifungal activity of Moroccan propolis against *Candida albicans*.** Ouamani Abdelati, Bencharki Bouchaib, Nacera Dari, Hilali Lahoucine. 5^{ème} Edition, journée doctorant de FST de Settât. 2017

Références

- Aazza Smail. Physicochemical characterization and antioxidant activity of 17 commercial Moroccan honeys. 2014. *International Journal of Food Sciences and Nutrition* 65(4). DOI:10.3109/09637486.2013.873888.
- Abd El Hady, F.K., Hegazi, A.G., 2002. Egyptian propolis: 2. Chemical composition, antiviral and antimicrobial activities of East Nile Delta propolis. *Z. Naturforschung C J. Biosci.* 57, 386–394. 29.
- Abbasi AJ, Mohammadi F, Bayat M, Gema SM, Ghadirian H, Seifi H, et al., 2018. Applications of Propolis in Dentistry: A Review. *Ethiop J Health Sci*;28(4):505-12.
- Abdulkhani, A., Hosseinzadeh, J., Ashori, A., Esmaeeli, H., 2017. Evaluation of the antibacterial activity of cellulose nanofibers/polylactic acid composites coated with ethanolic extract of propolis. *Polym.Compos.* 38, 13–19.
- Abdulrhman, M., Elbarbary, N.S., Ahmed Amin, D., Saeid Ebrahim, R., 2012. Honey and a mixture of honey, beeswax, and olive oil-propolis extract in treatment of chemotherapy-induced oral mucositis: a randomized controlled pilot study. *Pediatr.Hematol.Oncol.* 29, 285–292.
- Acikelli, A.H., Gustmann, S., Bardenheuer, W., Klein, J., Dembinski, U., Kohl, B., Yip, K.T., Nazif, A., Stoll, R., Strumberg, D., Díaz-Carballo, D., 2013. Flavonoids isolated from *Caribbean propolis* show cytotoxic activity in human cancer cell lines. *Int. J. Clin. Pharmacol.Ther.* 51, 51–53.
- Afrouzan, H., Zakeri, S., AbouieMehrizi, A., Molasalehi, S., Tahghighi, A., Shokrgozar, M.A., Es- Haghi, A., Dinparast Djadid, N., 2017. Anti-Plasmodial Assessment of Four Different Iranian Propolis Extracts. *Arch. Iran. Med.* 20, 270–281.
- Aganga AA, Mosase KW. 2001. Tannin content, nutritive value and dry matter digestibility of *Lonchocarpus capassa*, *Zizyphus mucronata*, *Sclerocarya birrea*, *Kirkia acuminata* and *Rhus lancea* seeds . *Animal Feed Science and Technology*, 91: 107-113.
- Aghel, S., Pouramir, M., Moghadamnia, A.A., Moslemi, D., Molania, T., Ghassemi, L., Motallebnejad, M., 2014. Effect of Iranian Propolis on Salivary Total Antioxidant Capacity in Gamma-irradiated Rats. *J. Dent. Res. Dent. Clin. Dent. Prospects* 8, 235–239.
- Ahn MR, Kumazawa S, Hamasaka T, et al. (2004) Antioxidant activity and constituents of propolis collected in various areas of Korea. *J Agric Food Chem* 52: 7286–92

- Akao, Y., Maruyama, H., Matsumoto, K., Ohguchi, K., Nishizawa, K., Sakamoto, T., Araki, Y., Mishima, S., Nozawa, Y., 2003. Cell growth inhibitory effect of cinnamic acid derivatives from propolis on human tumor cell lines. *Biol. Pharm. Bull.* 26, 1057– 1059.
- Al-Farsi, Cesarettin Alasalvar, Anne Morris, Mark Baron, and Fereidoon Shahidi. Comparison of Antioxidant Activity, Anthocyanins, Carotenoids, and Phenolics of Three Native Fresh and Sun-Dried Date (*Phoenix dactylifera* L.) Varieties Grown in Oman. *J. Agric. Food Chem.* 2005, 53, 19, 7592–7599
- Alloway B.J., 2013. “Bioavailability of elements in soil”. In: O. SELINUS, ed. *Essential of medical geology*. Netherlands: Springer. P805.
- ALPHANDERY R. La route du miel – Le Grand Livre des Abeilles et de l’Apiculture, Paris, Nathan, 2002, 288p.
- Al-Waili, N., 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. *Int. J. Med. Sci.* 9, 793–800.
- Andrade, S.F., da Silva Filho, A.A., de O Resende, D., Silva, M.L.A., Cunha, W.R., Nanayakkara, N.P.D., Bastos, J.K., 2008. Antileishmanial, antimalarial and antimicrobial activities of the extract and isolated compounds from *Austroplenckia populnea* (Celastraceae). *Z. Naturforschung C J. Biosci.* 63, 497–502.
- Anjum, S.I., Ullah, A., Khan, K.A., Attaullah, M., Khan, H., Ali, H., Bashir, M.A., Tahir, M., Ansari, M.J., Ghramh, H.A., Adgaba, N., Dash, C.K., 2019. Composition and functional properties of propolis (bee glue): A review. *Saudi J. Biol. Sci.* 26, 1695–1703.
- Associations/la-federation-interprofessionnelle-marocaine-des-apiculteurs-fimap.html (accessed 8.3.20).
- AL-Waili N., Al-Ghamdi A., Ansari M.J., Al-Attal Y., Salom K. Synergistic Effects of Honey and Propolis toward Drug Multi-Resistant *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Candida Albicans* Isolates in Single and Polymicrobial Cultures. *Int J Med Sci.* 2012, pp. n. 9(9), p. 793-800.
- Al-Hariri., 2011. Propolis and its direct and indirect hypoglycemic effect. *J Family Community Med.* 2011 Sep;18(3):152-4.
- Athamena, Chalghem, A. Kassah-Laouar, S. Laroui et S. Khebri. ACTIVITE ANTI-OXYDANTE ET ANTIMICROBIENNE D’EXTRAITS DE CUMINUM CYMINUM L.

- Balasundram, N., Sundram, K., Samman, S., 2006. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chem.* 99, 191–203.
- Bankova, V., 2005. Recent trends and important developments in propolis research. *Evid. Based Complement. Alternat. Med.* 2, 29–32.
- Bankova, V.S., Castro, S.L. de, Marcucci, M.C., 2000. Propolis: recent advances in chemistry and plant origin. *Apidologie* 31, 3–15.
- Bankova, V.S., Castro, S.L. de, Marcucci, M.C., 2000. Propolis: recent advances in chemistry and plant origin. *Apidologie* 31, 3–15. <https://doi.org/10.1051/apido:2000102>
- Banskota, A.H., Tezuka, Y., Kadota, S., 2001. Recent progress in pharmacological research of propolis. *Phytother. Res.* PTR 15, 561–571.
- Barrientos Christian L. Herrera Gloria Montenegro Ximena Ortega Jorge Veloz Marysol Alvear Alejandro Cuevas Nicolás Saavedra Luis A. Salazar. Chemical and botanical characterization of Chilean propolis and biological activity on cariogenic bacteria *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sobrinus*. *Industrial • Braz. J. Microbiol.* 44 (2). 2013.
- Beatriz Lima, Alejandro Tapia, Lorena Luna, María P Fabani, Guillermo Schmeda-Hirschmann, Natalia S Podio, Daniel A Wunderlin, Gabriela E Feresin. Main flavonoids, DPPH activity, and metal content allow determination of the geographical origin of propolis from the Province of San Juan (Argentina). *J Agric Food Chem.* 2009 Apr 8; 57(7):2691-8. doi: 10.1021/jf803866t
- Beretta, G., Granata, P., Ferrero, M., Orioli, M., Maffei Facino, R., 2005. Standardization of antioxidant properties of honey by a combination of spectrophotometric/fluorimetric assays and chemometrics. *Anal. Chim. Acta* 533, 185–191.
- B. Lepoutre et M. Combes (Comptes-rendus du congrès de Pédologie méditerranéenne, Madrid, 1966), « La Mamora », *Les Cahiers de la Recherche Agronomique*, n° 24
« t.I, 2° partie : Description des régions traversées, chap. VII », 1967, p. 279-295
- Boukraâ, L., Sulaiman, S.A., 2009. Rediscovering the antibiotics of the hive. *Recent Patents Anti-Infect. Drug Disc.* 4, 206–213.
- Bouزيد W, Yahia M, Abdeddaim M, Aberkane MC, Ayachi A. 2010. Evaluation de l'activité

antioxydante et antimicrobienne des extraits de l'aubépine monogyne. *Lebanese Science Journal*, 12(1): 59-69.

Bridi, R.; Montenegro, G.; Nuñez-Quijada, G.; Giordano, A.; Morán-Romero, F.M.; Jara-Pezoa, I.; Speisky, H.; Atala, E.; López-Alarcón, C. International regulations of propolis quality: Required assays do not necessarily reflect their polyphenolic-related in vitro activities. *J. Food Sci.* 2015, 80, C1188–C1195.

Bueno-Silva, B., Marsola, A., Ikegaki, M., Alencar, S.M., Rosalen, P.L., 2017. The effect of seasons on Brazilian red propolis and its botanical source: chemical composition and antibacterial activity. *Nat. Prod. Res.* 31, 1318–1324.

Burdock. Review of the biological properties and toxicity of bee propolis (propolis). *Food Chem Toxicol.* 1998 Apr;36(4):347-63.

Castaldo, S., Capasso, F., 2002. Propolis, an old remedy used in modern medicine. *Fitoterapia* 73 Suppl 1, S1-6. 00185-5

Castro, M.L., Cury, J.A., Rosalen, P.L., Alencar, S.M., Ikegaki, M., Duarte, S., Koo, H., 2007. Própolis do sudeste e nordeste do Brasil: Influência da sazonalidade na atividade antibacteriana e composição fenólica. *Quimica Nova* 30, 1512–1516.

Castro, S.L. de, 2001. Propolis: biological and pharmacological activities. Therapeutic uses of this bee-product. *Annu. Rev. Biomed. Sci.*

Chan, G.C.-F., Cheung, K.-W., Sze, D.M.-Y., 2013. The immunomodulatory and anticancer properties of propolis. *Clin. Rev. Allergy Immunol.* 44, 262–273.

Chandna, P., Adlakha, V.K., Das, S., Singh, S., 2014. Complementary and Alternative Medicine (CAM): A Review of Propolis in Dentistry [WWW Document]. 7.14.20).

Charles Sauvage, Recherches géobotaniques sur les subéraies marocaines, Rabat, Institut Scientifique Chérifien, coll. « Travaux de l'Institut », 1961, 462 p., 21 fig., 10 cartes et 2 diagrammes en pochette

Cheng, P.C., Wong, G., 1996. Honey bee propolis: prospects in medicine. *Bee World* 77, 8–15.

Ciftci-Yilmaz, S., Azman, Z.N., Kosem, K., Gunduz, E., Grenman, R., 2017. Evaluating Antioxidant Capacity of Different Propolis Samples from Konya, Turkey and Their Inhibitory Effect on Head and Neck Cancer Cells. *bioRxiv* 183913.

Cosentino, C I Tuberoso, B Pisano, M Satta, V Mascia, E Arzedi, F Palmas In-vitro antimicrobial activity and chemical composition of Sardinian Thymus essential oils. *Lett Appl Microbiol.* 1999 Aug;29(2):130-5. doi: 10.1046/j.1472-765x.1999.00605.x.

- Cottica, S.M., Sawaya, A.C.H.F., Eberlin, M.N., Franco, S.L., Zeoula, L.M., Visentainer, J.V., 2011. Antioxidant activity and composition of propolis obtained by different methods of extraction. *J. Braz. Chem. Soc.* 22, 929–935.
- Cuesta-Rubio, O.; Frontana-Uribe, B. A.; Ramírez-Apan, T.; Cárdenas, J. Polyisoprenylated Benzophenones in Cuban Propolis; Biological Activity of Nematodes. *Zeitschrift für Naturforschung. C, Journal of biosciences* 2002, 57, 372–378.
- Cvek, Marica, Medić-Šarić, Dubravka, Vitali, Irena, Vedrina-Dragojević, Zdenko, Šmit & Siniša Tomić. Pages 35-45 2007. The content of essential and toxic elements in Croatian propolis samples and their tinctures
- Daugusch, A., Moraes, C.S., Fort, P., Park, Y.K., 2008. Brazilian Red Propolis—Chemical Composition and Botanical Origin. *Evid. Based Complement. Alternat. Med.* 5, 435–441.
- Denis R. La santé par les abeilles - Bienfaits et limites de l'apithérapie. Eugen Ulmer EDS. 2020. 144p.
- Département de l'Agriculture, Maroc, «Contrats Programmes pour le développement des filières de production marocaine,» 2016.
- Direction de l'Élevage, DE, Situation actuelle du secteur apicole et perspective de développement, Rabat, Rapport MAPM, 2001.
- Djeridane M., Yousfi B., Nadjemi D., Boutassouna P., Stocker N., Vidal N. Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. [j.foodchem.2005.04.028](https://doi.org/10.1002/foodchem.200504028).
- Dobrowolski, J.W., Vohora, S.B., Sharma, K., Shah, S.A., Naqvi, S.A., Dandiya, P.C., 1991. Antibacterial, antifungal, antiamebic, antiinflammatory and antipyretic studies on propolis bee products. *J. Ethnopharmacol.* 35, 77–82.
- Donadieu Y. La Propolis. Edition Dangles; 2008. 96 p. (Naturellement Votre).
- Drescher, N., Klein, A.-M., Neumann, P., Yañez, O., Leonhardt, S.D., 2017. Inside Honeybee Hives: Impact of Natural Propolis on the Ectoparasitic Mite *Varroa destructor* and Viruses. *Insects* 8.
- Drescher, N., Klein, A.-M., Neumann, P., Yañez, O., Leonhardt, S.D., 2017. Inside Honeybee Hives: Impact of Natural Propolis on the Ectoparasitic Mite *Varroa destructor* and Viruses. *Insects* 8.
- Duran, G., Duran, N., Culha, G., Ozcan, B., Oztas, H., Ozer, B., 2008. In vitro antileishmanial activity of Adana propolis samples on *Leishmania tropica*: a preliminary study. *Parasitol. Res.* 102, 1217–1225.

- El-Guendouz, S., Aazza, S., Lyoussi, B., Bankova, V., Lourenço, J.P., Costa, A.M.R., Mariano, J.F., Miguel, M.G., Faleiro, M.L., 2016a. Impact of Biohybrid Magnetite Nanoparticles and Moroccan Propolis on Adherence of Methicillin Resistant Strains of *Staphylococcus aureus*. Mol. Basel Switz. 21.
- El-Guendouz, S., Aazza, S., Lyoussi, B., Bankova, V., Popova, M., Neto, L., Faleiro, M.L., Miguel, M.G., 2019. Characterization of volatiles from Moroccan propolis samples. J. Essent. Oil Res. 31, 27–33.
- El-Guendouz, S., Lyoussi, B., Miguel, M.G., Figueiredo, A.C., 2019. Characterization of volatiles from Moroccan propolis samples. J. Essent. Oil Res. 31, 27–33.
- El-Guendouz, S., S, A., Lyoussi, B., Antunes, M.D., Faleiro, M.L., Miguel, M., 2016. Anti-acetylcholinesterase, antidiabetic, anti-inflammatory, antityrosinase and antixanthine oxidase activities of Moroccan propolis. Int. J. Food Sci. Technol. 51, 1762–1773.
- El hafian et al. J. Appl. Biosci. 2014. Étude floristique et ethnobotanique des plantes médicinales utilisées au niveau de la préfecture d'Agadir-Ida –Outanane , Maroc.
- El Hazzat N, Iraqi R, Bouseta A. 2015. Identification par GC-MS et GCFID-O des composés volatils des olives vertes de la variété « Picholine marocaine » : effet de l'origine géographique. Int. J. Biol. Chem. Sci., 9(4) : 2219-2233.
- Elnakady, Y.A., Rushdi, A.I., Franke, R., Abutaha, N., Ebaid, H., Baabbad, M., Omar, M.O.M., Al Ghamdi, A.A., 2017. Characteristics, chemical compositions and biological activities of propolis from Al-Bahah, Saudi Arabia. Sci. Rep. 7.
- Espinoza J.E., McDowell L.R., Wilkinson N.S., Conrad J. H. and Martin F.G. "Monthly variation of forage and soil minerals in central Florida II. Trace minerals". Communications in Soil Science and Plant Analysis 22 (11): 1137-1149. 1991
- Eraslan, G., Murat. K., Sibel, S., (2007). Evaluation of propolis effects on some biochemical parameters in rats treated with sodium Xuoride Pesticide. Biochemistry and Physiology, 88, 273-228
- Ferreira, J.M., Fernandes-Silva, C.C., Salatino, A., Negri, G., Message, D., 2017. New propolis type from north-east Brazil: chemical composition, antioxidant activity and botanical origin. J. Sci. Food Agric. 97, 3552–3558.
- Formicki. Metal Content in Honey, Propolis, Wax, and Bee Pollen and Implications for Metal Pollution Monitoring. 2013., Polish Journal of Environmental Studies 22(1):99-106
- Freitas, S.F., Shinohara, L., Sforcin, J.M., Guimarães, S., 2006. In vitro effects of propolis on *Giardia duodenalis* trophozoites. Phytomedicine 13, 170–175.

- Frozza, C.O. da S., Garcia, C.S.C., Gambato, G., de Souza, M.D.O., Salvador, M., Moura, S., Padilha, F.F., Seixas, F.K., Collares, T., Borsuk, S., Dellagostin, O.A., Henriques, J.A.P., Roesch-Ely, M., 2013. Chemical characterization, antioxidant and cytotoxic activities of Brazilian red propolis. *Food Chem. Toxicol. Int. J. Publ. Br. Ind. Biol. Res. Assoc.* 52, 137–142.
- Ga, B., 1998. Review of the biological properties and toxicity of bee propolis (propolis). *Food Chem. Toxicol.* 36, 347–363.
- Giancarlo Ricciardelli d'Albore, Marcella Battaglini Bernardini. ORIGINE GÉOGRAPHIQUE DE LA GELÉE ROYALE. *Apidologie*, Springer Verlag, 1978, 9 (1), pp.1-17
- Grange, J.M., Davey, R.W., 1990. Antibacterial properties of propolis (bee glue). *J. R. Soc. Med.* 83, 159–160.
- Gregoris, E., Stevanato, R., 2010. Correlations between polyphenolic composition and antioxidant activity of Venetian propolis. *Food Chem. Toxicol.* 48, 76–82.
- Gülçin, İ., Beydemir, Ş., Şat, ? G., Küfrevioğlu, Ö.İ., 2005. Evaluation of antioxidant activity of cornelian cherry (*Cornus Mas L.*). *Acta Aliment.* 34, 193–202.
- Gülçin, I., Bursal, E., Sehitoglu, M.H., Bilsel, M., Gören, A.C., 2010. Polyphenol contents and antioxidant activity of lyophilized aqueous extract of propolis from Erzurum, Turkey. *Food Chem. Toxicol. Int. J. Publ. Br. Ind. Biol. Res. Assoc.* 48, 2227–2238.
- Haisha Yang, Yuqiong Dong, Huijing Du, Haiming Shi, Yunhua Peng, and Xiaobo Li. Antioxidant Compounds from Propolis Collected in Anhui, China. *Molecules*. 2011 Apr; 16(4): 3444–3455
- Hatano, T., Kagawa, H., Yasuhara, T., Okuda, T., 1988. Two new flavonoids and other constituents in licorice root: their relative astringency and radical scavenging effects. *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)* 36, 2090–2097.
- Hegazi and . Abd El Hady. Egyptian Propolis: 1-Antimicrobial Activity and Chemical Composition of Upper Egypt Propolis. *Z. Naturforsch.* 56c, 82-88 2001.
- Huang S., Zhang C. P., Wang K., LI G.Q. and Hu, F.L. “Recent advances in the chemical composition of propolis”. *Molecules (Basel, Switzerland)* 19:19610-19632. 2014.
- Isis Regina Grenier Capoci, Patrícia de Souza Bonfim-Mendonça, Glaucia Sayuri Arita, Raphaela Reginade Araújo Pereira, Marcia Edilaine Lopes Consolaro, Marcos Luciano Bruschi, Melyssa Negri., 2015. Propolis Is an Efficient Fungicide and Inhibitor of Biofilm

- Izabela Przybyłek, Tomasz M Karpiński. Antibacterial Properties of Propolis, *Molecules*. 2019 May 29;24(11):2047.
- Jacques Barrau, Les hommes et leurs aliments. 1985. *Études Rural*. 97, 257–264.
- Jorge, R., Furtado, N.A.J.C., Sousa, J.P.B., Filho, A.A. da S., Junior, L.E.G., Martins, C.H.G., Soares, A.E.E., Bastos, J.K., Cunha, W.R., Silva, M.L.A., 2008. Brazilian Propolis: Seasonal Variation of the Prenylated p-Coumaric Acids and Antimicrobial Activity. *Pharm. Biol.* 46, 889–893.
- Kanazawa, H, Ohsawa, K, Sasaki, Y, Kohsaka, S and Imai, Y. Macrophage/microglia-specific protein Iba1 enhances membrane ruffling and Rac activation via phospholipase C-gamma-dependent pathwa .2002., *J Biol Chem* 277: 20026-20032
- Kędzia, B., 2009. Chemical composition of Polish propolis. Part I. The initial period of investigations. *PostępyFitoter.* 10, 39–44.
- Khabbach, A., Libiad, M., Ennabili, A., 2013. Melliferous flora and apiculture in the pre-Rif of the province of Taza (North of Morocco) *Revista.Luna.Azul*, no. 36, pp. 78-90.
- Khalil ML., 2006. Biological activity of bee propolis in health and disease. *Asian Pac J Cancer Prev.* Jan-Mar 2006;7(1):22-31.
- Khurshid, Z., Naseem, M., Zafar, M.S., Najeeb, S., Zohaib, S., 2017. Propolis: A natural biomaterial for dental and oral healthcare. *J. Dent. Res. Dent. Clin. Dent. Prospects* 11, 265-274
- Kim, Y.-H., Chung, H.-J., 2011. The effects of Korean propolis against foodborne pathogens and transmission electron microscopic examination. *New Biotechnol.*, Special issues on Biocatalysis and Agricultural Biotechnology: number 7-9 28, 713–718.
- Kortenska, V. D.; Velikova, M. P.; Yanishlieva, N. V.; Totzeva, I. R.; Bankova, V. S.; Marcucci, M.C.; *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 2002, 104, 19.
- Król, W., Bankova, V., Sforcin, J.M., Szliszka, E., Czuba, Z., Kuropatnicki, A.K., 2013. Propolis: Properties, Application, and Its Potential [WWW Document]. *Evid. Based Complement. Alternat. Med.*
- Kumazawa, S., Ahn, M.-R., Fujimoto, T., Kato, M., 2010. Radical-scavenging activity and phenolic constituents of propolis from different regions of Argentina. *Nat. Prod. Res.* 24, 804–812.
- Kumazawa, S., Hamasaka, T., Nakayama, T., 2004. Antioxidant activity of propolis of various

- geographic origins. *Food Chem.* 84, 329–339.
- Kumazawa, S., Nakamura, J., Murase, M., Miyagawa, M., Ahn, M.-R., Fukumoto, S., 2008. Plant origin of Okinawan propolis: honeybee behavior observation and phytochemical analysis. *Naturwissenschaften* 95, 781–786.
- Kumazawa, S., Taniguchi, M., Suzuki, Y., Shimura, M., Kwon, M.-S., Nakayama, T., 2002. Antioxidant Activity of Polyphenols in Carob Pods. *J. Agric. Food Chem.* 50, 373–377.
- Kuropatnicki, A.K., Szliszka, E., Krol, W., 2013. Historical Aspects of Propolis Research in ModernTimes [WWW Document]. *Evid.Based Complement.Alternat.Med.*
- Lepoutre Bernard, Combes M. (collab.). (1967). La Mamora. In : Congrès de pédologie méditerranéenne : excursion au Maroc. *Cahiers de la Recherche Agronomique*, 1 (24), p. 279-295.
- Lavie, P (1975). La propolis. Edition: Apimondia. Bucharest.
- Levy, S. B. (2002): Factors impacting on the problem of antibiotic resistance. *J. Antimicrob. Chemoth.* 49, 25–30.
- Li, F., Awale, S., Tezuka, Y., Kadota, S., 2008. Cytotoxic constituents from Brazilian red propolis and their structure-activity relationship. *Bioorg. Med. Chem.* 16, 5434–5440. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2008.04.016>
- M. da G., 2018. Moroccan Propolis: A Natural Antioxidant, Antibacterial, and Antibiofilm against *Staphylococcus aureus* with No Induction of Resistance after Continuous Exposure [WWW Document]. *Evid.Based Complement.Alternat.Med.*
- M. Aboulal, «La filière apicole au Maroc,» 2014, Foligno, Italia: 6° Forum de l'apiculture du Méditerranéen, "Apiculture, Bien Commun", 2014.
- M.A. Cantarelli. Quality of honey from Argentina: Study of chemical composition and trace elements. 2008.
- Machado, B.S., Pulcino, T.N., Silva, A.L., Melo, D.T., Silva, R.G., Mendonça, I.G., 2016. Propolis as an alternative in prevention and control of dental cavity -. *J. Apitherapy* 1, 47–50.
- Marcucci, M.C., 1995a. Propolis: chemical composition, biological properties and therapeutic activity. *Apidologie* 26, 83–99.
- Marcucci, M.C., 1995b. Propolis: chemical composition, biological properties and therapeutic activity. *Apidologie* 26, 83–99.

- Marcucci, M.C., Ferreres, F., García-Viguera, C., Bankova, V.S., De Castro, S.L., Dantas, A.P., Valente, P.H., Paulino, N., 2001. Phenolic compounds from Brazilian propolis with pharmacological activities. *J. Ethnopharmacol.* 74, 105–112.
- Martinotti, S., Ranzato, E., 2015. Propolis: a new frontier for wound healing? *Burns Trauma* 3, 9.
- Maruyama, Yoshiki Sumitou, Takashi Sakamoto, Yoko Araki, Hideaki Hara., Antihypertensive effects of flavonoids isolated from Brazilian green propolis in spontaneously hypertensive rats. *Biol Pharm Bull.* 2009 Jul;32(7):1244-50.
- Massaro CF, Jack Bruce Simpson, Daniel Powell, Peter Brooks. Chemical composition and antimicrobial activity of honeybee (*Apis mellifera ligustica*) propolis from subtropical eastern Australia. *Naturwissenschaften.* 2015 (11-12):68. doi: 10.1007/s00114-015-1318-z.
- Mello, B.C.B.S., Hubinger, M.D., 2012. Antioxidant activity and polyphenol contents in Brazilian green propolis extracts prepared with the use of ethanol and water as solvents in different pH values. *Int. J. Food Sci. Technol.* 47, 2510–2518.
- Merouane A, Noui A, Medjahed H, NEDJARI BENHADJ ALI k, Saadi A. 2014. Activité antioxydante des composés phénoliques d'huile d'olive extraite par méthode traditionnelle. *Int. J. Biol. Chem. Sci.*, 8(4): 1865-1870.
- Miguel, M. da G., Doughmi, O., Aazza, S., Antunes, D., Lyoussi, B., 2014. Antioxidant, anti-inflammatory and acetylcholinesterase inhibitory activities of propolis from different regions of Morocco. *Food Sci. Biotechnol.* 23, 313–322.
- M. Inmaculada González-Martíne. Determination of the Mineral Composition and Toxic Element Contents of Propolis by Near Infrared Spectroscopy. 201., *Sensors* 15(11):27854-27868
- Ministère de l'Agriculture, « Apiculture en chiffres en 2013, » In Projet de Fin d'Etudes présenté pour l'obtention du diplôme d'Ingénieur en Agronomie, Option : Productions Animales, « Contribution à l'état des lieux et perspectives de développement de deux groupements apicoles au Maroc ; Cas de l'Union Kotb Moulay Abdessalam et l'Union des Coopératives Apicoles Tadla Azilal », pp. 24-27, 2014
- Ministère de l'Agriculture, Rapport national sur les ressources génétiques marocaines, 2003. <http://ftp.fao.org/docrep/fao/011/a1250f/annexes/CountryReports/Morocco.pdf> (Septembre 12, 2016)
- Ministère de l'Agriculture et de la p, « Situation de l'agriculture marocaine N°10, »

Ministère de l'Agriculture, 2012.

http://www.agriculture.gov.ma/sites/default/files/sam_fr_10.pdf

(Septembre 02, 2016)

Ministère de l'Environnement, « Etude nationale sur la biodiversité au Maroc, » Projet GEF 6105/92, 1997.

Miyataka, H., Nishiki, M., Matsumoto, H., Fujimoto, T., Matsuka, M., Satoh, T., 1997. Evaluation of propolis. I. Evaluation of Brazilian and Chinese propolis by enzymatic and physico-chemical methods. *Biol. Pharm. Bull.* 20, 496–501.

Moreira, L., Dias, L.G., Pereira, J.A., Estevinho, L., 2008. Antioxidant properties, total phenols and pollen analysis of propolis samples from Portugal. *Food Chem. Toxicol.* 46, 3482–3485.

Moujanni, A., Essamadi, A.K., Terrab, A., 2017. Beekeeping in Morocco: focus on honey production. *Int. J. Innov. Appl. Stud.* 20, 52–78.

Mouse, H.A., Tilaoui, M., Jaafari, A., M'barek, L.A., Aboufatima, R., Chait, A., Zyad, A., 2012. Evaluation of the in vitro and in vivo anticancer properties of Moroccan propolis extracts. *Rev. Bras. Farmacogn.* 22, 558–567.

Morgano M.A., Martins M.C.T., Rabonato L.C., Milani R.F., Yotsuyanagi K. and Rodriguez Amay D.B. “A comprehensive investigation of the mineral composition of Brazilian bee pollen: geographic and seasonal variations and contribution to human diet”. *Journal of the Brazilian Chemical Society* 23(4): 727-736.

Netíková L., Bogusch P., Heneberg P. Czech ethanol-free propolis extract displays inhibitory activity against a broad spectrum of bacterial and fungal pathogens. *Journal of Food Science.* 2013, pp. n. 78 (9) , p. M1421-M1429.

Neumann, D., Götze, G., Binus, W., 1986. [Clinical study of a test of the plaque- and gingivitis-inhibiting effects of propolis]. *Stomatol. DDR* 36, 677–681.

Newman D.J., Cragg G.M., Snader K.M., 2003. Natural products as sources of new drugs over the period 1981 - 2002. *Journal of Natural Products* 66: 1022 - 1037.

Nicolaÿ J, Lefief-Delcourt A. Le grand livre de l'apithérapie - Miel, propolis, pollen, gelée royale.... Les remèdes de la ruche pour votre santé. Leduc.s pratique. Le Duc S.; 2019. 224 p. (Grand livre). 32.

Oliveira, A.C.P., Shinobu, C.S., Longhini, R., Franco, S.L., Svidzinski, T.I.E., 2006. Antifungal

- activity of propolis extract against yeasts isolated from onychomycosis lesions. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 101, 493–497.
- Omar, R., Igoli, J.O., Zhang, T., Gray, A.I., Ebiloma, G.U., Clements, C.J., Fearnley, J., EdradaEbel, R., Paget, T., de Koning, H.P., Watson, D.G., 2017. The Chemical Characterization of Nigerian Propolis samples and Their Activity Against *Trypanosoma brucei*. *Sci.Rep.* 7, 923.
- Oršolić, S Terzić, Ž Mihaljević, L Šver, I Bašić., 2005. Effects of local administration of propolis and its polyphenolic compounds on tumor formation and growth. *Biological and Pharmaceutical Bulletin* 28 (10), 1928-1933.
- Oršolić, AB Šaranović, I Bašić., 2006. Direct and indirect mechanism (s) of antitumour activity of propolis and its polyphenolic compounds. *Planta medica* 72 (01), 20-27
- Orsi R.O., Sforcin J.M., Rall V.L.M., Funari S.R.C., Luciano B., Fernandes JR A. Susceptibility profile of Salmonella against the antibacterial activity of propolis produced in tworegions of Brazil. *J. Venom. Anim. Toxins incl. Trop. Dis .* 2005, p. vol.11 no.2 .
- Oyaizu, M., Ogihara, H. and Fujimoto, Y.. (1999). Antioxidative activity of extracts from propolis. *J. Jpn. Oil Chem. Soc.*, **48**, 135–138.
- Pasupuleti, V.R., Sammugam, L., Ramesh, N., Gan, S.H., 2017. Honey, Propolis, and Royal Jelly: A Comprehensive Review of Their Biological Actions and Health Benefits. *Oxid. Med. Cell. Longev.*
- Pietta, P.G., Gardana, C., Pietta, A.M., 2002. Analytical methods for quality control of propolis. *Fitoterapia* 73 Suppl 1, S7-20.
- Popova, M., Bankova, V., Butovska, D., Petkov, V., Nikolova-Damyanova, B., Sabatini, A.G., Marcazzan, G.L., Bogdanov, S., 2004. Validated methods for the quantification of biologically active constituents of poplar-type propolis. *Phytochem. Anal. PCA* 15, 235–240. <https://doi.org/10.1002/pca.777>
- Popova, M.; Dimitrova, R.; Al-Lawati, H.; Tsvetkova, I.; Najdenski, H.; Bankova, V. Omani propolis: Chemical profiling, antibacterial activity and new propolis plant sources. *Chem. Cent. J.* 2013.
- Popova, M., Lyoussi, B., Aazza, S., Antunes, D., Bankova, V., Miguel, G., 2015. Antioxidant and α -Glucosidase Inhibitory Properties and Chemical Profiles of Moroccan Propolis. *Nat. Prod. Commun.* 10, 1961–1964.

- Popova, M., Silici, S., Kaftanoglu, O., Bankova, V., 2005. Antibacterial activity of Turkish propolis and its qualitative and quantitative chemical composition. *Phytomedicine Int. J. Phytother. Phytopharm.* 12, 221–228.
- Rajpara, S., Wilkinson, M.S., King, C.M., Gawkrödger, D.J., English, J.S.C., Statham, B.N., Green, C., Sansom, J.E., Chowdhury, M.M.U., Horne, H.L., Ormerod, A.D., 2009. The importance of propolis in patch testing--a multicenter survey. *Contact Dermatitis* 61, 287–290.
- Ramos, A.F.N., Miranda, J.L., 2007. Propolis: a review of its anti-inflammatory and healing actions. *J. Venom. Anim. Toxins Trop. Dis.* 13, 697–710.
- Rowe NH, Aron SM, Clark DC, Gume KE. Effect of age, sex, race and economic statute on dental caries experience of the permanent dentition. *Paediatrics.* 1996, pp. n. 57, p. 457- 461.
- Sabir, A., Sumidarti, A., 2017. Interleukin-6 expression on inflamed rat dental pulp tissue after capped with *Trigona* sp. propolis from south Sulawesi, Indonesia. *Saudi J. Biol. Sci., Current Research in Apiculture* 24, 1034–1037.
- Salomão, K., Pereira, P.R.S., Campos, L.C., Borba, C.M., Cabello, P.H., Marcucci, M.C., de Castro, S.L., 2008. Brazilian propolis: correlation between chemical composition and antimicrobial activity. *Evid.-Based Complement. Altern. Med. ECAM* 5, 317–324.
- Sanchez-Moreno, C., Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. *Inter. J. Food Sci. and Technol.* 8 (2002) 121-137.
- SENHADJI.I. 2019. Les antibiotiques : Généralités. Université oran 1 faculté de médecine département de médecine module pharmacologie
- Santana, E.Q. ; Almeida, A.A. ; Jabor, A.P.; Almeida, A.E.; Chung, M.C., 2008. Determination of calcium and magnesium in hydroethanolic extracts of propolis by atomic absorption flame spectrophotometry. *Journal of Basic and Applied Pharmaceutical Sciences.* v. 29, n.1, p. 77-80,
- Santos, F.A., Bastos, E.M.A., Uzeda, M., Carvalho, M. a. R., Farias, L.M., Moreira, E.S.A., Braga, F.C., 2002. Antibacterial activity of Brazilian propolis and fractions against oral anaerobic bacteria. *J. Ethnopharmacol.* 80, 1–7.
- Schnitzler P, Neuner A, Nolkemper S, Zundel C, Nowack H, Sensch KH, et al. 2010 . Antiviral activity and mode of action of propolis extracts and selected compounds. *Phytother Res PTR.*;24 Suppl 1:S20-28.

- Seidel, V., Peyfoon, E., Watson, D.G., Fearnley, J., 2008. Comparative study of the antibacterial activity of propolis from different geographical and climatic zones. *Phytother. Res. PTR* 22, 1256–1263.
- Serra Bonvehí & F.J. Orantes Bermejo .Element content of propolis collected from different areas of South Spain. *Environmental Monitoring and Assessment* **volume 185**, pages6035–6047 (2013)
- Sforcin, J.M., 2007. Propolis and the immune system: a review. *J. Ethnopharmacol.* 113, 1–14.
- Sforcin, J. M., and Bankova, V. (2011) Propolis: is there a potential for the development of new drugs?, *Journal of ethnopharmacology* 133, 253-260.
- Sforcin, J.M., 2016. Biological Properties and Therapeutic Applications of Propolis. *Phytother. Res. PTR* 30, 894–905.
- Sforcin, J.M., Fernandes, A., Lopes, C.A., Bankova, V., Funari, S.R., 2000. Seasonal effect on Brazilian propolis antibacterial activity. *J. Ethnopharmacol.* 73, 243–249.
- Sharififar, F., Moshafi, M.H., Mansouri, S.H., Khodashenas, M. et Khoshnoodi, M. (2007). Invitro evaluation of antibacterial and antioxidantactivities of the essential oil and methanolextract of endemic *Zatariamultiflora* Boiss. *Food Control*.
- Shimazawa, Satomi Chikamatsu, Nobutaka Morimoto, Satoshi Mishima, Hiroichi Nagai, and Hideaki Hara., 2005. Neuroprotection by Brazilian Green Propolis against *In vitro* and *In vivo* Ischemic Neuronal Damage. volume 2 |Article ID 613491 | <https://doi.org/10.1093/ecam/neh078>
- Shinohara, R., Ohta, Y., Hayashi, T., Ikeno, T., 2002. Evaluation of antilipid peroxidative action of propolis ethanol extract. *Phytother. Res. PTR* 16, 340–347.
- Shouqin, Z., Jun, X., Changzheng, W., 2005. High hydrostatic pressure extraction of flavonoids frompropolis. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 80, 50–54.
- Silva, B.B., Rosalen, P.L., Cury, J.A., Ikegaki, M., Souza, V.C., Esteves, A., Alencar, S.M., 2008. Chemical Composition and Botanical Origin of Red Propolis, a New Type of Brazilian Propolis. *Evid.-Based Complement. Altern. Med. ECAM* 5, 313–316.
- Siripatrawan U., Vitchayakitti W., Sanguandeeul R. Antioxidant and antimicrobial properties of Thai propolis extracted using ethanol aqueous solution. *International Journal of Food Science & Technology*. 2013, pp. n. 48(1), p. 22–27.
- Soltani, E.-K., Cerezuela, R., Charef, N., Mezaache-Aichour, S., Esteban, M.A., Zerroug,

- M.M., 2017. Algerian propolis extracts: Chemical composition, bactericidal activity and in vitro effects on gilthead seabream innate immune responses. *Fish Shellfish Immunol.* 62, 57–67.
- Teixeira, É.W., Negri, G., Meira, R.M.S.A., Message, D., Salatino, A., 2005. Plant Origin of Green Propolis: Bee Behavior, Plant Anatomy and Chemistry. *Evid.Based Complement.Alternat. Med.* 2, 85–92.
- Toreti, V.C., Sato, H.H., Pastore, G.M., Park, Y.K., 2013. Recent Progress of Propolis for Its Biological and Chemical Compositions and Its Botanical Origin [WWW Document]. *Evid.Based Complement.Alternat.Med.*
- Torres, A.R.; Sandjo, L.P.; Friedemann, M.T.; Tomazzoli, M.M.; Maraschin, M.; Mello, C.F.; Santos, A.R.S. Chemical characterization, antioxidant and antimicrobial activity of propolis obtained from *Melipona quadrifasciata quadrifasciata* and *Tetragonisca angustula* stingless bees. *Braz. J. Med. Biol. Res.* 2018, 51, e7118.
- Trémolières, *Nutrition, Physiologie, Comportement Alimentaire* (France: Dunod, 1973).
- Uzel, A.; Sorkun, K.; Önça ğ, Ö.; Ço ğulu, D.; Gençay, Ö.; Salih, B. Chemical compositions and antimicrobial activities of four different Anatolian propolis samples. *Microbiol. Res.* 2005, 160, 189–195.
- Valencia, D., Alday, E., Robles-Zepeda, R., Garibay-Escobar, A., Galvez-Ruiz, J.C., Salas-Reyes, M., Jiménez-Estrada, M., Velazquez-Contreras, E., Hernandez, J., Velazquez, C., 2012. Seasonal effect on chemical composition and biological activities of Sonoran propolis. *Food Chem.* 131, 645–651.
- Vardar-Ünlü, G., Silici, S., Ünlü, M., 2008. Composition and in vitro antimicrobial activity of *Populus* buds and poplar-type propolis. *World J. Microbiol.Biotechnol.* 24, 1011–1017.
- Veiga, R.S., De Mendonça, S., Mendes, P.B., Paulino, N., Mimica, M.J., Lagareiro Netto, A.A., Lira, I.S., López, B.G.-C., Negrão, V., Marcucci, M.C., 2017. Artepillin C and phenolic compounds responsible for antimicrobial and antioxidant activity of green propolis and *Baccharis dracunculifolia* DC. *J. Appl. Microbiol.* 122, 911–920.
- Viuda-Martos, M., Ruiz-Navajas, Y., Fernández-López, J., Pérez-Alvarez, J.A., 2008. Functional properties of honey, propolis, and royal jelly. *J. Food Sci.* 73, R117-124.
- Volatier, *Enquête Inca Individuelle Et Nationale Sur Les Consommations Alimentaires*. Agence Française De Sécurité Sanitaire Des Aliments (Afssa) 2000).

- Volpi, N. and Bergonzini, G. (2006) Analysis of Flavonoids from Propolis by On-Line HPLC-Electrospray Mass Spectrometry. *Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 42, 354-361.
- Wagh, V.D., 2013. Propolis: A wonder bees product and its pharmacological potentials. *Advances in Pharmacological Sciences* 2013, 1–11.
- Walker and Crane,. 1987. CONSTITUENTS OF PROPOLIS. *Apidologie* 18 (1987) 327-334
- Watanabe, M.A.E., Amarante, M.K., Conti, B.J., Sforcin, J.M., 2011. Cytotoxic constituents of propolis inducing anticancer effects: a review. *J. Pharm. Pharmacol.* 63, 1378– 1386.
- Woisky, R.G., Salatino, A., 1998. Analysis of propolis: some parameters and procedures for chemical quality control. *J. Apic. Res.* 37, 99–105.
- Wojdyło Jan Oszmiański Renata Czemerys. Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs. *j.foodchem*.2007.04.038
- Wolska, K., Gorska, A., Antosik, K., Lugowska, K., 2019. Immunomodulatory Effects of Propolis and its Components on Basic Immune Cell Functions. *Indian J. Pharm. Sci.* 81, 575–588.
- Yang H.Y., Chang C.M., Chen Y.W., Chou C.C. Inhibitory effect of propolis extract on the growth of *Listeria monocytogenes* and the mutagenicity of 4-nitroquinoline-N-oxide. *Journal of the Science of Food and Agriculture*.2006, pp. n. 86(6), p. 937-943.
- Yildirim A, Duran GG, Duran N, Jenedi K, Bolgul BS, Miraloglu M, et al. févr 2016. Antiviral Activity of Hatay Propolis Against Replication of Herpes Simplex Virus Type 1 and Type 2. *Med Sci Monit Int Med J Exp Clin Res.*; 22:422-30.
- Yuanjun Xu, Liping Luo, Bin Chen & Yuxin Fu. Recent development of chemical components in propolis. *Frontiers of Biology in China* volume 4, Article number: 385 (2009).
- Yue-Wen, C.; Siou-Ru, Y.; Chieh, T.; Yu-Hsiang, Y. Antibacterial activity of propolins from Taiwanese green propolis. *J. Food Drug Anal.* 2018, 26, 761–768.
- Zabaiou, N., Fouache, A., Trousson, A., Baron, S., Zellagui, A., Lahouel, M., Lobaccaro, J.-M.A., 2017. Biological properties of propolis extracts: Something new from an ancient product. *Chem. Phys. Lipids* 207, 214–222.
- Zheng, Y.-Z., Deng, G., Liang, Q., Chen, D.-F., Guo, R., Lai, R.-C., 2017. Antioxidant Activity of Quercetin and Its Glucosides from Propolis: A Theoretical Study. *Sci. Rep.* 7.
- Zürich, S., 8005. La Fédération Interprofessionnelle Marocaine des Apiculteurs (FIMAP) – Swisscontact – Maroc.

Annexe

Étude de la filière apicole AU MAROC

DU 20 Décembre 2014 au 25 Septembre 2015

Etude préparée par OUAMANI ABDELATI

Encadrant : Pr. L Hilali

Annexe 1 : Questionnaire de collecte des données auprès des apiculteurs de la propolis Marocaine

1. SEX

O 1. HOMME

O 2. FEMME

2. AGE

3. NIVEAU D'étude

O 1. SANS

O 2. MOYEN

O 3. ELEVEE

4. REGION

5. APICULTURE EST VOTRE ACTIVITE PRINCIPALE

O 1. OUI

O 2. NON

6. STATUT JURUDIQUE

O 1. INDIVIDUELLE

O 2. COOPERATION

7. AVEZ-VOUS SUIVI UNE FORMATION DANS LE DOMAINE DE L'APICULTURE

O 1. OUI

O 2. NON

8. EST-CE QUE VOUS CONNAISSEZ LA PROPOLIS

O 1. OUI

O 2. NON

9. EST-CE QUE VOUS AVEZ DES CONNAISSANCES POUR LES BIENFAITS DE LA PROPOLIS

O 1. OUI

O 2. NON

10. EST-CE QUE VOUS PRODUISEZ DE LA PROPOLIS

O 1. OUI

O 2. NON

11. SI NON POURQUOI

12. VOUS CONNAISSEZ LE PRIX DE LA PROPOLIS

O 1. OUI

O 2. NON

ANNEXE 2 : Questionnaire de collecte des données auprès des consommateurs de la propolis Marocaine

1. SEX

O 1. HOMME

O 2. FEMME

2. AGE

3. EST-CE QUE VOUS CONSOMMEZ DE MIEL

O 1. OUI

O 2. NON

4. EST-CE QUE VOUS CONNAISSEZ LA PROPOLIS

O 1. OUI

O 2. NON

5. EST-CE QUE VOUS AVEZ DES CONNAISSANCES POUR LES BIENFAITS DE LA PROPOLIS

O 1. OUI

O 2. NON

6. VOUS CONNAISSEZ LES DIFFERENTS MODES D'UTILISATION DE LA PROPOLIS

O 1. OUI

O 2. NON

7. DISPONIBILITE DE LA PROPOLIS DANS LE MARCHE LOCAL

O 1. OUI

O 2. NON

6. EST-CE QUE VOUS AVEZ CONSOMME DE LA PROPOLIS

O 1. OUI

O 2. NON

9. SOURCE DE LA PROPOLIS

O 1. ACHAT PAR INTERNET

O 2. APICULTEUR