

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة 8 ماي 1945 قالمة
Université 8 Mai 1945 Guelma
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Sciences de la terre et de l'Univers



Mémoire En Vue de l'Obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie
Filière : Sciences Biologiques
Spécialité/Option : Immunologie appliquée
Département : Biologie

**Thème : Effet d'un complément alimentaire sur le système
immunitaire.**

Présenté par :
Naili Warida

Devant le jury composé de :

Président : A. Oumedour

Examineur : S. Kaidi

Encadreur : S. Mairif

Université de Guelma

Université de Guelma

Université de Guelma

2017- 2018

Remerciements

En préambule à ce mémoire je remercie Allah Le Tout Puissant et Le Tout Miséricordieux Qui m'a inspiré et guidé dans le bon chemin et Qui m'a donné la force et la patience d'accomplir ce modeste travail.

Mes sincères remerciements vont aux membres de jury :

A monsieur **A.E.K. Oumedour** maitre de conférences au département des sciences de la nature et de la vie, université de Guelma président du jury.

A madame **S. Kaidi** maitre assistante de département des sciences de la nature et de la vie, université de Guelma. Qui m'a fait l'honneur, d'avoir voulu examiner ce travail.

Tous mes remerciements et toute ma gratitude vont aux **Dr. Ben Rabah** et **Dr. Belgharssa** qui m'ont aidé dans l'interprétation des coupes histologiques.

Je tiens à exprimer également un grand merci pour les techniciennes des laboratoires Mme **Boughazi G.**, **Himer R.**, **Messiade N.**, Pour leurs aides, présence et encouragement tout au long de la réalisation de ce mémoire. Ainsi, à tous les membres de l'équipe travaillant au sein du laboratoire d'anatomopathologie de l'hôpital Ibn Zohr de Guelma qui m'ont beaucoup aidé dans la réalisation des coupes histologiques.

Sans oublier bien évidemment mes camarades **Amari I.**, **Atatra A.**, **Ben djemil A.**, **Haridi K.**, **Ghazi A.**, **Guezgouz Y.**, **Bensalem B.**, **Lahiouel Y.**, **Mekassa N.**, **Sanogo D.**, **Diarra H.**, et tous les **Immunologistes** de ma promo, pour leur motivation dans leurs encouragements et

surtout leurs aides durant toute la réalisation de ce mémoire dans une bonne ambiance.

J'adresse enfin mes sincères remerciements à tous mes enseignants pour leur patience et leur dévouement pour nous avoir transmis toutes les connaissances acquises.

Je tiens particulièrement à remercier chaleureusement madame **M. Aouissi. Cherairia** et lui exprimer toute ma gratitude pour sa gentillesse et qui n'a ménagé aucun effort pour me prodiguer ses précieux conseils qui m'ont permis d'acquérir beaucoup de connaissances.

Que ce travail soit le témoignage de mon plus profond respect.

Merci à toutes et à tous.

Dédicace

A mes très chers parents

Qui m'ont permis, avec beaucoup de sacrifice, de poursuivre mes études dans de bonnes conditions.

Je leur saurai toujours gré de n'avoir ménagé aucun effort pour être toujours à l'écoute et de m'avoir inculqué toutes les valeurs du travail, le sens de l'effort et l'esprit du sacrifice permanent, ainsi que les nobles vertus inspirés du Saint Coran.

Je prie Dieu le Tout Puissant pour qu'il leur accorde une longue vie pleine de bonheur.

A mes sœurs Rania et Dania

Je tiens également à remercier beaucoup mes deux jeunes sœurs pour tout l'amour et toute leur gentillesse qu'elles m'ont toujours prodigué. Je leur souhaite vivement et sincèrement beaucoup de bonheur et de réussite dans leur vie.

A ma grand-mère « Baya »

Merci énormément pour ton soutien, ta présence et surtout tes prières qui m'ont toujours aidé à persévérer.

Que Dieu te garde encore longtemps parmi nous.

Mes remerciements chaleureux vont aussi à tous mes chers oncles et à mes chères tantes **Samia, Leila, Houria, Hakima, Linda**. A mes deux adorables **Elmess** et **Maya** et tous mes cousins et cousines, pour leur soutien dans tout mon parcours universitaire.

Liste des abréviations

Ac	Anticorps.
Ag	Antigène.
TCR	Recepteur de cellule T.
BCR	Recepteur de cellule B.
CD	Cellule dendritique.
CMH I	Complexe majeur d'histocompatibilité de type I.
CMH II	Complexe majeur d'histocompatibilité de type II.
CPA	Cellule présentatrice d'antigène.
EDTA	Acide Ethylène Diamino Tétracétique.
FNS	Formule numérique sanguine.
IL-1	Interleukine-6, etc.
IFN-γ	Interféron- γ .
LB	Lymphocyte B.
LT	Lymphocyte T.
NF-kB	Facteur nucléaire kB (facteur de transcription).
NK	Cellules tueuses naturelles (Natural Killer).
NO	Oxyde nitrique.
PBS	Phosphate buffer salin.
Rpm	Round par minute.
SI	Système immunitaire.
T	Témoin.
D1	Une dose.
D2	Une double dose.
T CD4 / T4	Lymphocyte T porteur du marqueur membranaire CD4 (T auxiliaire).
T CD8 /T8	Lymphocyte T porteur du marqueur membranaire CD8 (T cytotoxique).
TGF-b	Facteur de croissance transformant b (transforming growth factor-b).
Th	Lymphocyte T auxiliaires ou T helper.
Th1 / Th2	Lymphocyte T auxiliaires de type 1 ou 2, produisant des cytokines de type 1(IL-2, TNF, IFN-g) ou de type 2 (IL-4, IL-6, IL-10).
TNF- α	Facteur de nécrose tumorale α (tumor necrosis factor α).
CAPE	Phényléthylique de l'acide cafféique.

Balt Tissus lymphoïdes associés à l'épithélium respiratoire
Malt Tissus lymphoïdes associés aux muqueuses.
IP Intra péritonéale.

Liste des figures

Figure	Titre	Page
01	Neutrophile	4
02	Basophile	4
03	Eosinophile	5
04	Monocyte	5
05	Macrophage	5
06	Cellule dendritique	6
07	Plasmocyte	7
08	Lymphocyte T	8
09	Cellule NK	8
10	Mastocyte	9
11	Un récepteur de surface	9
12	Un anticorps sécrété	9
13	Les organes lymphoïdes	10
14	Le thymus	11

15	La moelle osseuse	11
16	Structure de la rate	12
17	Structure d'un ganglion lymphatique	12
18	Les tissus lymphoïdes associés aux muqueuses. (MALT)	13
19	Les principaux mécanismes de l'immunité innée et adaptative	14
20	Propolis brute	17
21	Récolte de la propolis	18
22	récolte de la propolis par grattage des cadres	19
23	Quelques plantes source de propolis en Algérie	23
24	Souris blanche (Mus musculus).	36
25	Condition d'élevage des souris.	37
26	Le complément alimentaire « Propolis poudre ».	37
27	Protocole expérimental de l'étude cellulaire et tissulaire	38
28	Traitement par voie orale.	39
29	Sacrifice d'une souris	40
30	prélèvement sanguin	40

31	Le péritoine de la souris après injection du PBS	41
32	La rate sous binoculaire	42
33	Le thymus sous binoculaire	43
34	Les cassettes histologiques	44
35	L'automate de circulation	44
36	Appareil d'enrobage des moules	44
37	Plaque refroidissante	44
38	Un microtome	45
39	Une plaque chauffante	45
40	Un plateau de lames prêtes à être lu sous microscope	45
41	Protocole expérimentale du test de l'évaluation de l'activité anti inflammatoire du complément alimentaire	46
42	Injection du formol dans la voute plantaire da la souris	47
43	Injection du Diclofenac par voie IP	47
44	La mesure de l'évolution de l'œdème par le Pied à coulisse	47
45	Variation du poids corporel des souris	48
46	Variation du poids des organes lymphoïdes	49

47	Variation du nombre de thymocytes et de splénocytes	51
48	Variation du nombre des macrophages péritonéaux	52
49	Evolution de l'œdème suite à l'injection du formol	57
50	Coupes histologiques du thymus	60
51	Coupes histologiques de la rate	61
52	Coupes histologiques des poumons	62
53	Coupes histologiques du foie	63
54	Coupes histologiques de l'estomac	64

Liste des tableaux

Tableau	Titre	Page
01	La composition analytique de la propolis	22
02	L'effet de la propolis sur la Formule Numérique Sanguine	50
03	Effet du complément étudié sur l'œdème de la patte de la souris	52

Table des matières

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction.....1

Partie I : revue bibliographique

Chapitre I

I.	Le système immunitaire.....	3
II.	Les composants du système immunitaire.....	3
II.1	Les cellules immunitaires.....	3
II.1.1	La lignée myéloïde.....	3
A.	Les polynucléaires.....	3
•	Neutrophile.....	4
•	Basophile.....	4
•	Eosinophiles.....	4
B.	Les monocytes/macrophages.....	5
C.	Les cellules dendritiques (CD).....	5
D.	Les cellules dendritique folliculaire.....	6
II.1.2	La lignée lymphoïde.....	6
A.	Les lymphocytes B.....	6
B.	Les lymphocytes T.....	7
C.	Les cellules NK.....	8
III.	Les substances solubles.....	9
A.	Les immunoglobulines.....	9
B.	Le système de complément.....	10
C.	Les cytokines.....	10
IV.	Les organes lymphoïdes.....	11
IV.1.	Les organes lymphoïdes primaires.....	12
•	Le thymus.....	12
•	La moelle osseuse.....	12
IV.2.	Les organes lymphoïdes secondaires.....	13
•	La rate.....	13
•	Les ganglions lymphatiques.....	13
•	Le tissu lymphoïde associé à la muqueuse.....	13

V.	Fonctionnement du système immunitaire.....	13
V.1.	Les mécanismes de l'immunité innée.....	13
V.2.	Les mécanismes de l'immunité adaptative.....	14

Chapitre II

I.	Définition de l'apithérapie	15
II.	Intérêt de l'apithérapie.....	15
III.	Les formes apithérapeutiques.....	15
IV.	Définition du complément alimentaire.....	16
V.	Généralités sur la propolis.....	16
V.1.	Définition de la propolis.....	16
V.2.	Histoire de la propolis.....	17
V.3.	Provenance de la propolis.....	18
V.4.	La récolte de la propolis.....	18
V.4.1.	La récolte de la propolis par les abeilles.....	18
V.4.2.	La récolte de la propolis par l'homme (apiculteur).....	19
V.5.	Utilisation de la propolis.....	19
V.5.1.	Utilisation de la propolis par l'abeille.....	20
V.5.2.	Utilisation de la propolis par l'homme.....	20
	• Médecine.....	20
	• Cosmétique	20
	• Technologie alimentaire	21
V.6.	Les caractéristiques physico-chimiques de la propolis	21
V.6.1.	Les propriétés physiques de la propolis.....	21
A.	Les caractéristiques organoleptiques.....	21
	• Couleur.....	21
	• Saveur.....	21
	• Odeur.....	21
B.	Les propriétés chimique.....	21
	• La consistance.....	21
	• La densité.....	21

V.7. La composition analytique de la propolis.....	22
V.8. La propolis algérienne	22
V. 8.1. Provenance.....	22
V.8.2. Composition.....	24

Chapitre III

I. Les concepts fondamentaux de l'immunomodulation.....	25
II. L'immunothérapie.....	25
II.1. L'immunostimulation.....	25
II.2. L'immunosuppression.....	25
III. Les effets thérapeutiques de la propolis.....	26
III.1. Les activités de la propolis sur l'immunité.....	26
• Activité immunomodulatrice.....	26
• Activité anti-inflammatoire.....	27
• Activité anti-carcinogène	27
III.2. Autres activités.....	28
• Activité anti-infectieuse	28
• Activité antibactérienne	28
• Activité antifongique	29
• Activité antivirale	29
• Activité antiparasitaire.....	29
• Activité cicatrisante.....	29
• Activité anti-oxydante	30
• Activité protectrice sur les voies digestives	30
• Activité anesthésiante.....	30
IV. Les effets indésirables et toxicité.....	31
Partie II étude expérimentale	
I. Matériel et méthodes	32
I.1. Le modèle expérimental.....	32

I.2. Conditions d'élevage.....	32
I.3. Le complément alimentaire.....	33
II. Méthodes	34
II.1. Protocole expérimental.....	34
II.2. Traitement des souris	35
II.3. Prélèvement sanguins.....	36
II.4. Isolement des macrophages péritonéaux.....	36
II.5. Prélèvement des organes lymphoïdes	37
II.6. Isolement des splénocytes.....	38
II.7. Isolement des thymocytes.....	38
II.8. Etude histologique.....	39
1. Fixation et incubation.....	39
2. Enrobage et confection des coupes.....	40
3. Coloration et montage des coupes.....	41
II.9. Test de l'effet anti-inflammatoire du complément.....	42
II.10. Etude statistique	43
III. Résultats et discussion.....	44
III.1. Variation du poids corporelle.....	44
III.2. Variation du poids des organes lymphoïdes.....	45
IV. Variation du nombre des thymocytes et splénocytes.....	46
V. Variation du nombre des macrophages péritonéaux.....	48
VI. L'effet du traitement sur la formule numération sanguine (FNS).....	49
VII. L'effet du traitement sur l'activité anti-inflammatoire.....	51
VIII. L'effet du traitement sur la structure histologique des différents organes.....	53
VIII.1. Thymus.....	53
VIII.2. Rate.....	54
VIII.3. Poumons.....	54

VIII.4. Foie.....	54
VIII.5 Estomac.....	55
Conclusion et perspectives.....	56
Résumés	
Abstract	
ملخص	
Références bibliographiques	
Annexes.	

Introduction

Introduction

Depuis plus de 10 ans, une nouvelle tendance s'est apparue dans les pays industrialisés, le complément alimentaire. Pour certains ce dernier est considéré comme une solution miracle ou un mode de vie. La naissance de ce nouveau marché est partie du principe que le mode d'alimentation actuel ne couvre pas les apports en nutriments essentiels. Alors, ces suppléments de l'alimentation ont un grand succès, hommes et femmes de tout âge y sont adeptes (Alexandre, 2012)

Le marché des compléments alimentaires est en nette progression dans le monde et en Algérie, où il évolue sans aucun contrôle ni réglementation [16].

Nombreux sont les patients en quête d'une médecine plus traditionnelle utilisant les produits issus de la nature comme source thérapeutique. L'apithérapie correspond à l'utilisation des produits récoltés, transformés ou sécrétés par l'abeille tel que : la propolis, le pollen, le miel, la gelée royale et le venin. Ce sont des produits essentiels pour les thérapeutiques de 'terrain'. De plus, il a été scientifiquement prouvé que tous les produits de la ruche sont très bénéfiques pour l'Homme (Donadieu, 2006).

La propolis est une substance naturelle de consistance résineuse récoltée par les abeilles ouvrières sur les bourgeons et l'écorce de certains arbres. Selon ses origines botaniques, elle varie d'une couleur jaune clair au brun très foncé presque noir.

La propolis est un produit précieux de la ruche à cause de ses propriétés antibiotiques, antivirales, antifongiques (Sauvager, 2014), anti oxydantes (Sheng *et al.*, 2007), anti cancérogènes (Kamazawa *et al.*, 2004) et thérapeutiques liée à sa composition riche en polyphénol et flavonoïdes (Segueni, 2011). Pour cela la propolis est extensivement utilisée dans l'industrie alimentaire, la médecine, cosmétologie et en médecine vétérinaire (Tosi *et al.*, 2006).

Dans ce mémoire, nous allons tenter de prouver l'effet d'un complément alimentaire local composé uniquement d'un extrait éthanolique de propolis en poudre sur le système immunitaire au niveau cellulaire et tissulaire ainsi que son effet anti-inflammatoire.

Ce travail est structuré en 2 parties, une partie bibliographique suivie d'une autre expérimentale.

La première partie comprend trois chapitres :

- Le premier chapitre consiste à décrire le système immunitaire, ses composants et son fonctionnement.
- Le deuxième chapitre décrit le complément alimentaire, la propolis, son origine et ses différents composants.
- Le troisième chapitre explique les effets de la propolis sur le système immunitaire.

La deuxième partie expérimentale décrit le matériel utilisé, les méthodes suivies et se poursuit par une discussion des résultats obtenus.

Partie I : Revue bibliographique

Chapitre I

I. Le système immunitaire

Au bout de 400 millions d'années, l'évolution nous a permis de développer un réseau dynamique et compliqué de cellules, molécules, et de diverses voies représentant le système immunitaire. En lui permettant d'acquérir un puissant arsenal d'armes défensives hautement différencié et adaptable, afin de protéger l'organisme contre les attaques continues intérieures et extérieures des envahisseurs potentiels à savoir les matières étrangères et toxiques, les cellules malignes et les micro-organismes (virus, champignon, bactérie et parasite) qui cherchent à pénétrer dans notre corps, milieu idéal pour leur développement et leur reproduction et à tirer profit de sa source nutritive (Burmester *et al.*, 2000).

II. Les composants du système immunitaire

II.1. Les cellules immunitaires

Toutes les cellules immunitaires proviennent des cellules souches, ces dernières sont définies par deux particularités : la capacité de se régénérer ou de s'auto-renouveler et la capacité de se différencier en divers types cellulaires.

D'abord les cellules souches se transforment en précurseurs de lignée myéloïde et en précurseurs de lignée lymphoïde (Owen *et al.*, 2014).

II.1.1. La lignée myéloïde

Toutes les cellules du sang se développent à partir des cellules pluripotentes de la moelle osseuse appelé «cellule souche hématopoïétique» capable de s'auto renouveler et de donner naissance aux différents types cellulaires.

Le progéniteur myéloïde rassemble les globules rouges (érythrocytes), les plaquettes (thrombocytes) et les cellules phagocytaires qui ont une fonction de **cellules présentatrices d'Antigènes professionnelles (CPA)**.

La phagocytose est partagée entre : les macrophages (polynucléaires), les macrophages (monocytes sanguins) et les cellules dendritiques (Owen *et al.*, 2014).

A. Les polynucléaires

Ils représentent la première ligne d'attaque au cours d'une réponse immunitaire, il en existe trois catégories :

- **Neutrophiles** : représentent 65% des leucocytes du sang et 99% des granulocytes. Ils ont un noyau lobé et possèdent de petites granules qui peuvent être exocytés afin de limiter l'inflammation à l'endroit de l'infection, ils se trouvent ainsi sur la première ligne de la défense innée où ils exercent leur activité phagocytaire et microbicide (Parham, 2003) (fig.1).

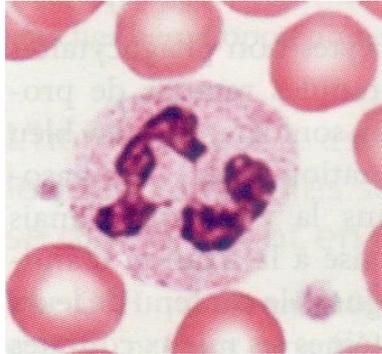


Fig.1 : Neutrophile.

- **Basophiles** : représentent 1% des leucocytes du sang. Ils ont un noyau diffus et de grosses granules pourpres contenant de l'Histamine qui une fois déversé, attire les autres globules blancs et active la réaction inflammatoire. Ils interviennent dans les réactions allergiques (Owen *et al.*, 2014) (fig.2).

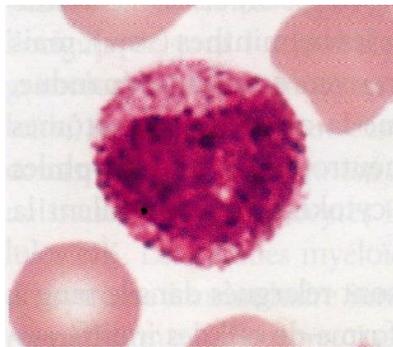


Fig.2 : Basophile.

- **Eosinophiles** : Ils ont un noyau lobé, granulations rouges ou jaunes. Ils s'attaquent aux parasites de l'organisme sans les phagocyter ; ils se fixent dessus, déversent leurs granules qui contiennent des enzymes destinés à les détruire. Ces dernières peuvent également limiter l'action de l'histamine des granulocytes basophiles (Male *et al.*, 2007) (fig.3).

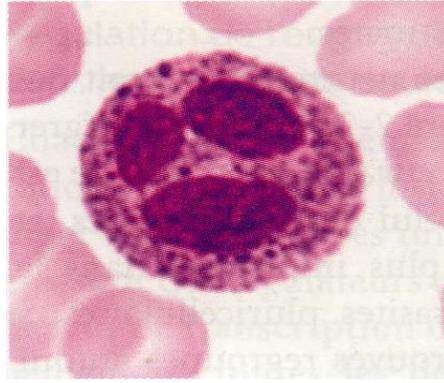


Fig.3 : Eosinophile.

B. Les monocytes / macrophages

Lorsque les monocytes (fig.4) migrent du sang dans un tissu, ils se différencient en macrophages tissulaire (fig.5). Ces derniers, phagocytent les particules étrangères et les détruisent grâce aux puissants enzymes qu'ils renferment dans leurs cytoplasmes tout en conservant certains de leurs composants chimiques antigéniques, les exprimés à la surface de leurs membranes pour que les lymphocytes puissent les détecter. Les macrophages font partie des cellules présentatrices d'antigène (Owen *et al.*, 2014).

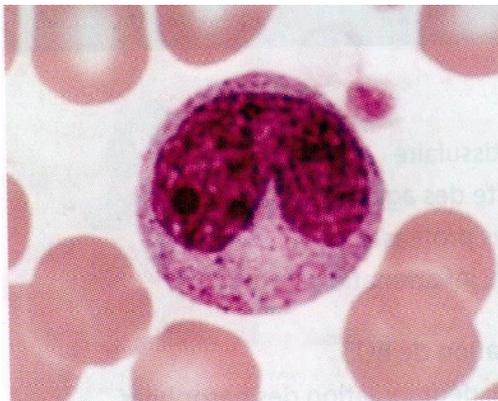


Fig.4 : Monocyte.

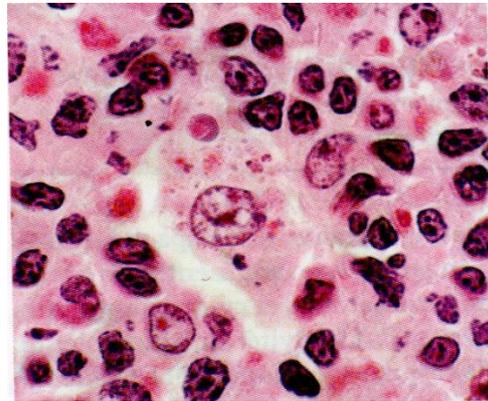


Fig.5 : Macrophage.

C. Les cellules dendritiques (CD)

Elles jouent un rôle primordial dans l'initiation d'une réponse immunitaire et tirent leurs noms de leurs longues extensions membranaires ressemblant aux dendrites des cellules nerveuses. Elles représentent 0.5% des cellules mononuclées du sang, elles réalisent la

fonction distincte de capture de l'antigène dans un site et de présentation antigénique dans un autre, elles sont trouvées pratiquement dans tous les organes (Owen *et al.*, 2014) (fig.6).

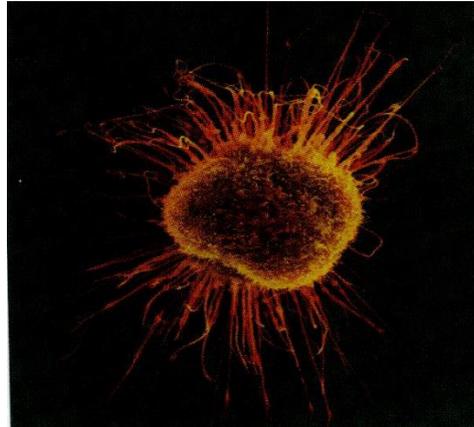


Fig.6 : Cellule dendritique.

D. Les cellules dendritiques folliculaires

Ces cellules tirent leur nom de leur localisation exclusive au sein des follicules lymphoïdes (structures organisées des ganglions lymphatiques) qui sont enrichis de lymphocytes B.

Elles ne possèdent pas des fonctions de capture ni de présentation antigénique, leur interaction avec les cellules B est une étape importante dans la maturation et différenciation des cellules B (Owen *et al.*, 2014).

II.1.1. La lignée lymphoïde

Un progéniteur commun donnant naissance à deux types majeurs de lymphocytes : LB et LT ainsi que les cellules NK.

A. Les lymphocytes B

Le B vient de « bonne marron » qui signifie « moelle osseuse » en anglais qui désigne l'organe où les lymphocytes B achèvent leur maturation. Responsable de la réponse immunitaire humorale, chaque lymphocyte B mature porte à sa surface sous la forme d'un complexe : le récepteur des cellules B (BCR) pour un antigène soluble ou particulaire. Une fois stimulés, ces lymphocytes B peuvent se différencier en plasmocytes (fig.7) qui sécrètent un grand nombre d'immunoglobulines (AC) identiques et spécifiques à l'Ag en cause ainsi que des cellules LB mémoires (Male, 2005).

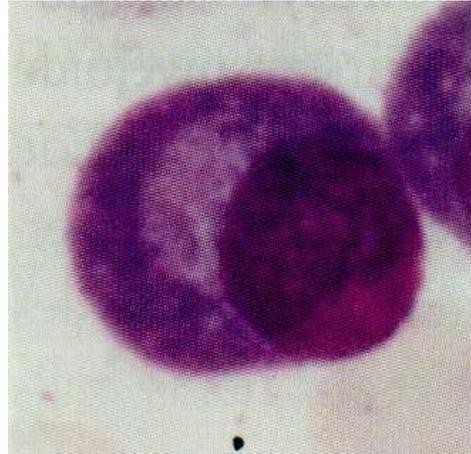


Fig.7 : Plasmocyte.

B. Les lymphocytes T

Tirent leur appellation de leur site de maturation qui est le thymus. Un lymphocyte T (fig.8) exprime un récepteur unique de liaison à l'antigène appelé récepteur de cellule T pouvant reconnaître que des morceaux d'antigènes (souvent des peptides) apprêtés et associés à des protéines membranaires appelées molécules du **complexe majeur d'histocompatibilité (CMH)**, ce qui permet à ces cellules de présenter à leurs surfaces des antigènes (Ag) provenant de l'intérieur des cellules de l'hôte (Owen *et al.*, 2014).

Les lymphocytes T sont répartis en deux populations responsables de la réponse immunitaire du type cellulaire : **les lymphocytes TCD4 auxiliaires ou T helper (Th)** qui sont spécialisés dans la sécrétion de cytokines (interleukines) pour coopérer avec d'autres cellules qui sont chargé de l'élimination de l'antigène.

Et les **lymphocytes TCD8 cytotoxiques (Tc)** capable de tuer les cellules étrangères cancéreuses ou cellules infectées par un virus (Bourillon *et al.*, 2013).

Ils se distinguent respectivement les unes des autres par la présence à leur surface des glycoprotéines membranaires CD4 ou CD8 (Owen *et al.*, 2014).

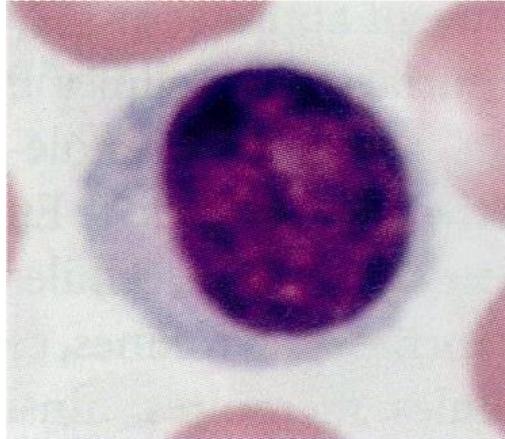


Fig.8 : Lymphocyte T.

C. Les cellules NK

Autrefois appelées « grands lymphocytes granuleux » suite à la présence des granules cytotoxiques, elles constituent 5% à 10% des lymphocytes dans le sang périphérique chez l'homme, proviennent du même précurseur des cellules T et deviennent matures dans la moelle osseuse. Ce sont des cellules tueuses très efficaces qui attaquent une grande variété de cellules anormales, y compris certaines cellules tumorales et certaines cellules infectées par des virus (Owen *et al.*, 2014) (fig.9).



Fig.9 : Cellule NK.

On peut également ajouter un autre type de cellules immunitaire, **les mastocytes** (fig. 10) qui sont localisés dans la plupart des organes à l'exception du cerveau .Ils contiennent des granules riches en substances telles que l'héparine , l'histamine , la sérotonine ainsi que de nombreuses enzymes , ces éléments sont libérés dans le sang lors d'une réaction antigène-

anticorp en stimulant la vasomotricité , activant d'autres cellules du système immunitaire ou en participant à la coagulation sanguine. Interviennent dans le phénomène d'inflammation et responsables de l'allergie par la libération de l'histamine (Bourillon *et al.*, 2013).

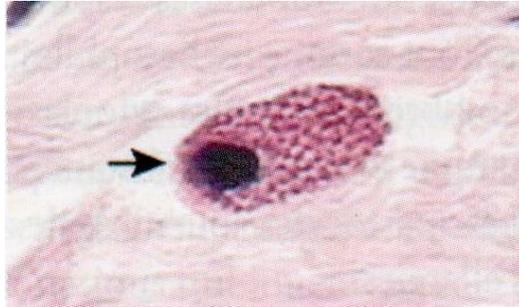


Fig.10 : Mastocyte.

III. Les substances solubles

Il existe différents types de substances solubles, parmi ces dernières :

A. Les immunoglobulines

Ils sont exprimés à la surface de la cellule B mature comme des récepteurs de l'antigène (Burmester et Pezzutto, 2000) (fig.11). Et produits sous forme de protéines du sérum sanguin par les plasmocytes suite à l'introduction d'une substance étrangère dans l'organisme nommée : antigène (Bourillon *et al.*, 2013) (fig.12).

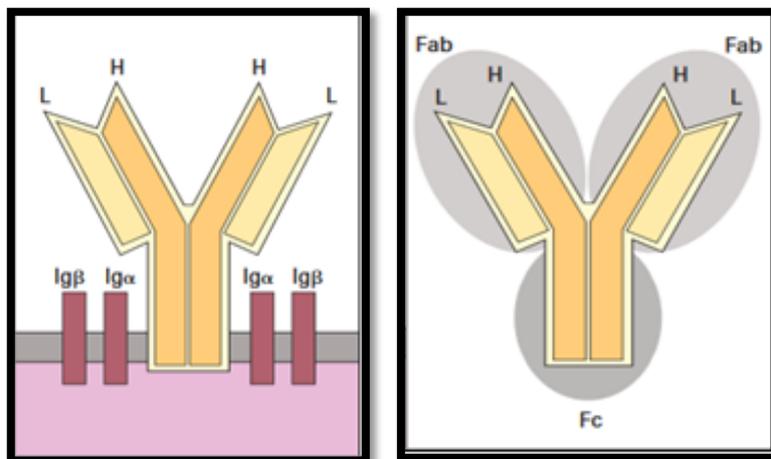


Fig.11 : Un récepteur de surface. Fig.12 : Un anticorps sécrété.

B. Le système de complément

Il est constitué d'un ensemble de protéines sériques (environ 20 protéines), activées après leur liaison aux complexes antigènes - anticorps. Il intervient dans la destruction des agents infectieux dans l'homéostasie cellulaire, dans le contrôle de la réponse inflammatoire et la modulation de la réponse immune spécifique (Chatenoude et Bach, 2012).

C. Les Cytokines

Ce sont des molécules sécrétées par un grand nombre de cellules, en particulier les lymphocytes et les macrophages et impliqués dans le développement et la régulation des réponses immunitaires (Abbas et Lichtman, 2013).

IV. Les organes lymphoïdes

Ce sont des tissus organisés où les lymphocytes interagissent avec les cellules non-lymphoïdes qui jouent un rôle important à la fois à leur maturation et leur activation. On les divise en : **Organes lymphoïdes centraux (primaire)** dans lesquels les lymphocytes sont formés et **les organes lymphoïdes périphériques (secondaire)** où les réponses immunes sont engagées (Lydyard *et al.*, 2002) (fig. 13).

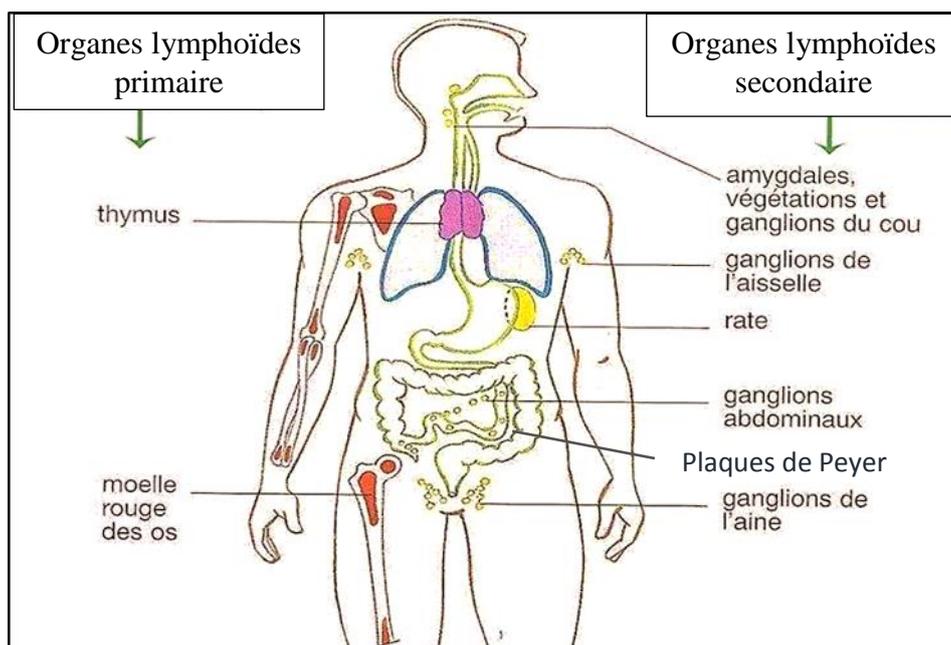


Fig.13 : Les organes lymphoïdes.

IV.1. Les organes lymphoïdes primaires

- **Le thymus**

C'est un organe essentiel de la différenciation et de la maturation fonctionnelle des lymphocytes T (Burmester *et al.*, 2000). Il est formé de deux lobes entourés d'une fine capsule de tissu conjonctif dont chacun comprend un cortex et une zone médullaire (Male, 2005) (fig.14).

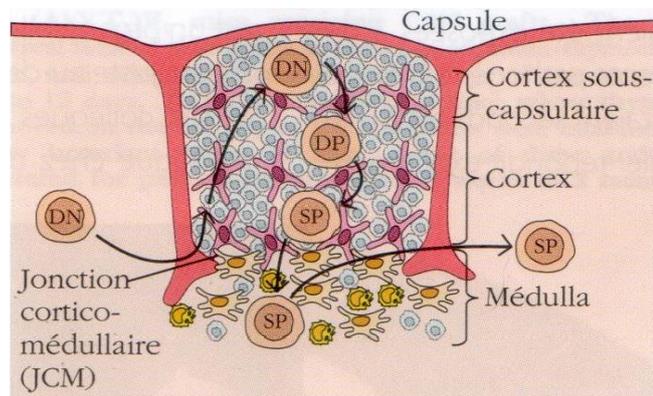


Fig. 14 : Le thymus.

- **La moelle osseuse (moelle hématopoïétique)**

Un tissu présent dans les os, responsable de la production de tous les éléments figurés du sang (Bourillon *et al.*, 2013). Elle constitue le site de différenciation des lymphocytes B (chatenoud et Bach, 2012). Par ailleurs, la moelle osseuse est le principal tissu contenant les plasmocytes qui synthétisent les immunoglobulines (Revillard, 2001) (fig.15).

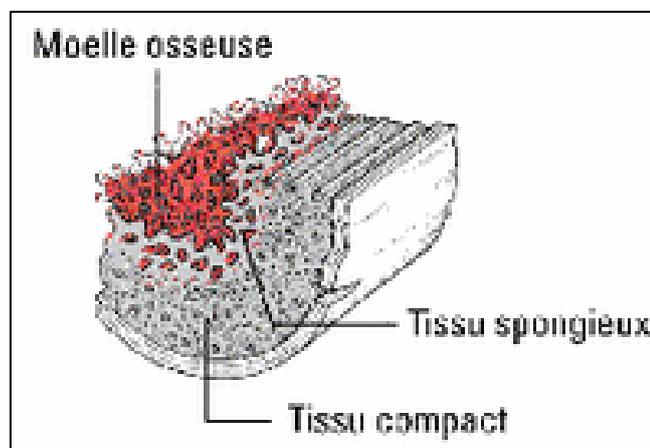


Fig. 15 : La moelle osseuse.

IV.2. Les organes lymphoïdes secondaires

- **La rate**

C'est l'organe lymphoïde le plus grand (environ 200g), elle est composée de deux types de tissus : la pulpe blanche et la pulpe rouge. La pulpe blanche est composée de lymphocytes, alors que la pulpe rouge ressemble à une éponge pleine d'érythrocytes et est le lieu de l'élimination des érythrocytes vétustés ou abimés (Burmester *et al.*, 2000) (fig.16).

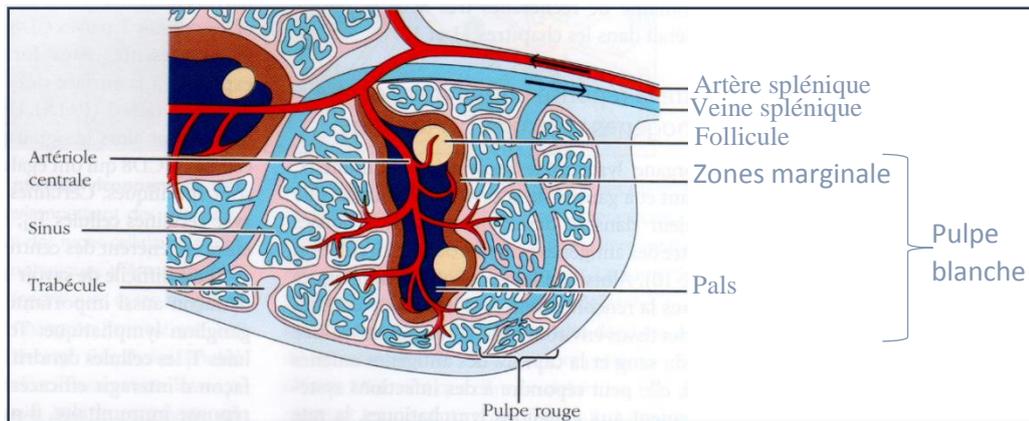


Fig.16 : Structure de la rate.

- **Les ganglions lymphatiques**

Ce sont des agrégats nodulaires de tissu lymphoïdes situés le long des voies lymphatiques qui traversent l'organisme (Abbas et Lichtman, 2013). Et ayant une double fonction d'exclusion de pathogènes et de sites de développement des réponses immunitaire spécifiques (Revillard, 2001) (fig.17).

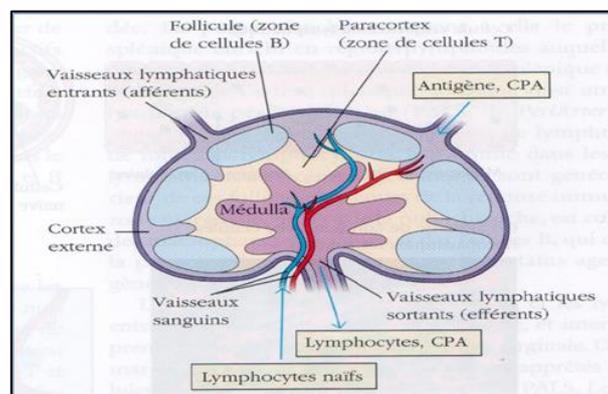


Fig.17 : La structure d'un ganglion

- **Le tissu lymphoïde associé à la muqueuse**

Se trouve associé aux multiples couches tissulaires du tractus gastro-Intestinal (MALT) et des voies respiratoires (BALT).

Les MALT comprennent les amygdales, les plaques de Peyer (dans l'intestin grêle) et l'appendice, ainsi que de nombreux follicules lymphoïdes présents dans la lamina propria de l'intestin et dans les couches cellulaires des muqueuses tapissant les voies respiratoires supérieures, et le tractus génito-urinaire (Owen *et al.*, 2014). L'importance fonctionnelle des MALT dans la défense de l'organisme est prouvée par sa grande population de plasmocytes producteurs d'anticorps (fig.18) (Kindt *et al.*, 2007).

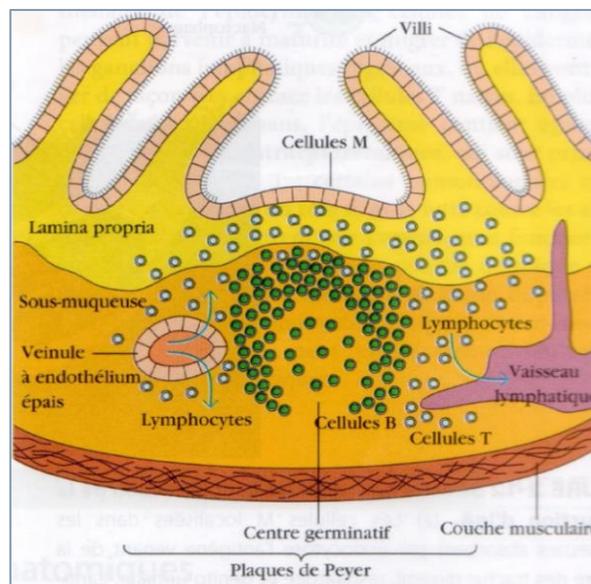


Fig.18 : Les tissus lymphoïdes associés aux muqueuses. (MALT)

V. Fonctionnement du système immunitaire

Pour assurer sa protection, l'organisme possède deux types de mécanismes de défense :

V.1. Les mécanismes de l'immunité innée

Assurent la défense initiale contre les infections. Certains des mécanismes empêchent les infections (ex : les barrières épithéliales), tandis que d'autres éliminent les microbes (ex : les phagocytes, les cellules NK et le système du complément). Ils entrent en action rapidement mais ne sont pas spécifique à un agresseur en particulier (Abbas *et al.*, 2013).

V.2. Les mécanismes de l'immunité adaptative

Se développent plus tardivement lorsque l'agent pathogène réussit à déjouer les défenses naturelles non spécifiques [1] et sont assurées par les lymphocytes et leurs produits. Les anticorps bloquent les infections et éliminent les microbes (réponse immunitaire humorale), les lymphocytes T éliminent les microbes intracellulaires (réponse immunitaire cellulaire).

Ces mécanismes sont spécifiques et dotés d'une mémoire (Abbas *et al.*, 2013), ces deux réponses sont intimement liées [1] suite aux messagers chimiques (*Cytokine*) de la communication intercellulaire [2].

Les cinétiques des réponses immunitaires naturelles et adaptatives sont des approximations et peuvent varier en fonction des infections (fig.19) (Abbas *et al.*, 2013).

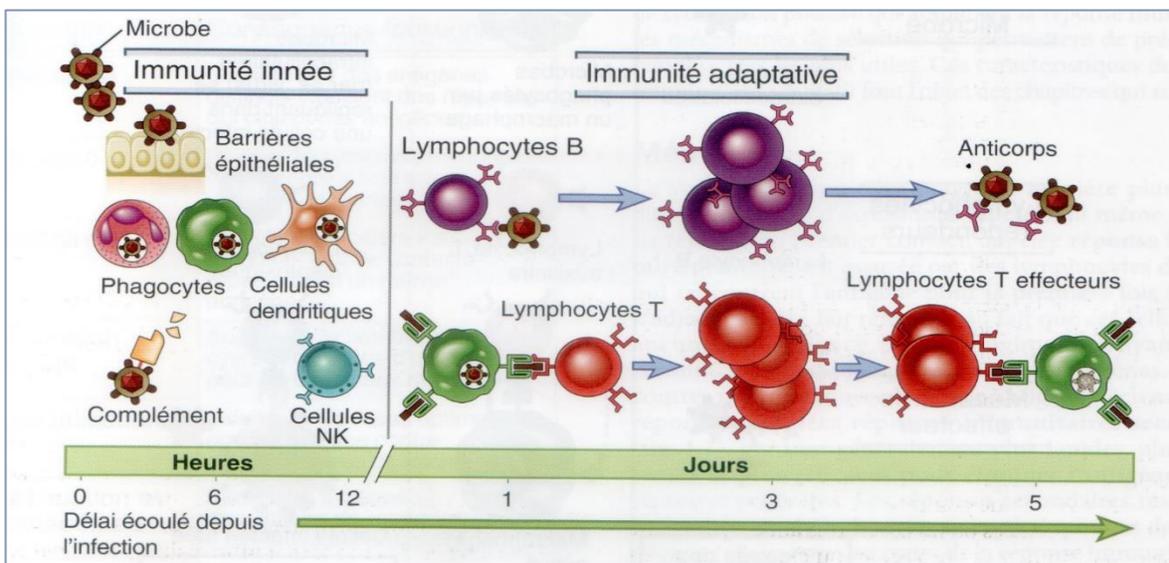


Fig.19 : Les principaux mécanismes de l'immunité innée et adaptative.

Chapitre II

I. Définition de l'apithérapie

Selon la fédération international des associations apicoles ,l'apithérapie est un concept médical, basé sur des appuis scientifiques corroborant des connaissances traditionnelles comprenant des procédures et standards de production apicole à destination médicales ainsi que des procédures de transformation des produits de la ruche , seuls ou en association avec les plantes médicinales (Api-pharmacopée) en intégrant cette dernière dans des protocoles cliniques. En effet, il a été scientifiquement démontré que tous les produits de la ruche peuvent s'avérer très bénéfiques pour la santé de l'Homme (Donadieu, 2006) [11].

II. Intérêt de l'apithérapie

Compte tenu de son très grand champ d'application, à la fois préventif et curatif, de sa grande efficacité dans de nombreuses indications, de sa facilité de mise en œuvre, de son faible coût, de sa parfaite innocuité et de l'absence des effets secondaires, de contre-indications ou d'incompatibilités (en dehors du venin d'abeille qui implique des règles d'emploi extrêmement précises sous une surveillance médicale rigoureuse), l'utilisation médicale des produits de la ruche représente une possibilité thérapeutique de premier plan qui ne demande qu'à être mieux connue et d'avantage recommandée (Donadieu,2003) [12].

III. Les formes apithérapeutiques

Les produits de la ruche sont commercialisés seuls sous forme de **complément alimentaire** Bio (naturel) en gélules, sirop, spray, gommes, pastilles, crèmes, poudre [13] [14] ou en association avec des plantes médicinales (Api-pharmacopée). Sous un programme diététique tout en indiquant la posologie, le mode d'administration ainsi que la durée du traitement.

Sauf le venin, ce dernier suit une autre forme apithérapeutique nommée : apipuncture qui combine le traitement au venin d'abeille et l'acupuncture [15].

IV. Définition du complément alimentaire

Un complément alimentaire est un produit alimentaire dont le but est de compléter le régime alimentaire normal et qui constitue une source concentrée de nutriments ou d'autres substances ayant un effet nutritionnel ou physiologique seuls ou combinés.

Il est commercialisé sous forme de doses, à savoir les formes de présentation telles que les gélules, les pastilles, les comprimés, les pilules et autres formes similaires, ainsi que les sachets de poudre, les ampoules de liquide, les flacons munis de compte-gouttes et les autres formes analogues de préparations liquides ou en poudre destinées à être prises en unités mesurées de faible quantité (Touvier, 2006).

Le consommateur a eu le sentiment de devenir un « expert » de sa santé, en s'appuyant sur les diverses informations disponible sur internet. Cette prise en charge a permis au marché des compléments alimentaires de connaître une forte croissance (Mylle, 2012).

V. Généralités sur la propolis

V.1. Définition de la propolis

La propolis est un produit apicole complexe, il contient des résines, des baumes, des huiles essentielles, de la cire, du pollen et des sécrétions salivaires (Derevici *et al.*, 1966). Elle est recueillie par les abeilles à partir de plantes variées telles que les peupliers, bouleaux, saules, conifères...etc. Elle est employée par les abeilles pour sceller les trous et protéger l'entrée contre les intrus. Elles se servent aussi de cette substance pour momifier les petits rongeurs morts à l'intérieur de la ruche, comme elles n'ont pas la force de les transporter à l'extérieur, elles les embaument pour éviter leur putréfaction (Jean-Prost et le Conte, 2005).



Fig. 20 : Propolis brute [6].

V.2. Histoire de la propolis

Nommée « cire noir » dans les textes anciens (Blanc, 2010), La propolis a été utilisée empiriquement pendant des siècles et il a toujours été mentionné comme un agent immunomodulateur (Sforcin, 2007).

Le mot « Propolis » est d'origine grecque et il signifie 'pro' – en avant et 'polis' – cité, en se référant aux observations des apiculteurs qui voyaient cette résine à l'entrée de la ruche « devant la cité ». Son étymologie viendrait aussi du verbe latin *propolire* qui signifie « enduire ». En effet l'abeille enduit l'intérieur de son habitat de cette résine pour se protéger des agressions microbiennes (Castaldo et Capasso. 2002).

Egyptiens, Grecs, Romains, Mayas utilisaient les produits issus de la ruche à des fins préventives, curatives et alimentaires (Cuvillier, 2015). La propolis est aussi mentionnée dans le Coran : « 68. [Et voilà] ce que ton Seigneur révéla aux abeilles : Prenez des demeures dans les montagnes, les arbres, et les treillages que [les hommes] font. 69. Puis mangez de toute espèce de fruits, et suivez les sentiers de votre Seigneur, rendus faciles pour vous. De leur ventre, sort une liqueur, aux couleurs variées, dans laquelle il y a une guérison pour les gens. Il y a vraiment là une preuve pour des gens qui réfléchissent » .

(*Sourat An Nahl*).

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 (Aosan, 2015).

A la fin du XIX Siècle, la propolis était en plein essor grâce à ses vertus anti-infectieuses, cicatrisantes et anti-inflammatoire. On pouvait la trouver sous formes variées de pommade, d'emplâtre de lotion ou de gaz (Cuvillier, 2015).

V.3. Provenance de la propolis

La propolis est un complexe d'une série de substances résineuses gommeuses. Elle est recueillie principalement par les abeilles à partir des plantes, arbres et des bourgeons d'arbres (Banskota *et al.*, 2001).

Il est bien connu que dans les régions de climat tempéré. Les abeilles récoltent ses précieuses substances sur les bourgeons de Peupliers, les Bouleaux, les Aulnes, les Marronniers d'Inde ...etc (Bankova *et al.*, 2000).

La provenance de la propolis dépend de la région, de la flore botanique qui se situe à proximité immédiate des ruches et aussi aux préférences de l'abeille (Banskota *et al.*, 2001).

V.4. La récolte de la propolis

V. 4.1. La récolte de la propolis par les abeilles

La propolis est récoltée pas les abeilles sur les bourgeons et les écorces de différents arbres et arbustes (Aosan, 2015). Les ouvrières butineuses localisent la source de résine et triturent celle-ci avec leurs mandibules, les mélangent à d'autres substances de leurs propres sécrétions afin de fabriquer de la propolis. Une fois fabriquée, la propolis est transportée à la ruche dans les corbicules (ou corbeilles) situées dans les pattes postérieures de l'abeille (Philippe, 1994).



Fig.20 : Récolte de la propolis [7].

Une étude chimique rigoureuse menée à l'extrême a montré qu'il n'existe pas deux échantillons absolument identiques de propolis. Récoltés à la même période sur la même ruche du même apiculteur, ils diffèrent. Ainsi, des résultats différents apparaissent d'un groupe de chercheurs à l'autre, « le secret » consiste en l'intelligence de la nature à adapter constamment ses mécanismes de protection en fonction de l'évolution des agresseurs (Aosan, 2015).

V.4.2 La récolte de la propolis par l'homme (apiculteur)

La propolis peut être récoltée selon des techniques diverses :

- Par raclage et grattage des cadres ou des parois de la ruche, de préférence à une température assez basse, la propolis alors dure et friable, se détachant mieux.
- Par des grilles spécialement conçues à cet effet. Ce procédé donne une propolis de meilleure qualité (Debuyser, 1983).

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



**Fig.21 : Récolte de la propolis par
Grattage des cadres [8].**



**Fig.22 : Récolte de la propolis par des grilles
Spéciales [9].**

V.5. Utilisation de la propolis

V.5.1. Utilisation de la propolis par l'abeille

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

- Assurer une meilleure isolation thermique.
- Obturer les fissures.
- Recouvrir les corps étrangers qu'elle ne peut pas évacuer (Jean-Prost et le conte, 2014).
- Stériliser les alvéoles avant la ponte.
- Réduction de l'entrée de la ruche.
- Réparation des rayons, fissures.
- Aseptisation de la ruche (Sauvager, 2014).

V.5.2 Utilisation de la propolis par l'homme

La propolis est très utilisée dans différents domaines tels que :

- **Médecine**

Plusieurs traitements contiennent de la propolis tels que :

- Les traitements traitant les problèmes cardio-vasculaires.
- Les traitements traitant les infections de l'appareil respiratoire.
- Les soins dentaires.
- Les ulcères.
- Les infections des muqueuses et les lésions.
- Le cancer.
- Soutien et amélioration du système immunitaire (Sforcin, 2007).

- **Cosmétique**

La propolis ainsi que ses extraits ont été largement utilisés dans la dermatologie et la cosmétique grâce à ses vertus indéniables et ses caractéristiques fongicide et bactéricide sur certaines souches de microbes et de champignons. C'est un excellent anesthésique, cicatrisant, anti-inflammatoire et antioxydant [5].

- **Technologie alimentaire**

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

V.6. Les caractéristiques physico-chimiques de la propolis

V.6.1. Les propriétés physiques de la propolis

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

A. Les caractéristiques organoleptiques

- **Couleur** : Elle varie selon sa provenance, allant du jaune claire au brun très foncé, presque noire (brun jaune, brun vert, brun rouge).

- **Saveur** : Souvent amère et âcre.
- **Odeur** : En général, arôme agréable douceâtre, mélangé à celui de miel, de la cire.

Et d'autres produits (vanille, cannelle...). L'odeur varie selon son origine

(Tosi *et al.*, 2006).

B. Les propriétés chimiques

- **La consistance**

La propolis est une substance de consistance variable qui dépend de la température :

15 C° → dure et friable.

30 C° → molle, malléable, collante et gluante.

Le point de fusion varie entre 60 à 70 C° en moyenne mais peut atteindre 100 C° (Krell, 1996).

- **La densité**

Elle est de l'ordre de 1.2 en moyenne (Donadieu, 2008).

V.7. La composition analytique de la propolis

La propolis est récoltée sur une grande variété d'arbres et d'arbustes. Ce qui explique la grande variation de la couleur et de l'odeur de la propolis ainsi que sa composition

(Krell, 1996). De plus, la race de l'abeille a une influence également sur la composition de la propolis générée à travers ses sécrétions hyopharyngiennes qui vont apporter d'autres éléments spécifiques en plus de certaines transformations (hydrolyse des flavonoïdes) (Martos *et al.*, 2008).

Généralement, la propolis brute est composée de : résines et baumes, huiles essentielles, cire, pollen et autres composés organiques et substances minérales diverses

(Pietta *et al.*, 2002).

Selon les méthodes d'analyse modernes comme la chromatographie en phase gazeuse et la spectrométrie de masse, 300 composants différents de la propolis ont été identifiés

(Kumazawa, 2004). La composition analytique des composants de la propolis est illustrée dans le tableau suivant :

Tableau 01 : La composition analytique de la propolis (Pietta, 2002).

Composants de la propolis	Composition analytique	Pourcentage de la quantité
Résine et baumes	Flavonoïdes, acides phénoliques + esters.	45-55 %
Cire	Cire d'abeille et de plantes	25-35%
Huiles essentielles	Anéthol et eugénol +++	10%
Pollen	Protéines	5%
Autres composés organiques et substances minérales diverses	Cétones, lactones, quinone, stéroïdes, acide benzoïque, vitamines A/B, sucres).	5%

V.8. La propolis algérienne

V. 8.1. Provenance

Selon la flore botanique disponible en Algérie, la propolis provient de 5 sources principales :

Le Pin (*Pinus* sp) qui occupe les zones semi arides, le Chêne (chêne liège et chêne zeen) qui se trouve au nord-est du pays, le Châtaignier, le Cyprès (*cupressus* sp), le Peuplier (*Populus* sp).



A : Pinus sp.

B : Chêne liége.

C : Chêne zeen.



D : Châtaignier.

E : Cyprès.

F : Le peuplier.

Fig. 23(A, B, C, D, E, F) : Quelques plantes source de propolis en Algérie [10].

V.8.2. Composition

D'après une étude faite sur la propolis algérienne récoltées dans quatre régions (Tlemcen, Guelma, M'sila, Tizi-Ouzou) on déduit que la propolis algérienne est composée de cinq familles principales (Segueni, 2011) :

(les pourcentages cités concernent la wilaya de Guelma)

- 1- Les acides aliphatiques : 4.90% .
- 2- Les acides aromatiques : 3.60 %.
- 3- Les esters : 9% .
- 4- Les flavonoides : 37.40%.
- 5- Les terpenes : 19.90%.

Chapitre III

I. Les concepts fondamentaux de l'immunomodulation

Le système immunitaire joue un rôle capital dans la défense naturelle, mais son activation excessive ou inappropriée peut avoir des conséquences néfastes pour l'hôte.

La modulation du système immunitaire « immunomodulation » s'applique pour diminuer les réponses excessives ou à l'inverse, à renforcer les réponses insuffisantes de ce système (Labro, 2006) en utilisant des agents thérapeutiques qui peuvent interférer avec ce dernier.

II. L'immunothérapie

L'immunothérapie est un traitement visant à moduler l'activité du système immunitaire (Wainsten, 2014) afin de le réguler d'une manière positive ou négative (Saroj *et al.*, 2012).

Elle se base sur deux concepts fondamentaux :

II.1. L'immunostimulation

Elle consiste à stimuler la réponse immune quand elle est insuffisante en utilisant des immunostimulants tels que les produits bactériens, des composés chimiques comme les cytokines ainsi que les adjuvants (Male, 2005). Où certains traitements naturels composés des principes actifs naturels extraits des plantes médicinales ayant une activité immunostimulante [3], ou des produits de la ruche immunostimulants (comme la propolis) (Blanc, 2010) contenus dans des compléments alimentaires biologiques [4].

II.2. L'immunosuppression

Appeler aussi immunodépression elle consiste à juguler la réponse immune quand elle produit des effets excessifs ou indésirables en les inhibant par l'utilisation des immunosuppresseurs tels que les médicaments immunosuppresseurs (corticoïdes, ciclosporine A) où les anticorps monoclonaux ...etc.

Cependant, l'efficacité des immunosuppresseurs est limitée du fait de leur toxicité mais aussi leurs effets secondaires (Weill et Batteux, 2003).

III. Les effets thérapeutiques de la propolis

La propolis est utilisée par l'Homme sur le plan médical depuis des millénaires. Depuis une cinquantaine d'années, la littérature scientifique a rapporté et confirmé un bon nombre de propriétés thérapeutiques intéressantes de ce produit précieux de la ruche

(Banskota *et al.* 2001).

III.1. Les activités de la propolis sur l'immunité

- **Activité immunomodulatrice**

La propolis possède une activité immunomodulatrice *in vivo* et *in vitro* sur l'ensemble des cellules immunitaire responsables de la réponse immunitaire innée ou acquise qui se traduit par :

- Une stimulation du pouvoir de présentation des macrophages
- Une stimulation du pouvoir lytique des macrophages et des cellules Natural Killer contre les cellules tumorales.
- Une augmentation de la production des cytokines pro-inflammatoires (TNF. α , Il.6, Il.8).
- Un renforcement de la coopération entre les lymphocytes CD4 et CD8 (Orsatti *et al.*, 2010 ; Parck *et al.*, 2004).
- Une stimulation de la production des anticorps par les plasmocytes (Orsi *et al.*, 2000 ; Sforcin, 2007).

D'autres études ont montré que la prise de propolis entraîne une inhibition de la libération de l'histamine chez des patients souffrant d'une rhinite allergique

(Shinmei *et al.*, 2009).

En outre, ils ont constaté que la prise orale quotidienne de la propolis pendant 2 à 3 mois entraînait une diminution du taux des prostaglandines, des leucotriènes et des cytokines pro-inflammatoires et parallèlement une augmentation des cytokines anti-inflammatoire chez des patients asmathiques (Khayyal *et al.*, 2003).

Les traitements anticancéreux comme la chimiothérapie et radiothérapie sont toxiques au niveau de certains organes (foie, cœur, rein, neurones).

Des études *in vitro* et *in vivo* ont montré que selon les propriétés anti oxydantes de la propolis, cette dernière protège les cellules et contribue au mécanisme de réparation de l'ADN et au mécanisme de défense endogène (une forte expression des enzymes anti oxydantes et le maintien du glutathion intracellulaire)

(Alyane *et al.*, 2008 ; Benguedouar *et al.*, 2008 ; Chopra *et al.*,1995).

- **Activité anti-inflammatoire**

L'inflammation ou la réaction inflammatoire est la réponse des tissus vivants, vascularisés à une agression. L'agresseur peut être d'origine physique (radiations, chaleur, traumatisme ...), chimique (toxines, venins, produits chimiques ...), biologique tel que les composés issus de la réaction immunitaire (complexes immuns, anticorps, cytokines ...), quel que soit l'agresseur, la réponse inflammatoire reste la même mais avec des intensités et des durées variables (Zerbato, 2010) [20].

Encore une fois ce sont les flavonoïdes qui jouent le rôle principal dans l'inflammation suite à leur capacité d'inhiber l'action de protéines kinases (protéine kinase C ou encore protéine tyrosine kinase). Alors, ils inhibent la prolifération des lymphocytes T et B, ainsi que la synthèse des prostaglandines. En outre, une stimulation des macrophages sera observée (Borrelli *et al.*, 2002).

D'une autre part, Ils inhibent l'activation de certaines molécules du système immunitaire (IL.6) et l'inhibition de certaines enzymes impliquées dans la voie métabolique de l'inflammation (cyclo-oxygénase, lipo-oxygénase, myeloperoxydase, NADPH-oxydase, ornithine décarboxylase) (Khayyal *et al.*,1993).

Le CAPE (phényléthylique de l'acide caféique) est le plus puissant modulateur du métabolisme de l'acide arachidonique à la base de la synthèse des prostaglandines et leucotriènes pro -inflammatoire

(Rossi *et al.*, 2002). Il inhibe le NFkb et la cyclo-oxygénase (Sauvager, 2014).

- **Activité anti-carcinogène**

L'activité anti-carcinogène est due aux flavonoïdes (dont la quercétine) et a un dérivé de l'acide caféique connu sous le nom CAPE identifié comme un inhibiteur du processus tumoral (Banskota *et al.*, 2002 ; El khawaga *et al.*, 2003 ; Huleihel et Ishano, 2004).

La majorité des cancers dépendent de la voie de signalisation Pka1 pour leur croissance. Des études ont montrés que la propolis était capable d'inhiber cette dernière (Pka1) en modulant l'expression ou l'activité de certaines molécules impliquées dans cette voie de signalisation (Gtpase, Rac)

(Avci *et al.*, 2011; Huang *et al.*, 2007; Szliszka *et al.*., 2009).

L'effet antiprolifératif se résulte d'une restauration du signal d'apoptose par induction des protéines pro-apoptotique (p21, p53) où par inhibition des protéines anti-apoptotiques (Bcl 2, Bc-xl) (Popolo *et al.*, 2011).

L'effet antiprolifératif peut également résulter d'un arrêt du cycle cellulaire en G1 par inhibition des cyclines ou par blocage des récepteurs hormonaux (Weng *et al.*, 2007).

III.2. Autres activités

- **Activité anti-infectieuse**

La propolis présente des propriétés antimicrobiennes (antibactériennes, antifongiques, antivirales, antiparasitaires) (Ghedira *et al.* 2009).

- **Activité antibactérienne**

La propolis est souvent nommée « antibiotique naturel ». Son activité bactéricide est largement documenté et est attribuée essentiellement aux flavonoïdes comme la galangine, à certains acides comme l'acide caféique, férulique, gallique, salicylique, cinnamique et à certaines molécules aromatiques (Ghedira *et al.* 2009).

La propolis inhibe la croissance bactérienne en bloquant la division cellulaire par une désorganisation du cytoplasme, une inhibition de la synthèse protéique, une inhibition du processus d'adhésion (Farooqui T et Fraoqui A., 2010) ou par une destruction de la paroi bactérienne, principalement celle des bactéries à gram positif tels que les staphylococcus aureus, les streptococcus. Ou des bactéries à gram négatif tels que salmonelles, Proteus mirabilis ou Helicobacter pilori, responsable d'ulcère gastroduodéal.

En revanche, on note une faible activité de la propolis sur E. coli et Pseudomonas (Ghedira *et al.*, 2009).

Certaines études ont montrées que des souches résistantes voir multi-résistantes aux antibiotiques étaient sensibles à la propolis (Raghukumar *et al.*, 2010).

- **Activité antifongique**

Grâce à son action immunomodulatrice, la propolis stimule le système immunitaire en favorisant un nombre élevé de macrophages, efficaces contre les affections fongiques.

Les effets antimycosiques de la propolis résultent de l'activité de substances multiples telles que : la Galangine, la pinocembrine et l'acide caféique.

Cette activité s'exerce sur plusieurs espèces de champignons parasites générateurs de mycoses qui sont *Candida albicans*, *Trichophyton rubrum* ou encore *Microsporum canis* (Dobrowolski *et al.*, 1991; Dandiya *et al.*, 1991; Sforcin *et al.*, 2001).

Cette propriété est très importante car elle permet aux cadavres présents dans la ruche dont les abeilles ne peuvent se débarrasser, de ne pas moisir

- **Activité antivirale**

Le pouvoir antiviral de la propolis est dû aux esters du CAPE, ce dernier est l'un des plus puissants agents anti-intégrase de VIH. Elle agit aussi sur les virus du type Herpès, sur les adénovirus ou encore le virus de la grippe (Ghedira *et al.*, 2009 ; Sauvager *et al.* , 1992).

- **Activité antiparasitaire**

La propolis inhibe la croissance du parasite en y empêchant la synthèse protéique et par la en bloquant sa multiplication (Wright et Philipson ,1990).

Elle est efficace pour lutter contre : *Ascaris lumbricoïdes*, Entérovirus vermiculaires, les *Tænia*s, *Trichomonas vaginalis* (un parasite de la cavité vaginale de la femme) contre les amibes ainsi que dans les cas de giardias (Dandiya *et al.*, 1991).

- **Activité cicatrisante**

Grâce à leurs propriétés antioxydantes, les flavonoïdes tendent un piège aux radicaux libres, responsables d'un stress oxydatif qui endommage les cellules (Blanc ,2010).

En outre, la propolis possède un effet stimulant sur le métabolisme cellulaire épidermique, les vaisseaux et la formation du collagène grâce à un phénomène de stimulation fibroblastique pour un renouvellement plus rapide des tissus et une meilleure élasticité

(Almas *et al.*, 2001).

- **Activité anti-oxydante**

L'activité antioxydante de la propolis est corrélée avec sa richesse en polyphénols et en flavonoïdes par inhibition de la lipoperoxydation de l'acide Linoléique. Les flavonoïdes s'opposent ainsi à l'oxydation des lipides et leur transformation en radicaux libres (Gregoris *et al.*, 2009) et le CAPE inhibe la formation de l'anion superoxyde .

Cette propriété est dite dose dépendante, elle agit comme anti-oxydante à faible dose ou comme pro-oxydante à dose élevée. Il est donc nécessaire d'identifier la dose efficace (Sauvager, 2014).

- **Activité protectrice sur les voies digestives**

La propolis inhibe la lipoxgénase et protège la muqueuse gastrique du stress oxydatif ainsi que les spasmes des voies digestives.

Le CAPE réduit la production des cytokines pro-inflammatoire résultant de l'effet des peptidoglycanes – polysaccharide bactérien ce qui atténue les symptômes de la colite (Ghedira, 2009).

Selon Barros et ses collaborateurs en 2007, la propolis possède un effet « protecteur gastrique » ainsi que des propriétés antiulcérogènes des principaux acides phénoliques, caféiques, féruliques, p-coumariques et cinnamiques.

- **Activité anesthésiante**

La propolis avec ses composants est un très puissant anesthésique (3 fois plus que la cocaïne). Cet effet est dû à la pinocembrine, l'acide caféique, huiles volatiles et aux composés des esters de la propolis (Ghisalberti, 1979).

La propolis est largement utilisée comme un anesthésique de contact en chirurgie dentaire, aussi elle remplace la morphine et la cocaïne dans les anesthésies locales.

Suite à son activité immunomodulatrice, elle est indiquée contre les piqûres d'insectes. Ce qui explique la relative immunité des apiculteurs (castaldo et capasso ,2002)

IV. Les effets indésirables et toxicité

Le seul effet indésirable qui peut toucher 1 personne sur 2000 c'est l'allergie à la propolis.

Généralement, ça peut toucher des personnes possédant déjà un terrain allergique notamment aux piqûres d'abeilles.

En raison du contact prolongés avec les produits de la ruche, l'apiculteur peut être sujet aux dermatites. Les allergènes proviennent de l'acide caféique, mais les flavonoïdes bloquent les canaux calciques des mastocytes ce qui empêche la libération de l'histamine responsable des réactions allergiques (Cuvillier ,2015).

La propolis présente plusieurs avantages mais aucun risque de toxicité même à des doses importantes (Aosan ,2015).

Partie II :
Etude expérimentale

Matériel et méthodes

I. Matériel et méthodes

Notre étude a été réalisée en grande partie dans le laboratoire d'immunologie et celui de l'animalerie de l'université 08 Mai 1945 –Guelma, les résultats de la formule de numération sanguine ont été fournis par un laboratoire privé d'analyses médicales de Dr. Benmars. Et les coupes histologiques ont été préparé dans le laboratoire d'anatomopathologie de l'hôpital Ibn Zohr de Guelma et interpréter au sein d'un laboratoire privé d'anatomie et cytologie pathologiques de Dr. Bel gherssa à la wilaya d'Annaba.

I.1. Le modèle expérimental

On a réalisé notre expérience sur un échantillon de 23 souris blanches femelles (*Mus musculus*), provenant de l'institut Pasteur d'Alger. Les souris sont âgées de 04 semaines et ont un poids corporel variant entre 30 et 34g (fig.24).

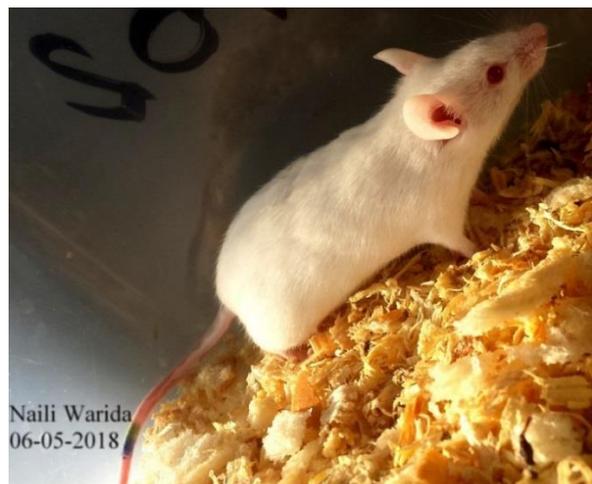


Fig.24 : Souris blanche (*Mus musculus*).

I.2. Conditions d'élevage

Les souris sont hébergées à l'animalerie de l'université 08 Mai 1945 -Guelma, dans des cages en polypropylène tapissées d'une litière constituée de copeaux de bois. Ces cages sont nettoyées un jour sur deux par l'eau et un détergeant (eau de javel).

Les souris sont nourries principalement de miettes de pain rassis et de l'eau présentée dans des biberons (fig.25), ses derniers sont nettoyés un jour sur deux aussi.



Fig.25 : Condition d'élevage des souris.

La salle de l'animalerie dispose une température ambiante, une humidité convenable ainsi qu'une bonne aération.

I.3. Le complément alimentaire

Il s'agit d'un complément alimentaire naturel comme l'indique sa notice, commercialisé sous le nom de « Propolis poudre », dans un flacon de 10g en verre contenant uniquement un extrait ethanologique de la propolis en poudre, sans aucun aditif ni conservateur mentionné sur le conditionnement (fig.26). Ce dernier est très connu par son action stimulante sur le système immunitaire et est utilisé à titre préventif contre les rhumes et les gripes d'hiver ou à titre curatif contre certaines infections notamment contre la maladie du cancer ainsi que d'autres actions citées dans le chapitre précédant. Il peut être administré avec de l'eau, lait ou miel en deux fois par jour (2g/J).



Fig.26 : Le complément alimentaire « Propolis poudre ».

II. Méthodes

II.1. Protocole expérimental

Afin d'accomplir notre travail, on a suivi le protocole expérimental qui se présente comme suit :

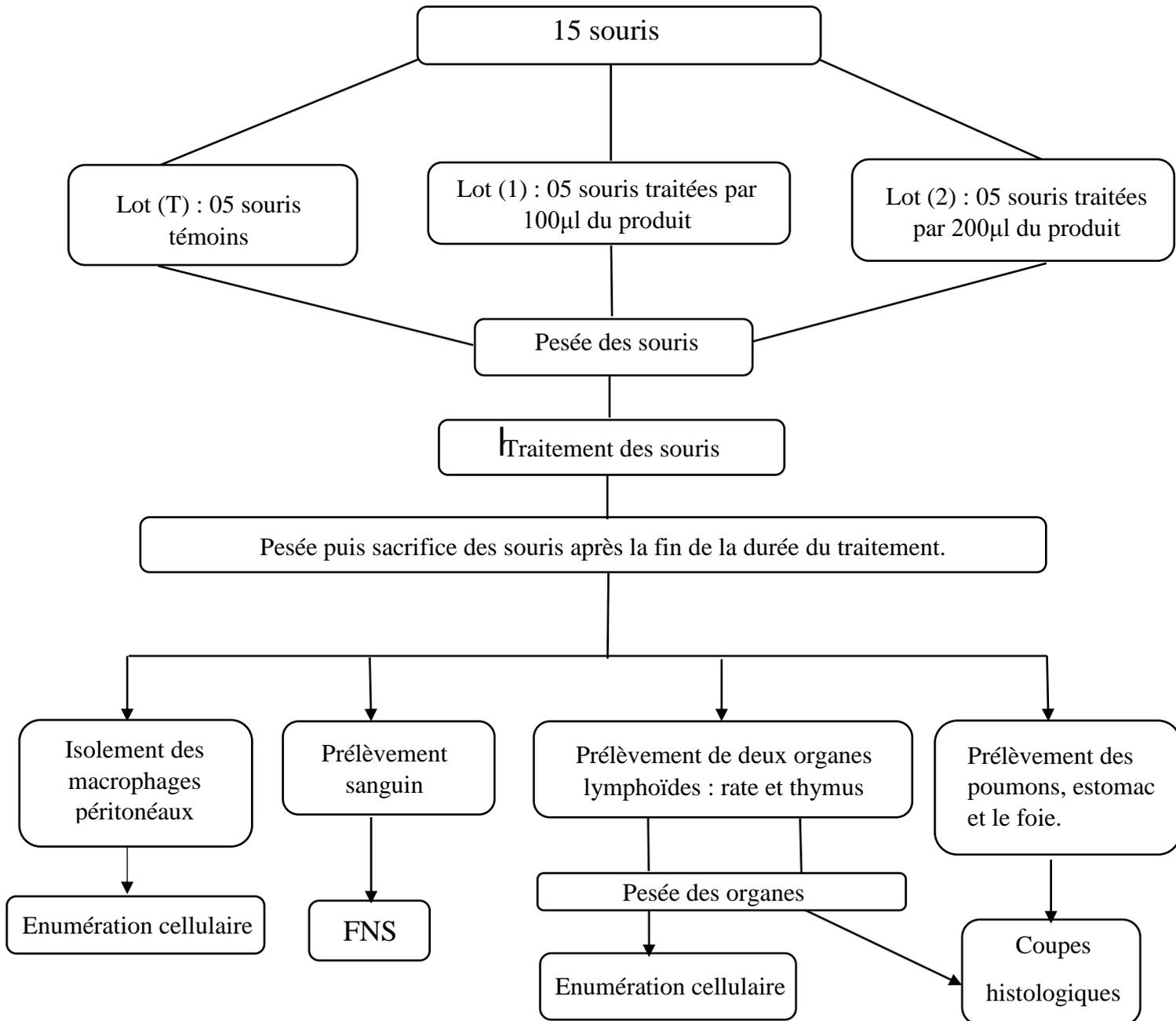


Fig.27 : Protocole expérimental de l'étude cellulaire et tissulaire.

II.2. Traitement des souris

Le traitement des souris consiste à l'administration du complément alimentaire par voie orale à l'aide d'une micropipette pendant 10 jours (fig.28). Les souris reçoivent deux volumes par jour ; le 1^{er} volume le matin à jeun vers 8h et le 2^{eme} le soir vers 19h. Le volume administrée dépend du poids corporel des souris, notant que les souris sont pesées à l'aide d'une balance de payasse avant de commencer le traitement.

Les souris ont été réparties en trois lots de 05 souris chacun :

Lot (T) : Souris témoins (T).

Lot (1) : Souris traitées par 100µl du produit.

Lot (2) : Souris traitées par 200µl du produit.



Fig.28 : Traitement par voie orale.

Après la fin du traitement, les souris sont d'abord pesées à l'aide d'une balance de payasse puis soumises au sacrifice (fig.29). Notant qu'on a utilisé 03 souris de chaque lot pour l'étude cellulaire (comptage cellulaire) et les 02 restantes pour l'étude tissulaire (coupes histologiques).



Fig.29 : Sacrifice d'une souris.

II.3. Prélèvement sanguins

Après avoir égorgé la souris, une quantité de sang est récupérée dans des tubes à EDTA (fig.30) destinés au laboratoire d'analyses médicales pour la réalisation de la formule de numération sanguine (FNS).

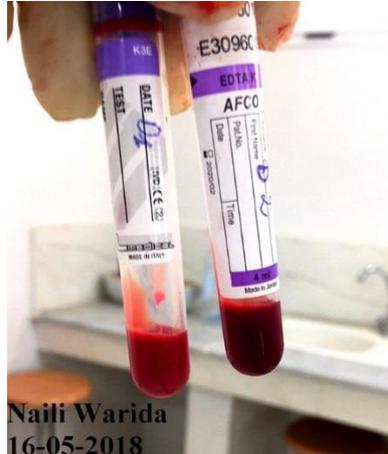


Fig.30 prélèvement sanguin.

II.4. Isolement des macrophages péritonéaux

Les macrophages péritonéaux sont isolés selon la méthode de Churchill *et al.*, (1976), après avoir préparé et stériliser les instruments ainsi que la planche a dissection avec de l'alcool, la souris est déposée sur le dos et est fixée sur la planche les 04 membres tendus .Après l'avoir dépiauté, son abdomen est essuyé avec de l'éthanol à 70% .

Ensuite, une quantité de 3ml de PBS (voir annexe) est injectée avec une seringue dans la cavité péritonéale juste au-dessous de la peau (fig.31). Après un léger massage abdominal d'environ 5minutes, on récupère le liquide intra-péritonéal par aspiration. Ce dernier est ensuite placé dans un tube puis centrifugé à une vitesse de 1500rpm pendant 5 minutes, cette opération est répétée 3 fois en ajoutant à chaque fois 3ml de PBS au culot.

A la fin, on procède à la détermination du nombre de cellules dans la suspension cellulaire après avoir diluer 100µl de cette dernière dans 900µl de bleu de trypan (voir annexe).

Le comptage des macrophages péritonéaux est ainsi réalisé à l'aide d'une cellule de Malassez et leur nombre par litre est calculé selon l'équation suivante :
$$N = \frac{n}{v} f$$

N = nombre de cellules par litres.

n = nombre de cellules comptées.

v = volume de comptage par litre.

f = facteur de dilution.

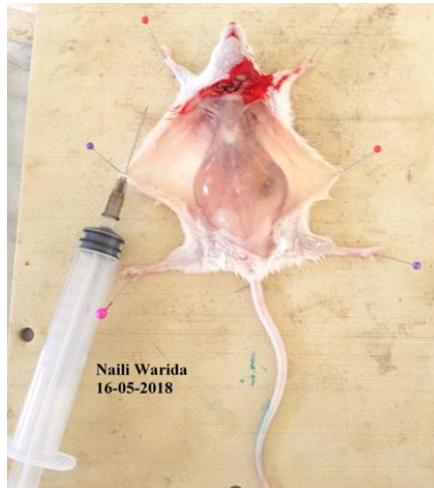


Fig.31 le péritoine de la souris après injection du PBS.

II.5. Prélèvement des organes lymphoïdes

Après le sacrifice et la dissection des souris, la rate (fig.32), le thymus (fig.33) sont prélevés puis pesés à l'aide d'une balance de précision (Sartorius).

Par ailleurs, les organes lymphoïdes ainsi que l'estomac, le foie et les poumons de deux souris de chaque lot ont été conservés dans du formol 10% pour l'étude histologique.

II.6. Isolement des splénocytes

Après la pesée de la rate (fig.32), cette dernière est déposée dans une boîte de pétri contenant 3ml de PBS, puis débarrassée de la graisse à l'aide de deux pinces. La suspension cellulaire est ensuite filtrée sur une gaze fixée sur un entonnoir et est versée dans un tube puis centrifugée pendant 10 min à une vitesse de 1500 rpm.

Le culot est remis en suspension dans 0.5 ml de PBS et 4.5 ml de solution de lyse des globules rouges. Après une incubation de 10 min, la suspension est centrifugée pendant 10 min à une vitesse de 1500 rpm. Ensuite, une quantité de 3ml de PBS est ajoutée au culot puis centrifugée (Daun *et al.*, 1995 ; Ducane *et al.*, 1995). Cette étape est répétée 3 fois en ajoutant au dernier culot 3ml de PBS dont on a prélevé 100µl dans un tube contenant une quantité de 900µl de bleu de trypan.

Enfin, une goutte de la solution obtenue est fixée sur une cellule de Malassez afin de déterminer le nombre des splénocytes dont le comptage se fait sous un microscope photonique (Optika) à l'objectif (x40).

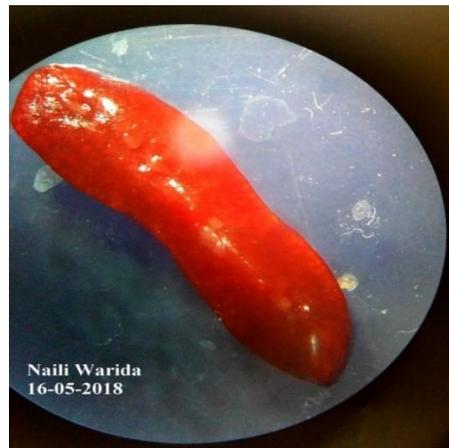


Fig.32 : La rate sous binoculaire.

II.7. Isolement des thymocytes

Après la pesée du thymus (fig.33), ce dernier est déposé dans une boîte de pétri contenant 3ml de PBS, puis débarrassé de la graisse à l'aide de deux pinces. La suspension cellulaire est ensuite filtrée sur une gaze fixée sur un entonnoir et est versée dans un tube, puis centrifugée pendant 10 min à une vitesse de 1500 rpm.

Ensuite, le culot est remis en suspension dans 3ml de PBS puis centrifugé pendant 10 min à une vitesse similaire à la précédente.

Cette étape est répétée 2 fois à la fin le culot est remis en 3ml de PBS dont on récupère 100µl qui seront remis dans un tube contenant 900µl de bleu de trypan.

Enfin, la numération des thymocytes est réalisée ainsi que le calcul du pourcentage de viabilité du type cellulaire.



Fig.33 : Le thymus sous binoculaire.

II.8. Etude histologique

Afin de réaliser des coupes histologiques pour une étude tissulaire, la rate, le thymus, l'estomac, le foie et les poumons de deux souris de chaque lot ont été prélevés et conservés dans le formol 10% ,ils ont été ensuite orientés vers le laboratoire d'anatomopathologie de l'hôpital Ibn Zohr de Guelma.

Les étapes de la préparation des coupes histologiques se déroulent comme suit :

1. Fixation et incubation

Les organes ont été enlevés du formol et découpé transversalement puis placés dans des cassettes histologiques marquées (fig.34) Ces dernières sont mises dans l'automate de circulation, contenant 12 cuves (fig.35) qui a permis la réalisation de trois étapes :

-La déshydratation permet d'éliminer l'eau des tissus pour les préparer à l'inclusion.

-La clarification permet d'éliminer toute trace d'éthanol dans l'échantillon.

-L'inclusion est faite par immersion des cassettes dans deux bains successifs de paraffine de 1h30 chacun à une température de 56°C.



Fig.34 : Les cassettes histologiques.

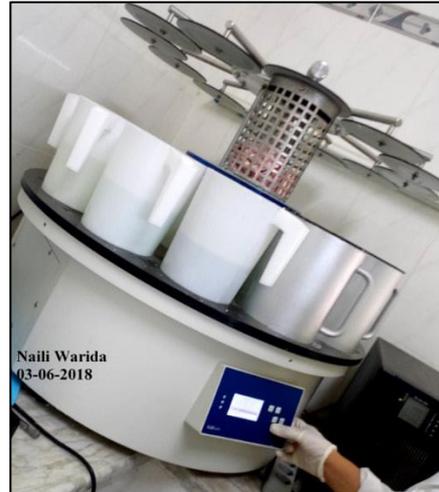


Fig.35 : L'automate de circulation.

2. Enrobage et confection des coupes

Les échantillons ont été retirés des cassettes puis mis dans des moules en inox. Ces derniers ont été remplis de paraffine liquide (fig.36). Après cela les moules ont été déposés sur une plaque refroidissante afin de solidifier la paraffine (fig.37). Ensuite, les blocs de paraffine ont été démoulés pour y être placés dans un microtome (fig.38), afin de confectionner des coupes d'environ 1.5 μ m. Ces rubans ont été déposés sur des lames parquées recouvertes d'une fine couche d'eau albumineuse, puis placés sur une plaque chauffante (fig.39).



Fig.36 Appareil d'enrobage des moules.



Fig.37 Plaque refroidissante.



Fig.38 : Un microtome.



Fig.39 : Une plaque chauffante.

Après cela, les lames ont été rangées dans un porte-lame puis placées dans l'étuve pendant 30 minutes, puis elles ont été immergées dans un bain de Xylène pendant la même durée de temps afin d'éliminer toute trace de paraffine et permettre aux colorants hydrophiles de pénétrer dans les tissus.

3. Coloration et montage des coupes

La coloration des lames a été faite avec deux colorants : l'hématoxyline de Mayer (basique) et l'éosine (acide). Ces derniers permettent de mettre évidence la morphologie cellulaire et tissulaire.

Enfin, le montage des lames a été fait par le dépôt de quelques gouttes d'Eukitt (colle biologique) sur des lamelles. Par la suite, ces dernières ont été placées sur les lames (fig.40) et sécher à l'air libre.



Fig.40 : Un plateau de lames prêtes à être lu sous microscope.

II.9. Test de l'effet anti-inflammatoire du complément

En vue de la réalisation du test de l'évaluation de l'activité anti-inflammatoire du complément alimentaire, on a adopté le protocole expérimental qui se résume comme suit :

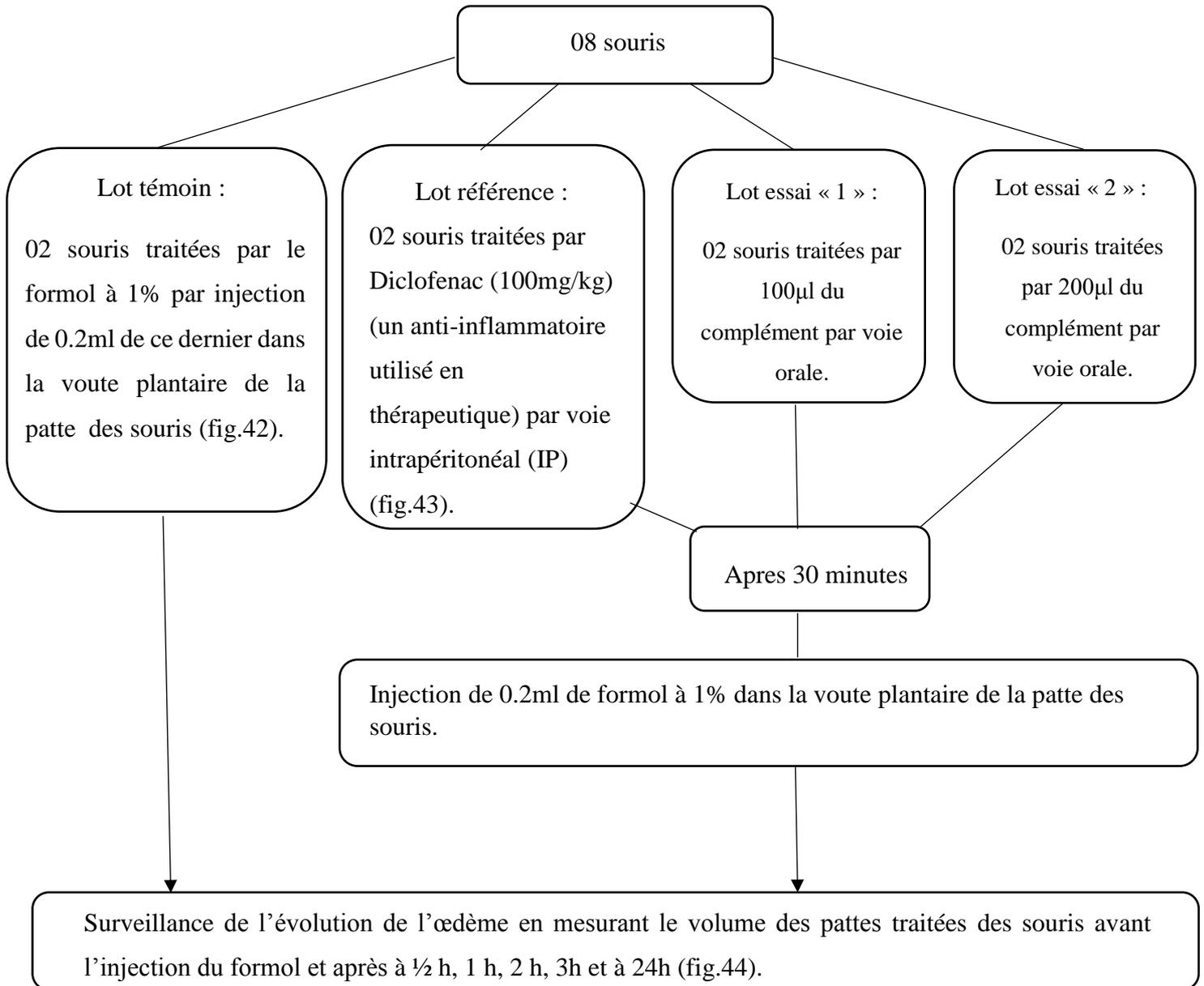


Fig.41 : Protocole expérimentale du test de l'évaluation de l'activité anti inflammatoire du complément alimentaire.

L'inflammation est induite par injection du formol au niveau de la voûte plantaire de la patte droite des souris. L'évolution de l'œdème causé par cet agent phlogogène sera traduite en volume et mesurée par le Pied à coulisse (fig.44) ce qui permet de suivre l'évolution du processus inflammatoire.



Fig.42 : Injection du formol



Fig.43 : Injection du Diclofenac par voie IP.

dans la voute plantaire da la souris.



Fig.44 La mesure de l'évolution de l'œdème par le Pied à coulisse.

II.10. Etude statistique

Pour chaque lot, on a calculé la moyenne arithmétique (\bar{X}) et l'erreur standard (SEM) à la moyenne ($\bar{X} \pm \text{SEM}$). La signification statistique de la différence entre deux moyennes est évaluée par le test t de **Fisher-Student**. La différence entre deux moyennes comparées est statistiquement significative si la probabilité p est inférieure à 0.05 (*); elle est très significative si p est inférieure à 0.01 (**) et hautement significative si p est inférieure à 0.001(***)).

Résultats et discussion

III. Résultats et discussion

III.1. Variation du poids corporelle

Les variations du poids corporel des animaux avant et après le traitement par les deux doses du complément alimentaire sont représentées par la (fig.45). Les résultats montrent qu'il existe une augmentation du poids corporel chez les souris traitées par les volumes (V1, V2) avec des valeurs de $(32,2 \pm 1,48 \text{ g} ; 33,2 \pm 2,77 \text{ g})$ par rapport aux poids initial qui était de $(31,4 \pm 1,94 \text{ g} ; 32,8 \pm 1,30 \text{ g})$ respectivement.

Cependant, cette augmentation du poids corporel est plus importante chez les souris témoins $(33,4 \pm 2,07 \text{ g})$ par rapport au poids initial qui était de $(31,4 \pm 2,40 \text{ g})$.

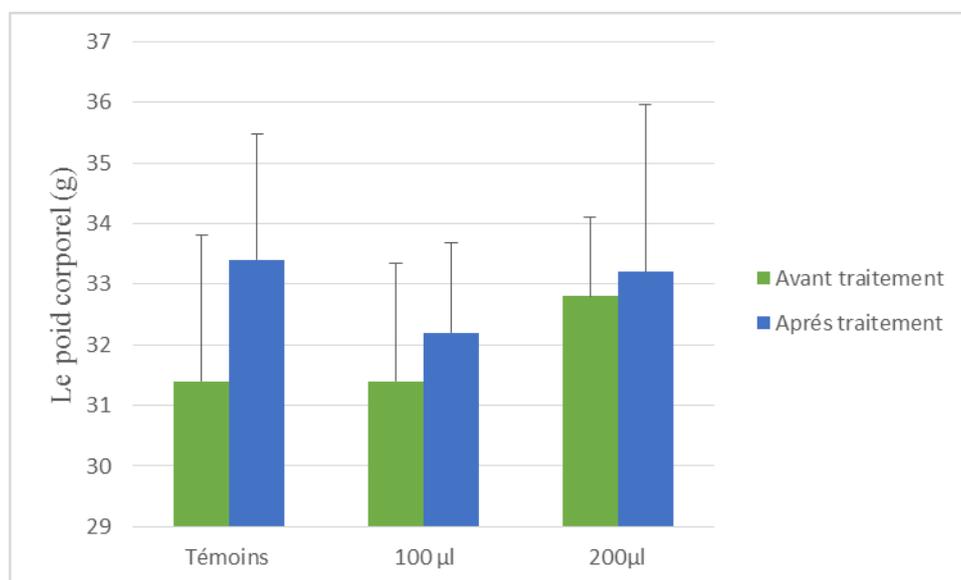


Fig.45 : Variation du poids corporel des souris.

Différence significative comparant au groupe témoin

* $P \leq 0,05$; ** $P \leq 0,01$; *** $\leq 0,001$.

Le changement du poids corporel observé après le traitement par les deux volumes du complément alimentaire par rapport aux témoins est le reflet de l'activité du composant principal de la propolis « CAPE » qui provoque une perte de poids.

De plus, des études chinoises ont démontrées que le CAPE inhibe la formation de cellules graisseuses à un stade précoce chez des souris soumises à un régime de graisse (Seung *et al.*, 2014).

III.2. Variation du poids des organes lymphoïdes

On a suivi la variation du poids des organes lymphoïdes suivants : le thymus et la rate chez les souris témoins et traitées par les deux volumes du complément alimentaire (V1, V2) (fig.46).

Les résultats obtenus montrent qu'il y a une diminution significative du poids du thymus chez les souris traitées par le 1^{er} volume (V1) et une diminution hautement significative observé chez les souris traitées par le 2^{eme} volume (V2) du complément alimentaire par rapport aux souris témoins (**T** : $50,73 \pm 4,20$ g ; **V1** : $40,51 \pm 5,58$ g ; **V2** : $24,43 \pm 6,18$ g).

Par ailleurs, nos résultats montrent qu'il y a une augmentation du poids de la rate observée chez les deux lots traités par rapport aux témoins

(**T** : $72,5 \pm 23,21$ g ; **V1** : $131,94 \pm 17,44$ g ; **V2** : $144,23 \pm 12,34$ g) .Cependant, elle est hautement significative chez le lot recevant la deuxième dose ($p= 0.001$) comparativement à celui traité par la première dose ($p=0.002$).

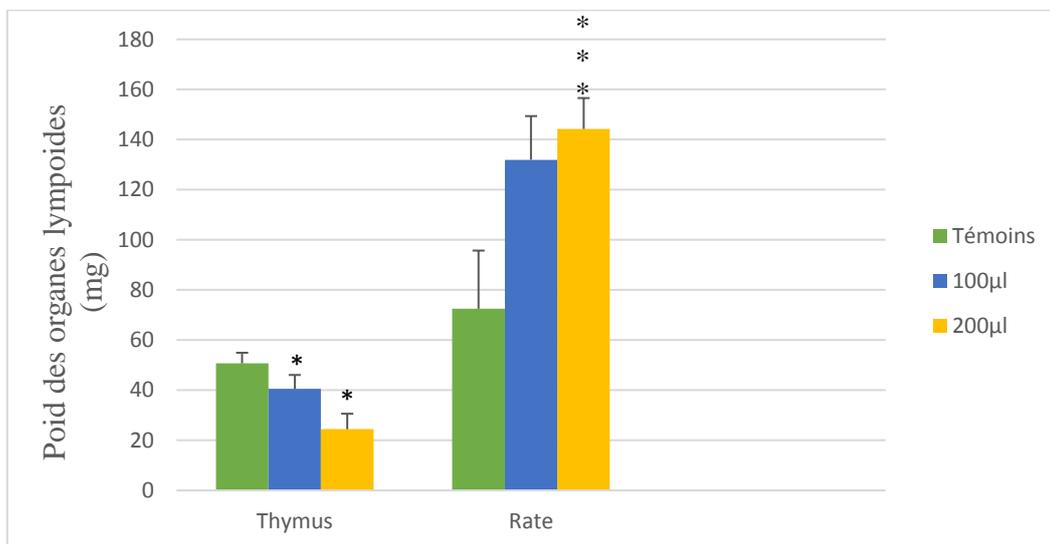


Fig.46 : Variation du poids des organes lymphoïdes.

Différence significative comparant au groupe témoin

***P ≤0,05 ; *** ≤0,001.**

La diminution du poids du thymus peut être expliquée par un effet toxique du complément sur ce dernier. Selon Savino ses collaborateurs en 2007, Cet organe subit une atrophie sévère due à l'appauvrissement des thymocytes induit par l'apoptose, affectant particulièrement les cellules CD4⁺ et CD8⁺ immatures, ainsi qu'une diminution de la prolifération cellulaire suite à une malnutrition et aux infections.

Selon Kintzel et Dorr en 1995, le thymus présente une atrophie lors de splénomégalie. Cette dernière peut être à l'origine de pathologies inflammatoires pulmonaires. En outre l'atrophie thymique peut être due à un surdosage, ce qui est en parfaite concordance avec les travaux de (Heri *et al.*, 2005 ; Mahmoud, 2006) qui ont démontré que si le dosage de propolis n'est pas respecté on obtiendra un effet non stimulant et supprimeur sur les cellules T.

D'une autre part, on constate que l'augmentation du poids de la rate est due à une augmentation du nombre des cellules qui la compose (splénocytes), c'est ce qui est confirmé aussi par nos résultats concernant la numération des splénocytes, où nous avons enregistré une augmentation du nombre de ces dernières chez les souris traitées par les deux doses du complément par rapport aux témoins.

Cette augmentation du poids de la rate peut également désigner une prolifération cellulaire excessive aboutissant à une masse cellulaire nommée hyperplasie [22].

Par contre, nos résultats sont à l'écart de ceux trouvés par (Jae *et al.*, 2004) qui ont constaté que l'administration de la propolis entraîne une diminution significative du poids de la rate suite à l'activité de son composant majeur le CAPE.

IV. Variation du nombre des thymocytes et splénocytes

L'énumération des thymocytes (fig.47) marque une diminution chez les deux lots traités par les deux volumes du complément par rapport aux témoins (**T** : 2823,33±161,66 x10⁸ C/L ; **V1** : 1300±264,58 x10⁸ C/L ; **V2** : 973,33±66,34 x10⁸ C/L).

En revanche, l'énumération des splénocytes (fig.47) marque une augmentation chez les deux lots de souris traités par rapport aux témoins (**T** : 2642,5±152,23 x 10⁸ C/L ; **V1** : 3959,17±1065,47x 10⁸C/L ; **V2** : 5799,17±214,15 x10⁸ C/L).

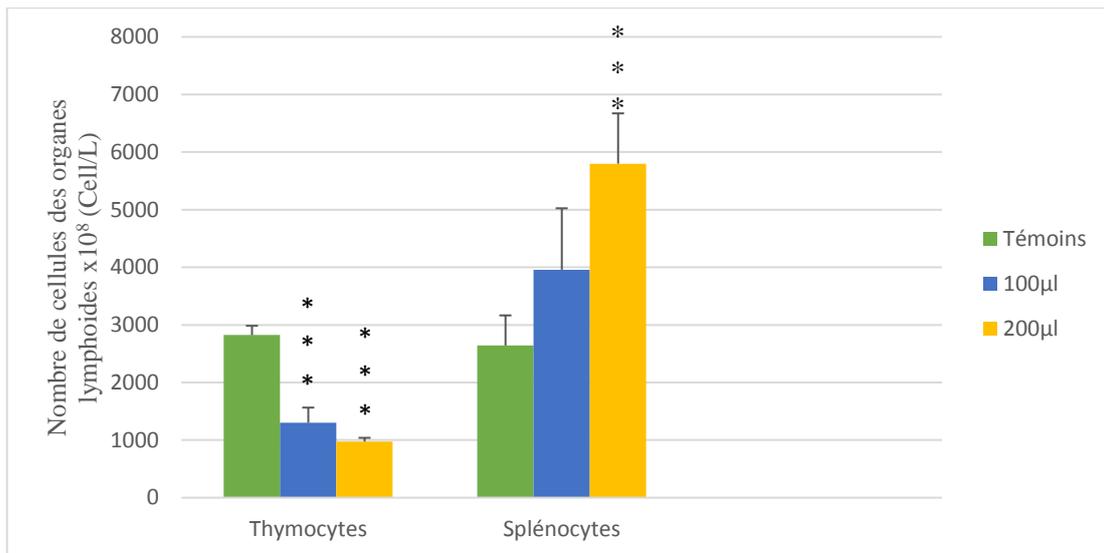


Fig.47 : Variation du nombre de thymocytes et de splénocytes.

Différence significative comparant au groupe témoin

***** $\leq 0,001$.**

La diminution du nombre des thymocytes peut s'expliquer par la diminution du poids du thymus suite à la turgescence prouvée macroscopiquement et histologiquement, pouvant être attribuée à une immunotoxicité à cause d'un surdosage. Cette dernière possibilité s'accorde parfaitement avec les résultats de Mahmoud en 2006 disant que le surdosage de la propolis entraîne un arrêt de la différenciation ainsi que la maturation des cellules T et donc menant à une suppression des LT et à une aplasie thymique.

En revanche, l'augmentation du nombre des splénocytes est due à la prolifération excessive de ses dernières chez les souris traitées. On peut l'expliquer par le fait que cet organe contribue à la réponse immunitaire en stimulant la prolifération et la libération des cellules immunitaires stockées sous l'influence de l'état inflammatoire du thymus, estomac, ainsi que les hémorragies alvéolaires des poumons.

Selon (Rüdiger *et al.*, 2008), l'hyperplasie lymphoïde de la rate est à l'origine d'une production principalement physiologique de cellules effectrices immunitaires lors des réactions inflammatoires. Ce qui confirme nos résultats.

V. Variation du nombre des macrophages péritonéaux

Les résultats présentés dans la fig.48 indiquent une élévation du nombre des macrophages péritonéaux par rapport aux souris témoins (T : $904,17 \pm 55,75 \times 10^8$ C/L).

Le plus grand nombre a été observé chez les souris traitées par la deuxième dose (V2: $5558,33 \pm 65,01 \times 10^8$ C/L) précédé par un taux moins élevé chez les souris traitées par la première dose (V1 : $3790 \pm 1482,80 \times 10^8$ C/L). Cette augmentation est significative chez le lot traité par la première dose ($p=0.029$) et hautement significative chez le lot traité par la double dose ($p=0.001$).

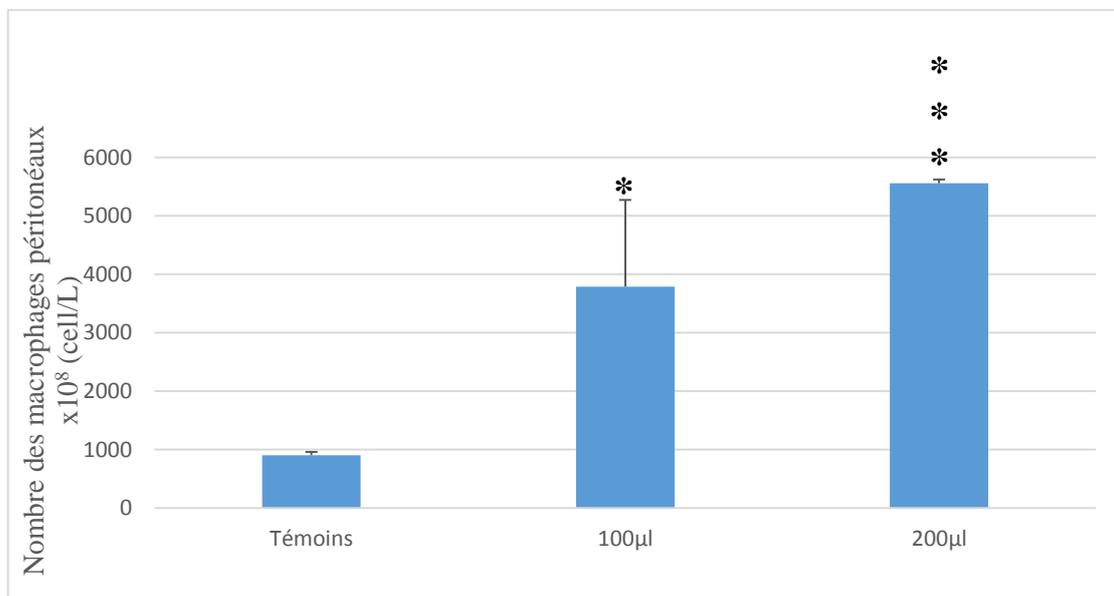


Fig.48 : Variation du nombre des macrophages péritonéaux.

Différence significative comparant au groupe témoin

* $P \leq 0,05$; *** $\leq 0,001$.

Concernant l'augmentation du nombre des macrophages péritonéaux chez les souris traitées par les deux volumes du complément, cela peut être attribué à l'état inflammatoire observé au niveau du thymus, poumons et estomac chez les animaux traités par le complément étudié. Car l'inflammation s'accompagne toujours par le recrutement des phagocytes vers le site inflammatoire (fig.48). , c'est d'ailleurs ce qui est confirmé aussi par nos résultats d'histopathologie réalisée au niveau de ces organes.

Nos résultats sont cohérents avec ceux de (Ghosn *et al.*, 2009), où ils ont signalés que les macrophages de la cavité péritonéale murine sont parmi les meilleurs comparés aux macrophages tissulaires, ils jouent un rôle important dans l'élimination des cellules apoptotiques et la coordination des réactions inflammatoires. Même en absence d'une inflammation intrapéritonéale, les macrophages péritonéaux possèdent des fonctions anti-inflammatoires [23] ce qui confirme leurs taux élevés trouvés chez les deux lots de souris traitées par le produit, en présence de l'état inflammatoire des poumons, thymus et estomac.

VI. L'effet du traitement sur la formule numération sanguine (FNS)

Les résultats obtenus (tableau 02), ont mis en évidence une augmentation significative du nombre des globules blancs ($p=0.029$) et une augmentation du nombre des lymphocytes chez les souris traitées par la première dose (100 μ l) du complément. Puis une diminution du nombre de ces cellules chez les souris traitées par la deuxième dose (200 μ l) par rapport aux témoins (**T** : $6,09 \pm 0,79 \times 10^3 / \mu$ l ; **V1** : $12,43 \pm 6,04 \times 10^3 / \mu$ l ; **V2** : $4,46 \pm 5,07 \times 10^3 / \mu$ l) (**T** : $8,9 \pm 1,4 \times 10^3 / \mu$ l ; **V1** : $9,69 \pm 4,95 \times 10^3 / \mu$ l ; **V2** : $5,36 \pm 5,83 \times 10^3 / \mu$ l) respectivement.

Les résultats illustrés par la même figure (tableau 02) révèlent une augmentation du nombre des monocytes chez les souris traitées par rapport aux témoins. Cette augmentation est plus importante chez les souris recevant la deuxième dose du complément (**T1** : $1,23 \pm 0,48 \times 10^3 / \mu$ l ; **V1** : $1,40 \pm 0,81 \times 10^3 / \mu$ l ; **V2** : $2,97 \pm 0,77 \times 10^3 / \mu$ l).

Cependant, les résultats mentionnés dans la même figure (tableau 02) indiquent également une diminution des neutrophiles chez les souris traitées par les deux doses du complément par rapport aux témoins (**T** : $1,56 \pm 0,35 \times 10^3 / \mu$ l ; **V1** : $1,32 \pm 0,57 \times 10^3 / \mu$ l ; **V2** : $1,37 \pm 1,11 \times 10^3 / \mu$ l).

Tableau 02 : L'effet de la propolis sur la Formule Numérique Sanguine.

Paramètres (10 ³ /μl)	Groupes expérimentaux		
	Témoins (T)	Dose (D1) 100 μl	Dose (D2) 200μl
GB	6,09± 0,791	12,43±6,043 *	4,46±5.07
Lymphocytes	8,9±1,4	9,69±4,95	5,36±5.83
Monocyte	1,23±0,48	1,40±0,81	2,97±0.77
Poly neutrophiles	1,56±0,35	1,32±0,57	1,37±1.11

Différence significative comparant au groupe témoin

*P ≤0,05.

L'augmentation du nombre des globules blancs (hyperleucocytose) et des lymphocytes chez les souris traités par la 1^{ère} dose est considérée comme l'un des mécanismes de défense du système immunitaire suite à l'inflammation observée au niveau de certains organes tels que le thymus, les poumons, l'estomac.

Cependant, nos résultats montrent une diminution importante du nombre de globule blancs (leucopénie) et des lymphocytes. Donc dans ce cas, le complément a exercé un effet immunosuppresseur sur la production des globules blancs notamment les leucocytes de la lignée lymphoïde mais pas celle de la lignée myéloïde, cela a été confirmé par la baisse du nombre des lymphocytes du sang et l'augmentation des monocytes.

Nos résultats s'accordent avec ceux de (Taheri *et al.*, 2005) qui ont observé un effet relativement négatif d'une concentration plus élevée de propolis sur l'immunité humorale et ont conclu que le système immunitaire peut réagir à la propolis à un dosage crucial. De même, (Sforzin, 2007) a rapporté que la propolis pouvait agir directement sur les lymphocytes T, en inhibant leur différenciation. De plus, (Park *et al.*, 2004) ont signalé que le traitement du CAPE, le composant actif de la propolis, entraîne une diminution du nombre de cellules immunitaires, en particulier des lymphocytes T au cas de dosage non respecté. D'un autre côté,

(Scheller *et al.*, 1988) ont indiqué qu'une augmentation supplémentaire de la dose de propolis ou de la fréquence de son administration a un effet inhibiteur sur la production d'anticorps dans les cellules spléniques de souris immunisées.

Concernant les poly neutrophiles, la diminution du nombre de granulocytes chez les souris traitées par les deux doses du complément étudié (neutropénie) peut être expliquée par le fait que le complément entraîne une intoxication alcoolique vue qu'il s'agit d'un extrait éthanolique de propolis [25], ou par une aplasie médullaire (Bourillon *et al.*, 2013).

Des études ont prouvé que l'extrait éthanolique de la propolis possède une activité cytotoxique à partir de 0.5mg/ml (Sena-lobes *et al.*, 2018) ce qui correspond à la moitié de la prise journalière (100µl) mentionné dans la notice du complément étudié, confirmant ainsi sa toxicité.

VII. L'effet du traitement sur l'activité anti-inflammatoire

D'après les résultats mentionnés dans le tableau ci-dessous (tableau 03) et d'après la (fig.49), on remarque que le formol a induit une inflammation locale provoquée par l'injection de ce dernier dans l'aponévrose de la plante de la patte des souris

(Mansoor *et al.*, 2011) traduite par l'apparition d'un œdème qui augmentait progressivement pour atteindre un diamètre maximale estimée de (4.31) mm 3 heures après l'injection (fig.49), à partir desquelles le volume a commencé à diminuer jusqu'en arrivés à (4.10) mm après 24h de l'injection.

Les souris traitées par le Diclofénac par voie intra péritonéal avant l'injection du formol, ont développé un œdème d'un diamètre maximal estimé de (3.84 mm) 2 heures après

l'injection (fig.49), à partir desquelles le volume a commencé à diminuer pour en arriver à 3.19 mm après 24h de l'injection.

L'administration orale des deux volumes (V1, V2) du complément étudié avant l'injection du formol, a révélé une inhibition dose-dépendante de la réponse inflammatoire induite chez les souris. Les œdèmes des souris traitées par la 1ere et la 2eme dose ont atteint un diamètre maximal estimé de (3.99 mm) et (3.87 mm) 1h après l'injection à partir de laquelle le volume a commencé à diminuer jusqu'en arrivé a (3.10mm) et (2.62 mm) respectivement après 24h de l'injection.

Traitement et volumes	½ h	1h	2h	3h	24h
Formol 1% Diamètre (mm)	3,89± 0,049	4.14± 0,014	4,22± 0,49	4,31± 0,59	4,10±0,47
Diclofenac+ formol Diamètre (mm)	3,01±0,27	3,49±0,031	3,84±0,23	3,61±0,20	3,19±0,30
D1 du compl+ formol Diamètre (mm)	3,55± 0,27	3,99± 0,34	3,77± 0,55	3,38±0,33	3,10± 0,45
D2 du compl+formol Diamètre (mm)	3,52± 0,18	3,87± 0,31	3,72± 0,37	3,28± 0,03	2,62± 0,16

Tableau 03 : Effet du complément étudié sur l'œdème de la patte postérieure de souris induit par le formol à 1%.

Les résultats obtenus montrent que le complément a réduit de façon appréciable l'œdème induit par le formol ce qui confirme l'activité anti inflammatoire de la propolis (Sforcin.2007 ; Borrelli *et al.*, 2002 ; Cuvillier, 2015).

L'activité anti inflammatoire a été dose dépendante, ce qui confirme les conséquences délétères de ce produit dans nos résultats précédant lors d'un surdosage et d'une durée prolongé (la durée du traitement). Les souris traitées par le 2^{eme} volume du complément possédaient une activité anti inflammatoire supérieur à celle des souris traitées par le 1ere volume (fig.49) ce qui est en parfaite concordance avec les résultats de

(Çetin *et al.*, 2009 ; Heri *et al.*, 2005 ; Mahmoud 2006). La rapidité de la réponse inflammatoire des souris traitées par le Diclofenac au début de l'injection du formol peut être attribuée à la voie d'administration.

Selon Dey *et al* en 2002, l'absorption du produit suite à une administration par voie intrapéritonéal est plus rapide est plus efficace que l'administration par voie orale, en raison de la présence des enzymes buccales et gastriques pouvant dégrader certains composant du produit.

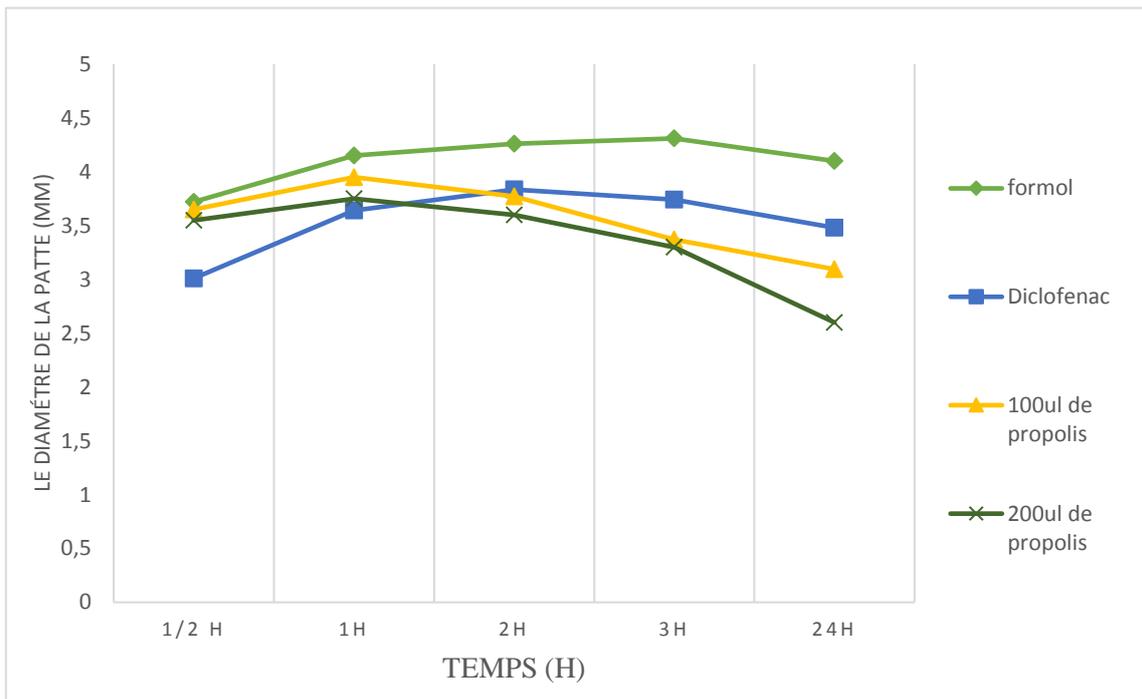


Fig.49 : Evolution de l'œdème suite à l'injection du formol seul, en présence d'un prétraitement avec diclofenac par voie IP, traitement par les deux doses du complément alimentaire par voie orale.

VIII. L'effet du traitement sur la structure histologique des différents organes

VIII.1. Thymus

L'étude microscopique des coupes réalisées sur le thymus des souris témoins (fig.50) (T1) a révélé un parenchyme thymique de structure et de morphologie normal divisé en deux zones distinctes, une zone externe dense riche en cellules : le cortex et une zone interne faiblement colorée : la médullaire contenant moins de cellules. Au centre de la médullaire

s'observent des structures lamellaires éosinophiles, appelées corpuscules de Hassal, et qui correspondent à des cellules épithéliales dégénératives.

En revanche, les coupes réalisées sur le thymus des souris traitées par la propolis montrent un parenchyme thymique atrophique avec un cortex aminci. Au niveau de la médullaire existe une discrète fibrose, les lymphocytes sont irréguliers avec absence de tout contingent tumorale (fig.50) (T2 / T3).

VIII.2. Rate

L'analyse réalisée sur les coupes histologiques de la rate (fig.51) a montré un aspect sensiblement identique pour les trois lots (R1 / R2 / R3), le parenchyme splénique ne présente pas de modification ou d'altération morphologique décelable.

Cependant, au niveau du parenchyme splénique du lot des souris traitées par la première dose (100µl), (R2) , il existe des sidérophages, ces dernières sont minime au niveau de celle des souris traitées par une double dose (200µl), (R3).

VIII.3. Poumons

L'étude microscopique des coupes réalisées sur les poumons des souris témoins (fig.52), (P1) a montré un parenchyme pulmonaire comportant des lumières alvéolaires tapissées par des pneumocytes réguliers. Les glandes sont de morphologie normale. En outre, le parenchyme pulmonaire des souris traitées par la première dose du complément est siège d'une congestion vasculaire (fig.52), (P2). Le tissu interstitiel est élargi et comporte un discret infiltrat inflammatoire lymphocytaire essentiellement périvasculaire.

Concernant les souris exposées à la deuxième dose du complément on note : une inondation hémorragique alvéolaire. Il s'agit d'un dommage alvéolaire diffus (fig.52), (P3).

VIII.4. Foie

L'observation microscopique des coupes réalisées sur le foie des souris témoins et des souris traitées par les deux doses du complément alimentaire montre que celle des témoins (fig.53), (F1) présente un aspect histologique normal du tissu hépatique contenant des veines

Centro-lobulaire, des hépatocytes de forme habituelle, ainsi que quelques cellules Kupffer dans les sinusoides éparpillés dans tous les tissus. Tandis que celle des souris traitées a montré : une inflammation hépatique traduite par des petits infiltrats inflammatoires chez les souris traitées par la première dose du complément (fig.53), (F2).

Et des fibroses hépatiques, un cytoplasme irrégulier ainsi que des cellules apoptotiques chez les souris traitées par la deuxième dose du complément (fig.53),(F3).

Selon Mégarbane *et al* en 2007 une hépatotoxicité induite par l'éthanol se manifeste au niveau de la zone centrolobulaire. A partir de ces résultats on peut déduire qu'il ya un signe de toxicité.

VIII.5 Estomac

L'examen microscopique de l'estomac a montré une muqueuse gastrique normale chez les souris témoins (fig.54), (E1) composée d'un chorion sain et d'une muqueuse gastrique active caractérisée par l'infiltration des polynucléaires et des lymphocytes.

Par ailleurs, l'interprétation des coupes histologiques de l'estomac des souris traitées a montré : une gastrite atrophique traduite par une perte de cellules pariétales et principales chez les souris traitées par la première dose (fig.54), (E2), et par une atrophie de haut grade traduite par : des glandes de forme et de taille irrégulière branchés et marqués par des atypies cellulaires et nucléaires chez les souris traitées par la deuxième dose (fig.54), (E3).

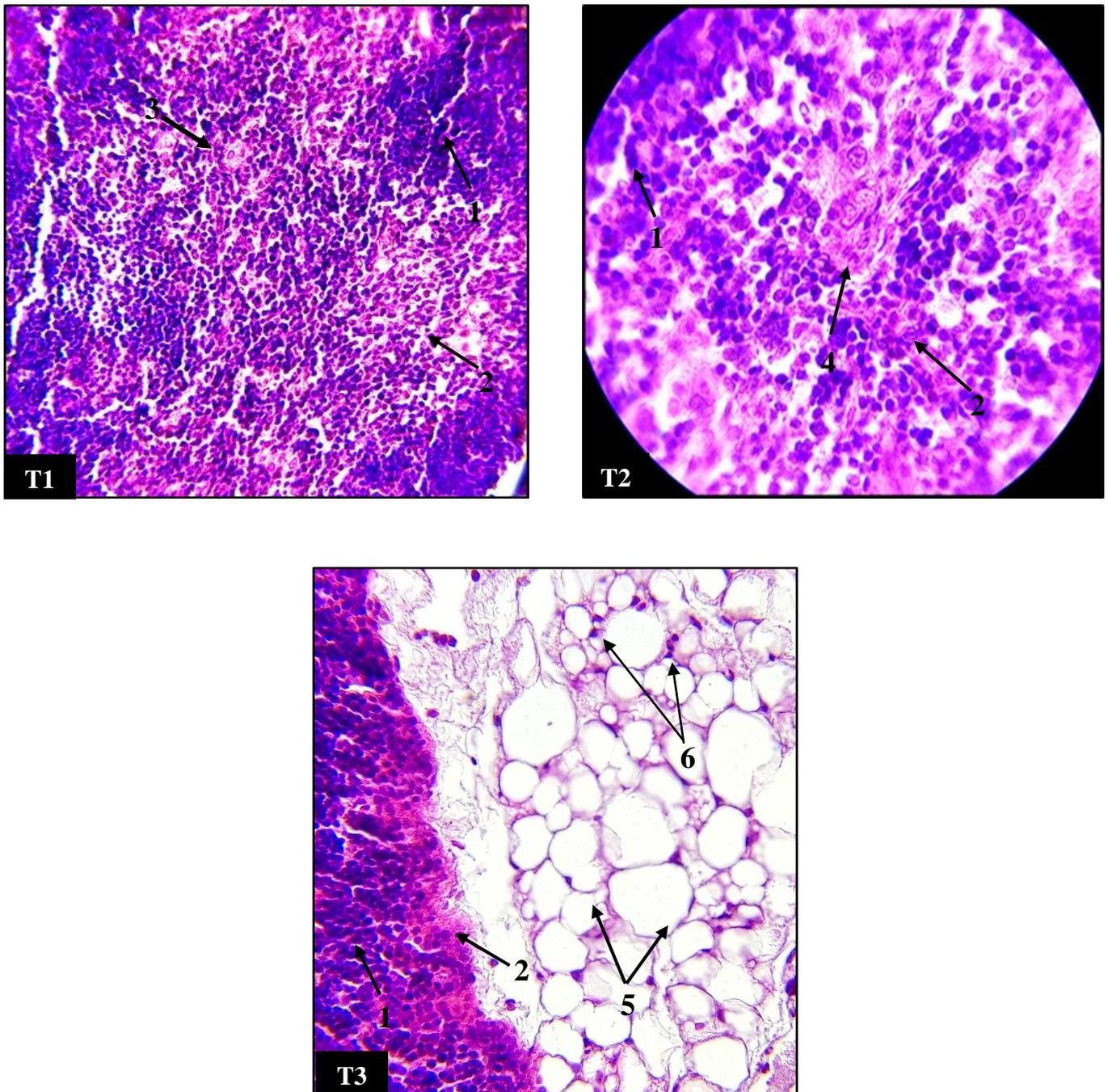


Fig.50 : Coupes histologiques du thymus d'une souris témoin et ceux de deux souris traitées.

T1 / Thymus d'une souris témoin (X400), **T2** / Thymus d'une souris traitée par un volume (X1000),

T3 / Thymus d'une souris traitée par le volume doublé (X400).

1 : Cortex 2 : médulla 3 : corpuscules de Hassal 4 : fibrose 5 : adipocytes 6 : Lymphocytes

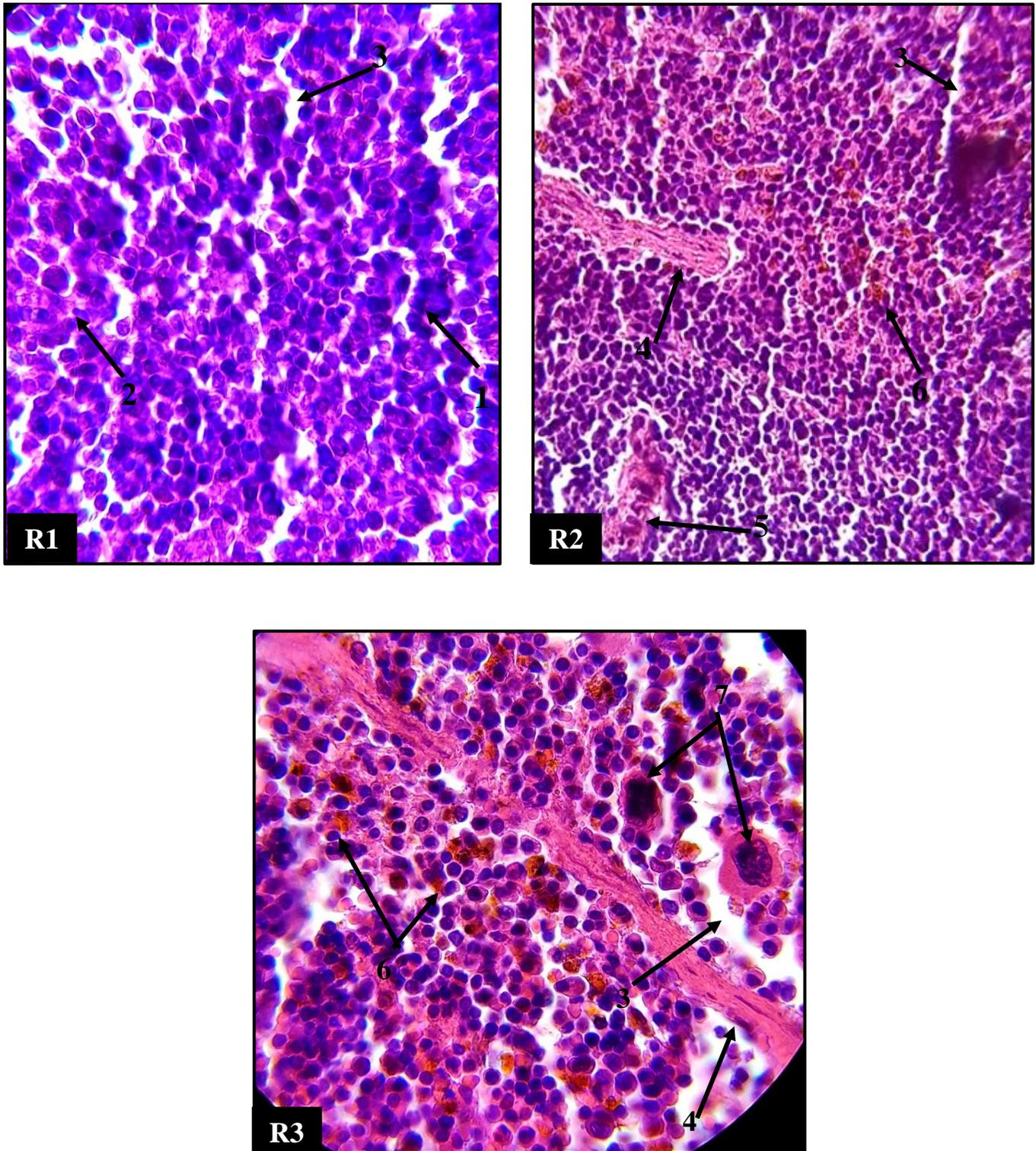


Fig.51 : Coupes histologiques de la rate d'une souris témoins et celles de deux souris traitées.

R1/ Rate d'une souris témoin (X400), **R2**/ Rate d'une souris traitée par un volume (X1000), **R3**/ Rate d'une souris traitée par le volume doublé (X1000).

- 1 : Pulpe blanche 2 : Pulpe rouge 3 : Veines sinusoides 4 : Travée conjonctive
5 : Segment à housse 6 : Dépôts d'hémosidérine 7 : Mégacaryocytes

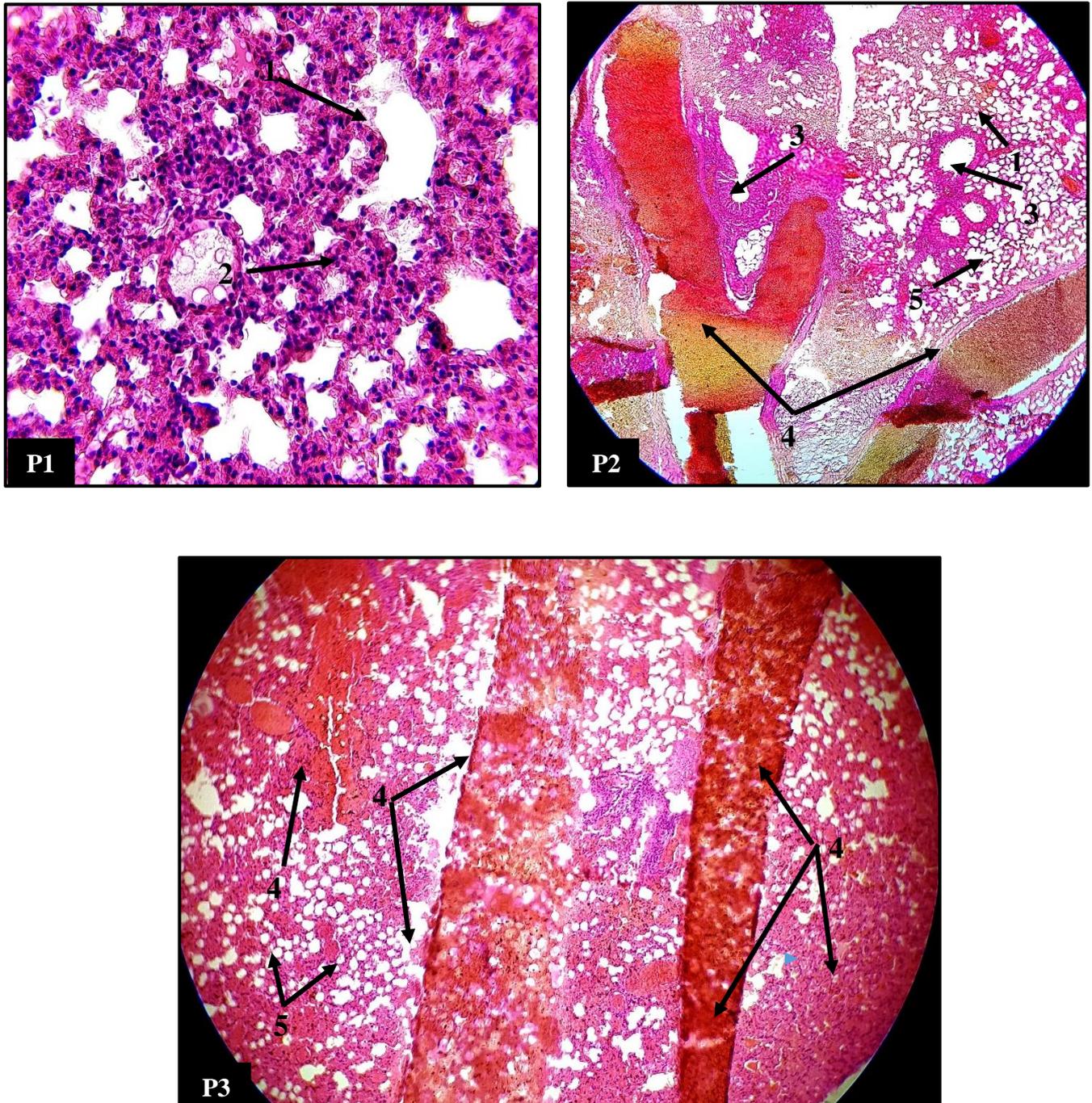


Fig.52 : Coupes histologiques des poumons d'une souris témoin et de deux souris traitées.

P1/ Poumon d'une souris témoin (X400), **P2/** Poumon d'une souris traitée par un volume (X100), **P3/** Poumon d'une souris traitée par un volume doublé (X1000).

1 : Lumière alvéolaire 2 : Pneumocytes 3 : Congestion vasculaire 4 : Tissu interstitiel élargi
5 : Rétrécissement alvéolaire.

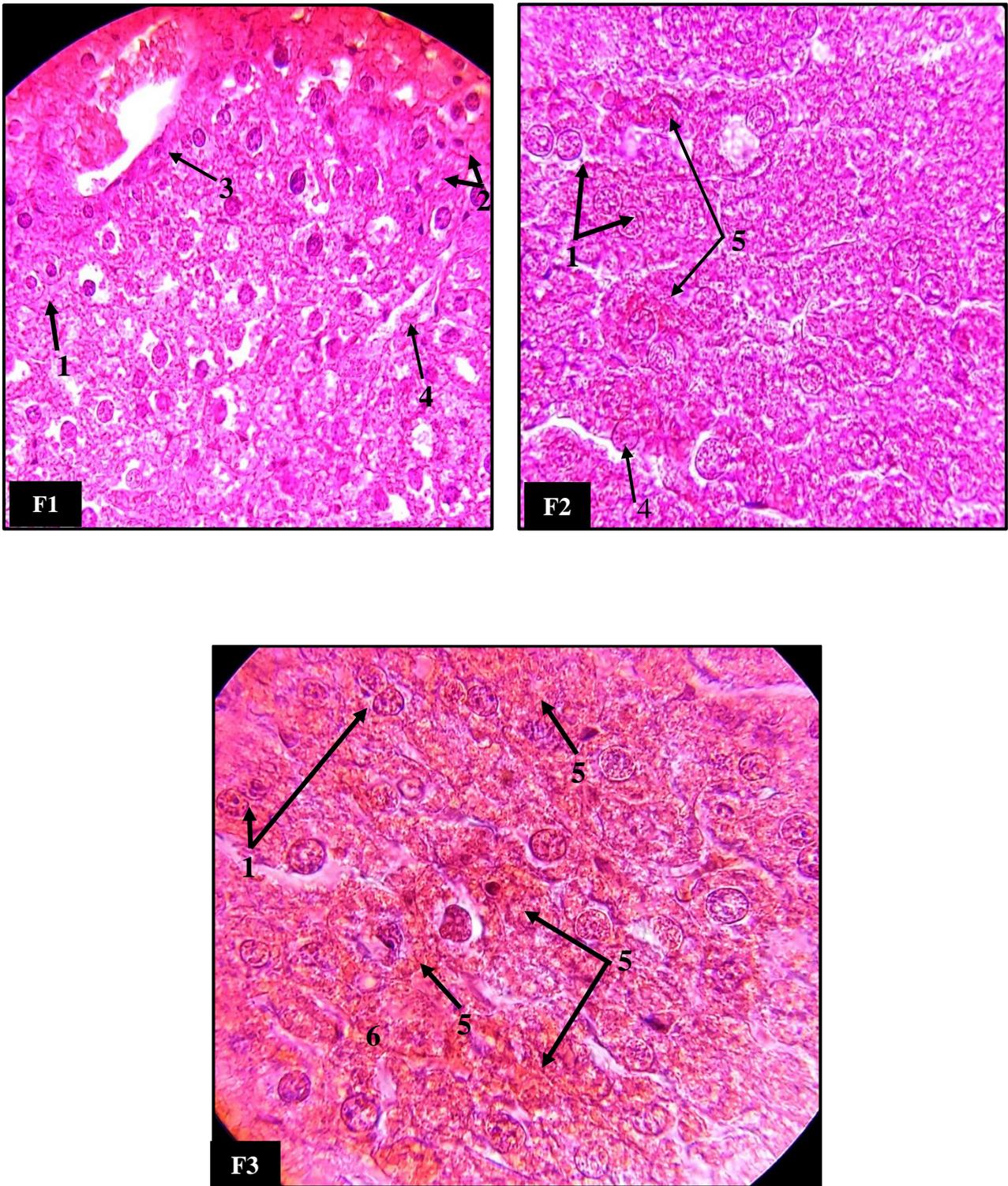


Fig.53 : Coupes histologiques du foie d'une souris témoins et de deux souris traitées

F1/ foie d'une souris témoin(X400), **F2/** foie d'une souris traitée par un volume (X1000) ,

F3/ foie d'une souris traitée par le volume doublé (X1000).

1 : Hépatocytes binucléés 2 : Cellules kuppfer 3 : veine porte 4 : Sinusoïde 5 : fibroses hépatique avec des infiltrats inflammatoires 6 : Cytoplasme irrégulier

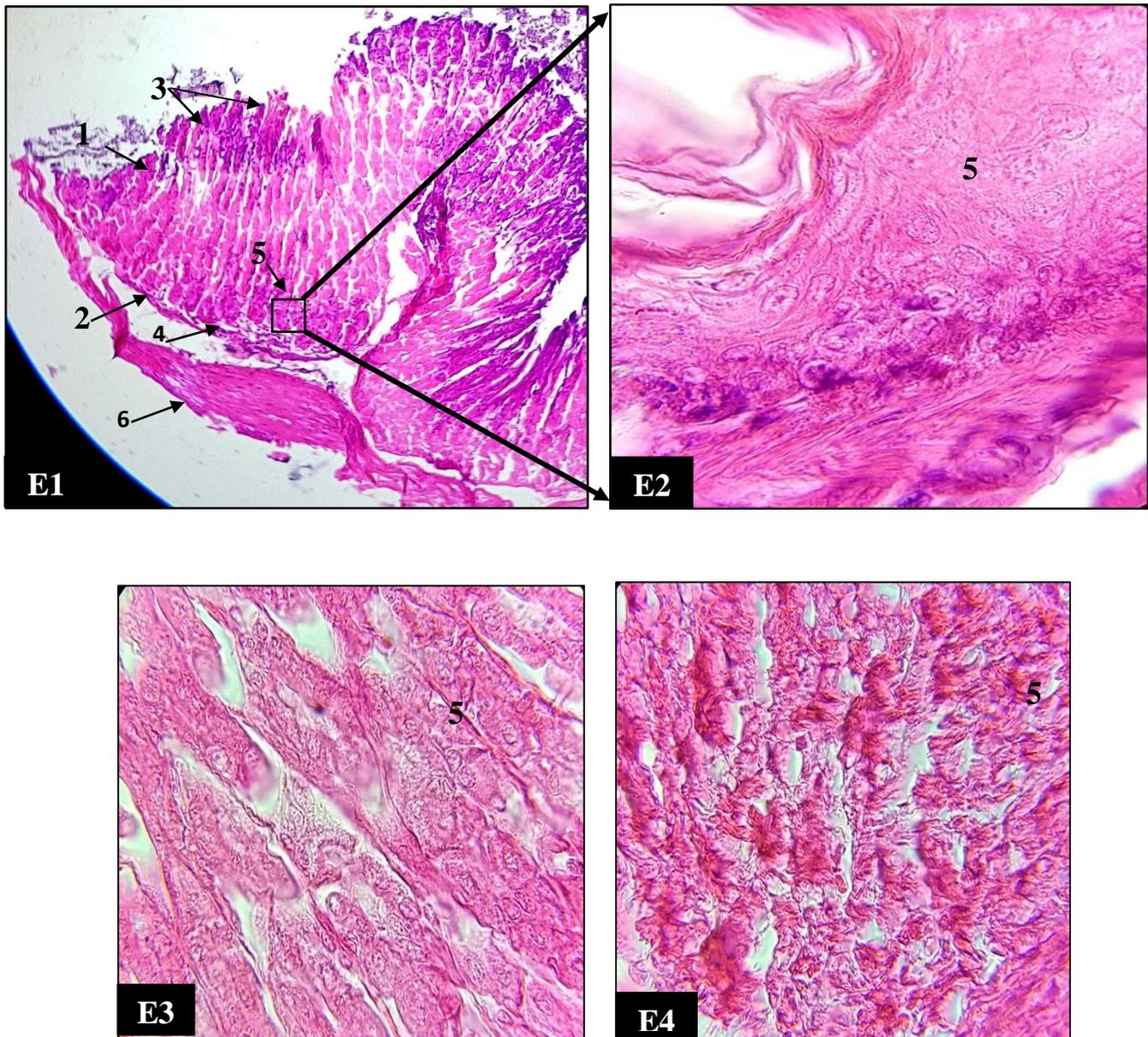


Fig.54 : Coupes histologiques de l'estomac d'une souris témoins et de deux souris traitées.

E1/ Estomac d'une souris témoin (X100), **E2/** Le chorion d'une souris témoins (X400), **E3/** Le chorion d'une souris traitée par un volume (X1000), **E4/** Le chorion d'une souris traitée par le volume doublé (X1000).

1 : Lamina propria 2 : Musculaire muqueuse 3 : Mastocytes 4 : Lymphocytes 5 : Chorion 7 : couche musculaire externe.

Conclusion et perspectives

Conclusion et perspectives

Ces dernières années, le marché des compléments alimentaires s'est explosé en Algérie et dans le monde entier. Les bénéfices d'une telle consommation ne sont pas toujours évidents, mais les risques pour la santé demeurent présents et une surveillance appropriée est nécessaire afin de garantir un niveau élevé de protection des consommateurs.

Dans cette approche, le but de notre expérience était de mettre en œuvre l'activité immunomodulatrice d'un complément alimentaire naturel nommé « propolis poudre » ainsi que son activité anti-inflammatoire sur un modèle murin. Pour atteindre notre objectif, nous avons suivi des techniques d'étude cellulaire (énumération cellulaire) et d'autres pour l'étude tissulaire (coupes histologiques).

Après 10 jours de traitement, les résultats ont indiqués une hausse importante du nombre des macrophages péritonéaux, des monocytes et des splénocytes chez les deux lots traités. Par contre, on a enregistré une diminution des thymocytes, des globules blancs, des lymphocytes et des neutrophiles. De plus, l'étude histologique a révélé une hypertrophie thymique, une splénomégalie, une atrophie gastrique, une hépatotoxicité ainsi qu'une hémorragie pulmonaire.

En revanche, suite à l'administration des deux doses du complément alimentaire en une courte durée (une seule fois par jour), le test de l'œdème de la patte droite des souris a montré une activité anti-inflammatoire plus intense que celle d'un anti-inflammatoire utilisé en thérapeutique. Ceci nous a prouvé que l'effet immunomodulateur de la propolis est dose dépendant.

A la lumière de nos résultats et en s'appuyant sur les résultats des recherches effectuées sur la propolis naturelle, nous pouvons confirmer que le complément alimentaire étudié n'est pas Bio (naturel) et que ses effets thérapeutiques cités dans la notice sont incompatible avec nos résultats obtenus.

Cependant, nous sommes déterminés que notre étude mérite d'être approfondie en s'appuyant sur des techniques immunologiques plus avancées. Tout en complétant ce travail par une analyse détaillée de la composition de ce produit ainsi que la méthode d'extraction

suivi pour obtenir la poudre de la propolis et que cette dernière doit suivre les conditions de fabrication. De plus, le mode d'administration doit être prescrit par un personnel agréé. Cela nous permettra de protéger les consommateurs de ses produits non contrôlés.

Résumés

Résumé

Beaucoup de recherches ont été fondées sur l'étude des mécanismes d'action de la propolis et de ses composés impliqués dans son activité biologique. Cependant, l'efficacité d'un complément alimentaire naturel nommé « Propolis poudre » préparé à base de ce précieux produit mérite encore une étude. Surtout qu'il a connu une forte consommation en Algérie de la part des cancéreux afin de stimuler leurs défenses immunitaires.

Cette étude visait à vérifier l'effet de ce complément sur le système immunitaire chez un modèle murin nommé « Mus musculus ». Selon son mode d'administration prescrit sur le conditionnement, deux volumes ont été fournis aux souris par voie orale (100µl/g/pc, 200µl/g/pc) (x2 /j) pendant 10 jours.

Les résultats ont indiqué une augmentation significative du poids corporel, du nombre des macrophages péritonéaux, des splénocytes et des monocytes circulants. En revanche, une diminution du nombre de thymocytes et des cellules sanguines a été signalée. De plus, des altérations histologiques marquantes au niveau du thymus, la rate, l'estomac, le foie et les poumons ont confronté nos résultats précédents.

Par contre, après l'administration des deux volumes de produit chez des souris pour la première et en une seule fois avant d'effectuer le test de l'activité anti-inflammatoire, les résultats ont montré une atténuation appréciable de l'œdème de la patte de la souris induit par le formol comparé au Diclofenac.

D'après ces résultats on approuve l'impact de ce complément sur le système immunitaire murin et sur l'organisme en général qui peut être attribué à un manque de connaissance et de compétence sur le terrain lors de la préparation de l'extrait éthanolique ou suite à l'ajout d'autres composants non déclarés, ainsi qu'une inapplication des règles de contrôle de qualité mettant ainsi la vie du consommateur au danger.

Mots clés : complément alimentaire, propolis, système immunitaire, anti inflammatoire.

Abstract

Much research have been based on the study of the mechanisms of action of propolis and its components involved in its biological activity. However, the effectiveness of a natural dietary supplement named "Propolis Powder" prepared from this precious product still deserves a study. Especially since, it has had a high consumption in Algeria from cancer patients to stimulate their immune defenses.

This study aimed to verify the effect of this supplement on the immune system in a murin model named « *Mus musculus* ». According to its mode of administration prescribed on the box, two volumes were supplied to the mice orally (100µl/g/bw, 200µl/g/bw) (x2 /Pd) for 10 days.

The results indicated a significant increase of body weight, of peritoneal macrophages, splenocytes and circulating monocytes. In contrast, a decrease in the number of thymocytes and blood cells has been reported. In addition, significant histological changes in the thymus, spleen, stomach, liver, and lungs confronted our previous findings.

On the other hand, after the administration of the two volumes of the product to mice for the first time and in one go before carrying out the anti-inflammatory activity test, the results showed an appreciable attenuation of the paw edema of mouse induced by formalin compared to Diclofenac.

According to these results, we approve the impact of this supplement on the immune system and on the body in general, which can be attributed to a lack of knowledge and proficiency in the field during the preparation of the ethanolic extract or following the addition of other undeclared components, as well as an inapplicability of the quality control rules, thus putting the consumer's life in danger.

Key words: dietary supplement, propolis, immune system, anti-inflammatory.

ملخص

استندت الكثير من البحوث على دراسة آليات عمل العكبر ومركباته المشاركة في نشاطه البيولوجي. ولذلك، فإن تأكيد فعالية المكمل الغذائي الطبيعي المسمى " بودرة العكبر " المستخلص من هذه المادة الثمينة يستحق دراسة. لا سيما وأنه عرف استهلاك كبير في الجزائر من قبل مرضى السرطان لتحفيز دفاعاتهم المناعية.

إن الهدف من هذه الدراسة هو التحقق من تأثير المكمل على الجهاز المناعي بتجربته على نوع من الفئران المخبرية وذلك بمناولة فئة منهم جرعة واحدة (100 ميكرو ليتر/غ / من وزن الجسم) والفئة الأخرى ضعف الجرعة (200 ميكرو ليتر/غ / من وزن الجسم) عن طريق الفم يوميا مدة 10 ايام وفق التعليمات المدونة في العلبه.

أشارت النتائج إلى زيادة معتبرة في وزن الفئران. كذلك في عدد البلعميات الكبيرة، الخلايا الطحالية ووحيدات الخلية الدموية. كما انه لوحظ انخفاضاً معتبراً في الخلايا السعترية ومختلف خلايا الدم. بالإضافة إلى ذلك، تغيرات نسيجية مهمة سجلت على مستوى الغدة السعترية والطحال والمعدة والكبد والرنيتين.

من ناحية أخرى، بعد إعطاء جرعتي المنتج الاعتيادية للفئران لأول مرة وبتجربة واحدة فقط قبل إجراء اختبار النشاط المضاد للالتهابات، أظهرت النتائج انخفاضاً ملموساً للوذمة الناجمة عن حقن الفورمالين في رجل الفأر مقارنة مع نشاط دواء مضاد للالتهاب (Diclofenac).

وفقاً لهذه النتائج، فإننا نؤكد التأثير السلبي لهذا المكمل على الجهاز المناعي وعلى الجسم بشكل عام، وقد ينسب هذا إلى نقص في المعرفة والكفاءة في المجال خاصة أثناء تحضير المستخلص الإيثانولي. أو إلى إضافة مكونات أخرى غير مُعلنة، وكذلك عدم الخضوع لقواعد ضبط الجودة، مما يعرض حياة المستهلك للخطر.

الكلمات المفتاحية: المكمل الغذائي، العكبر، الجهاز المناعي، مضاد الالتهابات.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

Alexandre M. (2012) : Complément alimentaire. Thèse doctorale en pharmacie, Université des sciences pharmaceutiques, Lille2 ; 100p.

Abbas A.K., Lichtman A.H. (2013) : Les bases de l'immunologie fondamentale et clinique. Hong-Kong. Elsevier Masson ; 283p.

Aosan C. (2015) : Abeilles : La propolis un cadeau polyvalent de la ruche ;168 : 28-31.

Almas k., Mahmoud A., Dahlan A. (2001): A comparative study of propolis and saline application on human dentin. A SEM study. Indian J. Dent. Res; 12(1): 21-27.

Avcı CB., Gündüz C., Baran Y., Sahin F., Yilmaz S., Dogan ZO., et al. (2011): Caffeic acid phenethyl ester triggers apoptosis through induction of loss of mitochondrial membrane potential in CCRF-CEM cells. J. Cancer Res. Clin. Oncol; 137(1):41-47.

Alyane M., Kebsa Lb., Boussenane H., Rouibah H., Lahouel M. (2008): Cardioprotective effects and mechanism of action of polyphenols extracted from propolis against doxorubicin toxicity. Pak J. Pharm. Sci; 21(3):201-209.

Benguedouar L., Boussenane H., Wided K., Alyane M., Rouibah H., Lahouel M. (2008): Efficiency of propolis extract against mitochondrial stress induced by antineoplastic agents (doxorubicin and vinblastine) in rats. Indian J. Exp. Biol; 46(2):112-119.

Banskota AH., Tezuka Y., ET Kadota S. (2001): Recent progress in pharmacological research of propolis .Phytother; 15:561-571.

Banskota AH., Nagaoka T., Sumioka LY. (2002): Antiproliferative activity of the Netherlands propolis and its active principles in cancer cell lines. Journal Ethnopharmacologie, 80: 67-73.

Bankova V., Castro DA. SL., Marcucci MC. (2000): Propolis: recent advances in chemistry and plant origin. Apidologie ; 31: 3-15.

Bourillon A., Carbanis E., Chapuis Y., Christoforov B., Friedman R., Gentilini M. Et al. (2013) : Larousse médical. Paris. Larousse (ed) ; 1113.

Burmester G., Pezzutto A., Ulrich T. & Aicher A. (2000) : Atlas de poche d'immunologie : bases, analyses biologiques, pathologies. Paris. Médecine Science (ed); 293p.

Barros MP., Sousa JP., Bastos JK., De Andrade.SF. (2007): Effect of Brazilian green propolis on experimental gastric ulcers in rats. *J. Ethnopharmacology* ; 110(3) :567-571.

Blanc M. (2010) : Propriétés et usage médical de produits de la ruche. Thèse doctorale en pharmacie, université de pharmacie-médecine, limoges ; 141.

Borrelli F., Maffia P., Pinto L., Lanaro A., Russo A., Capasso F., Et al. (2002): Phytochemical compounds involved in the anti – inflammatory effect of propolis extract. *Fitoterapia*; 73(1):53-63.

Cain D W., O'Koren E G., Kan M J., Womble M., Sempowski G D., Hopper K et al. (2013): Identification of a tissue-specific, C/EBP β dependent dathway of differentiation for murine peritoneal macrophages. *J. Immunol*; 11p.

Chopra S., Pillai KK., Husain SZ., Giri DK. (1995): Propolis protects against doxorubicin-induced myocardopathy in rats. *Exp. Mol. Pathol* ; 62(3) : 190-198.

Cuvillier A. (2015) : Les abeilles alliées de notre système immunitaire : Miel, Propolis, Gelée royale. Thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie, Université de Lille2 ; 90p.

Castaldo S., & Capasso F. (2002): Propolis, an old remedy used in modern medicine. *Fitoterapia* ; 73 :1-6.

Chatenoud L. & Bach J.F. (2012) : Immunologie 6ème édition. Paris. Lavoisier; 469p.

Çetin E., Silici S., Çetin N., Güçlü B K. (2009): Effects of diets containing different concentrations of propolis on hematological and immunological variables in laying hens. *Poultry Science*; 89(8):1703-8p.

Dey L., Zhang L., Yuan C S. (2002): Anti-diabetic and anti-obese effects of ginseng Berry Extract: Comparison between intraperitoneal and oral administrations. World Scientific publishing company. Vol.30: (4):645-647 p.

Debuyser E. (1983): La propolis. Thèse doctorale en pharmacie, Université de Nantes ; 82p.

Derevici A., Popescon A., Popesco N. (1966) : Nouvelles contributions à l'étude des propriétés biologiques de la propolis : Les annales de l'abeille. Paris. Inra(ed). ; 9(1) :47-54.

Donadiou Y. (2008) : la propolis .Paris. Dangles (ed) ; 96p.

Donadieu Y. (2006) : Aide-mémoire d'apithérapie. Santeractive. Paris ; 08p.

Donadieu Y. (1981) : Les produits de la ruche : Thérapeutiques naturelles. Chez l'auteur ; 15p.

Dombrowski jw., vohora sb., sharma k., Shah Sa., Naqvi SA., Dandiya PC. (1991): Antibacterial ,antifungal , antiamebic ,antiinflammatory and antipyretic studies on propolis bee products. *Journal of Ethnopharmacology*; 35(1) :77-82.

DANDIYA P.C., DOBROWOLSKI J.W., NAQUI S.A.H., SHARMA K., SHAUKAT A.S., VOHORA S.B. (1991): Antibacterial, antifungal, antiamebic, anti-inflammatory and antipyretic studies on propolis bee products. *Ireland. Journal of Ethnopharmacology*, Elsevier Scientific Publishers; 35.

Elkhawaga Oy., Salem At., & El shal Mf. (2003): Protective role of Egyptian propolis against tumor in mice. *Clinica Chimica Acta*; 338 (1/2):11-16.

Gregoris E., Stevanato R. (2010): Corrélations between polyphenolic composition and antioxydant activity of Venetian propolis. *Food and Chemical Toxicology*; 48(1):76-82.

Feng Li., Suresh A., Yatsushiro T., & Shigetoshi K. (2008): Cytotoxic constituent from brazilian red propolis and their structure relationship. *Biorganique & Medicinal chemistry review*; 16: 5434-5440.

Huleihel M., & Ishano V. (2004): Effect of propolis extract on malignant cell transformation by moloney murine sarcoma virus. *Arch. Virol*; 146(8):1517-1526.

Ghisalberti EL. (1979): Propolis. Review. *Beeworld*; 60(2): 59-84.

Ghedira K., Goetz P., Lejeune R. (2009): Propolis. *Phytothérapie Springer* ; 7 :100-105.

Ghosn EEB., Cassado AA., Govoni G R., Fukuhara T., YangY., Monack D M., Et al. (2009): Two physically, functionally, and developmentally distinct peritoneal macrophage subsets. *J. Immunol*; 107 (6) 2568-2573.

Huang WJ., Huang CH., Wu CL., Lin JK., Chen YW., Lin CL., et al. (2007): Propolin G, a prenylflavanone, isolated from Taiwanese propolis, induces caspase-dépendent apoptosis in brain cancer cells. *J. Agric. Food Chem* ; 55 (18) :7366-7376.

Jean-prost P., Et Le conte Y. (2005) : Apiculture : Connaitre l'abeille, conduire le rucher 7eme edition. France. Lavoisier (ed); 698p.

Jianchun S., Jing Z., Lin W., Juan XU., & Qiuhui Hu. (2007): Antioxydant activity of Ethanol and petroleum ether extracts from Brazilian propolis. Eur. Food Res. Technol; 249p.

Jae H P., Jong K L., Hyung SK., Seung TC., Juno HE., Kyung AK., et al. (2004): Immunomodulatory effect of caffeic & Acid phenetyl ester in Balb/c mice. Jr. Elsevier, international immunopharmacology; (4): 429-436.

Krol W., Scheller S., Shani J., Pietsz G., Czuba Z. (1993): Synergistic effect of ethanolic extract of propolis and antibiotics on the growth of staphylococcus aureus; 43(5) :607-9.

Krell R. (1996): Value- edded products from beekeeping. Food and agriculture organization of the United Nations. FAO Agricultural Services Bulletin. Rome; (5): 129p.

Kindt T.J., Glodby R.A & Obsorne B.A. (2007): Immunologie. Le cours de Janis Kuby avec questions de révision. Paris. Dunod (ed); 684p.

Kumazawa S., Hamasaka T., & Nakayama T. (2004): Antioxydant activity of propolis of various geographic origins. Food Chemistry; 84:329-339.

Khayyal MT., El-Ghazaly MA., & El-Khatib As. (1993): Mechanisms involved in the anti-inflammatory response of propolis extract. Drugs Exp. Clin. Res; 19(5):197-203.

Khayyal Mt., El-Ghazaly MA., El-Khatib AS., Hatem AM., de Vries PJ., el-Shafei S., El al. (2003): A clinical pharmacological study of the potential beneficial effects of a propolis food product as an adjuvant in asthmatic patients. Fundam. Clin. Pharmacology ; 17(1):93-102.

Kintzel, P., & Dorr. (1995): Anticancer drug renal toxicity and elimination: dosing guidelines for alerted renal function, cancer treat. Rev; (21):33-64.

Lydyard P., Whelan A. & Fanger M. (2002), L'essentiel en immunologie. Paris. Berti (ed) ; 384p.

Labro M.T. (2006) : Immunomodulation médiée par les agents antibactériens. France. Revue. Elsevier ; 259-264.

Male D., Brostoff J., Roth D.B., Roitt I. (2007) : Immunologie. Louvain. Elsevier Masson (ed) ; 587p.

Male D. (2005). Immunologie aide-mémoire. England. De boek.; 141p.

Mahmoud L. (2006): Biological activity of bee propolis in health and disease. Jr. Asian Pac. J. Cancer Prev; 7:22-31 p.

Mansoor AA., Noor J., Mahayrookh, Mehjabeen, Asif BR., Manzoor A., et al. (2011): Differential inhibitory potencies of alcoholic extract of different parts of *Dryopteris chrysocoma* on inflammation in mice and rats. Pakistan. Journal of pharmaceutical sciences Pakistan; (4):559-63 p.

Lautrette A., Darmon M., Megarbane B, Joly LM., Chevret S., Adrie C., Et al., (2007) : A communication strategy and brochure for relatives of patients dying in the ICU. N. Engl. J. Med; 12; 357(2):203.

Owen J.A., Pant J., Stranford S.A. (2014) : Immunologie : le cour de Janis Kuby : introduction, l'immunité innée, le système du complément, l'immunité adaptative : développement, l'immunité adaptative : réponses effectrices 7^{ème} édition. Paris. DUNOD (ed) ; 636p.

Orsatti Cl., Missima F., Pagliarone Ac., Sforcin JM. (2010): Th1/Th2 cytokines expression and production by propolis-treated mice. J. Ethnopharmacology; 129(3):314-318.

Orsi R.O., Soares A.M.V.C., Calvi S.A., Funari S.R.C., Oliveira S.L., Sforcin J.M., El al. (2000): Immunomodulatory action of propolis on macrophage activation .Venom. Anim. Toxins; 6(2):205-219.

Park Jh., Lee Jk., Kim Hs., Chung ST., Eom JH., Kim KA., El al. (2004): Immunomodulatory effect of caffeic acid phenethyl ester in Balb / c mice. Int. immunopharmacology; 4(3):429-436.

Parham P. (2003): The immune system. Paris, Bruxelles. De Boeck (ed) ; 407p.

Philippe JM. (1994): Le guide de l'apiculteur. Paris. Edisud ; 333p.

Pietta Pg., Gardana C., & Pietta A. (2002): Analytical methods for quality control of propolis. Fitoterapia ; 73: s7- s20.

Popolo A., Piccinelli Al., Morello S., Sorrentino R., Osmany CR., Et al. (2011): Cytotoxic activity of nemorosone in human MCF-7 breast cancer cells. *Can. J. Physiol. Pharmacol*; 89(1) :50-57.

Revillard JP. (2001) : *Immunologie*. Bruxelles. De boek (ed); 593p.

Rossi A., Ligresti A., Longo R., Russo A., Borrelli F., Sautebin L. (2002): The inhibitory effect of propolis and caffeic acid phenethyl ester on cyclooxygenase activity in j774 macrophages. *Phytomedicine*; 9(6):530-535.

Rüdiger T., Hartmann M., Müller-Hermelink H.K., Marx A. (2008): Inflammatory reaction types of the spleen. Karlsruhe .*The pathologist Springer medicine* (ed); 29(2):121-8p.

Scheller S., Gazda G., Pietsz G., Gabrys J., Szumlas J., Eckert L., et al. (1988): The ability of ethanol extract of propolis to stimulate plaque formation in immunized mouse spleen cells. *Pharmacol. Res. Commun*; 20:323–328 p.

Shigeniro K., Tomoka H., Tsutomu N. (2004): Antioxidant activity of propolis of various geographic origins. *Food Chemistry. Springer*; 84 :329-339.

Sourat 16 An Nahl « les abeilles » versets 68-69. p

Segueni N. (2011) : Contribution à l'étude de la composition chimique et des Propriétés biologiques de la propolis. Thèse doctorale, Université Mentouri, Constantine.

Sforcin JM. (2007): Propolis and the immune system. *Journal of ethno pharmacology*, 113:1-14.

Sforcin J.M A., Leomil L., Fernandes A.A.H., Fernandes Jr. (2001) : The antibacterial activity of propolis produced by *Apis mellifera* L. and Brazilian stingless bees. *The Journal of Venomous Animals and Toxins*; 7 :173–182.

Saroj P., Verma M., Jha K.K & pal M. (2012): An overview on immunomodulation. *Journal of advanced scientific research*; 3(1):07-12.

- Sauvager F., Amoros M., Simoes C M., Girre L., Cormier M. (1992):** Synergistic effect of flavones and flavonols against herpes simplex virus type 1 in cell culture. Comparison with the antiviral activity of propolis. *Journal of natural Products*; 55 :1732–1740.
- Szliszka E., Zenon PC., Czuba, MD., Bodgan M., Grzegorz Z., Wojciech K. (2009):** Ethanolic extract of propolis (EEP) enhances the apoptosis-inducing potential of TRAIL in cancer cells molecules; 14(2) :738-754.
- Shinmei Y., Yano H., Kagawa Y., Izawa K., Akagi M. Inoue T., *Et al.* (2009):** Effect of Brazilian propolis on sneezing and nasal rubbing in experimental allergic rhinitis of mice. *Immunopharmacology immunotoxicology*; 31(4):688-693.
- Seung H S., Sang G S., Soyun M., Hee Y., Eunjung L., Joe E S., *Et al.* (2014):** Caffeic Acid Phenethyl Ester, a Major Component of Propolis, Suppresses High Fat Diet-Induced Obesity through Inhibiting Adipogenesis at the Mitotic Clonal Expansion. *Korea. J. Agric. Food Chem.*; 62 (19):4306–4312.
- Sena-Lopes Â., Bezerra FSB., Das Neves RN., De Pinho RB., Silva MTdO., Savegnago L., et al. (2018):** Chemical composition, immunostimulatory, cytotoxic and antiparasitic activities of the essential oil from Brazilian red propolis. *J. pone*; 13(2) p.
- Savino W., Dardenne M., Velloso LA., Silva-Barbosa SD. (2007):** The thymus is a common target in malnutrition and infection. *England. . British journal of nutrition*; S11-S16p.
- Taheri H R., Rahmani H R., Pourreza J. (2005):** Humoral immunity of broilers is affected by oil-extracted propolis (OEP) in the diet. *Int. J. Poult. Sci*; 46:414–417p.
- Wright w & Philipson. (1990):** Natural products and the developement of sélective antiprotozoal drugs. *Phytother Res* ; 4 :127-139.
- Touvier M. (2006) :** Compléments alimentaires vitaminiques et minéraux : surveillance épidémiologique ; caractéristiques des consommateurs et association avec le risque de cancer. *Faculté de médecine, Nancy. France.*
- Tosi-Enzo A., Ciappini-Maria C., Cazzolli, Ampelio F., Tapiz, Luis M. (2006):** Physico chemical characteristics of propolis collected in Santa Fe (Argentina). *APIACTA*; 41 : 110-120.

Viuda-Martos M., Ruiz-Navajas Y., Fernandez LJ., Perez-Alvarez JA. (2008) : Functional properties of honey, propolis, and royal Jelly. *Journal of Food Science*; 73 (9) : R117-R124.

Weill B., & Batteux F. (2003): Immunopathologie et réactions inflammatoires. Bruxelles. De boek (ed), Bruxelles ; 310p.

Weng Ms., Liao Ch., Chen Cn., Wu Cl., Lin Jk. (2007): Propolin H from Taiwanese propolis induces G1 arrest in human lung carcinoma cells. *J. Agric. Food Chem*; 55 (13) : 5289-5298.

Zerbato M. (2010) : Intérêt du dosage par microméthode de la Protéine C réactive au cabinet de pédiatrie, Université de Nancy. France ; 61p.

Webographie

[1] : Anonyme.

http://publications.msss.gouv.qc.ca/msss/fichiers/piq/html/web/Fonctionnement_systeme_i mmu.htm 1.1.2.3 Fonctionnement du système immunitaire (consulté le :17/03/2018) .

[2] : **Didier FRADELIZI** .

<https://www.universalis.fr/encyclopedie/therapeutique-immunoregulation/2-immunomodulation/> (consulté le : 17/03/2018)

[3] : **Christophe BERNARD** .

<https://www.altheaprovence.com/blog/plantes-stimulantes-du-systeme-immunitaire/>
(consulté le : 18/03/2018)

[4] : Anonyme .le complement alimentaire bio

<http://www.mon-complement-bio.com/#1458658525789-d5b0f410-79a9>

(consulté le 18/03/2017)

[5] : Anonyme . LA PROPOLIS, DES VERTUS INDÉNIABLES

<https://www.moncornerb.com/fr/content/91-on-vous-dit-tout-sur-la-propolis-bio>

(consulté le : 18/03/2018)

[6] : **Figure**

https://www.google.dz/search?tbm=isch&source=hp&biw=1093&bih=460&ei=uWP_WoXvIYv2UJagmOgG&q=la+r%C3%A9colte+de+la+propolis+par+les+abeilles&oq=la+r%C3%A9colte+de+la+propolis+par+les+abeilles&gs_l=img.3...1736.10632.0.10748.44.16.0.28.28.0.166.1704.0j12.12.0....0...1ac.1.64.img.4.15.1742.0..0j35i39k1j0i30k1j0i24k1.0.6AS6XO9dAEA#imgdii=Hq9tQp7h-a4VoM:&imgcr=IoQ7uD6QuQ-foM:

(consulté 19/05/2018)

[7] : **Anonyme.**

<http://www.lesfustesdecoyac.fr/> consulté le (19/05/2018)

[8] : **Anonyme.** La propolis .

<http://www.propolis.fr/fr,introduction-et-generalites-propolis.html>

consulté le (19/05/2018)

[9] : **Anonyme** .

<http://www.bien-etre-au-naturel.fr/propolis-resine-bonne-sante/> consulté le (19/05/2018)

[10] : **Figure.23** (consulté le 20/05/2018)

Figure :A

https://www.google.dz/search?hl=fr&biw=1093&bih=460&tbm=isch&sa=1&ei=hWf_Wo mJAaWcgAbM85i4BA&q=pinus+sp&oq=pinus+sp&gs_l=img.3..0l2j0i30k112j0i8i30k113 .2216182.2221148.0.2221622.55.16.0.0.0.0.474.1472.0j4j0j1j1.6.0...0...1c.1.64.img..50.5. 1304.0..35i39k1j0i67k1.0.ZOMEKY_xO-g#imgrc=MsVppj1NrsDJ7M:

Figure :B

https://www.google.dz/imgres?imgurl=https%3A%2F%2Fkrapooarboricole.files.wordpress.com%2F2011%2F02%2Fchc3aane-lic3a8ge-de-reynes-1.jpg&imgrefurl=https%3A%2F%2Fkrapooarboricole.wordpress.com%2F2011%2F02%2F14%2Fle-vieux-chene-liege-de-reynes-pyrenees-orientales%2F&docid=5y5qApf5YKh7fM&tbnid=D_Me45pBtHY-JM%3A&vet=10ahUKEwjOoOqjw5DbAhVLZ8AKHUGzDNgQMwg3KAQwBA..i&w=900&h=1200&hl=fr&bih=460&biw=1093&q=ch%C3%A9ne%20li%C3%A9ge&ved=0ahUKEwjOoOqjw5DbAhVLZ8AKHUGzDNgQMwg3KAQwBA&iact=mrc&uact=8

Figure : C

https://www.google.dz/search?hl=fr&biw=1093&bih=460&tbm=isch&sa=1&ei=J3L_WtD wAsnDgAbPv4f4Cg&q=ch%C3%A9ne+zeen+alg%C3%A9rie&oq=ch%C3%A9ne+zeen +alg%C3%A9rie&gs_l=img.3...79796.82912.0.83170.8.8.0.0.0.0.208.1010.0j5j1.6.0...0... 1c.1.64.img..2.0.0...0.cfMK9-0_928#imgrc=ZzZ_Oi-Chw-xgM

Figure : D

<http://www.algeriemesracines.com/loisirs/ramassage-chataignes.php>

Figure : E

<http://www.algerie-dz.com/forums/archive/index.php/t-233174.html>

[11] : **Cristina Mateescu** . Apimondia ‘fédération internationale des associations apicoles).commission scientifique apithérapie (définition).

[http:// www.apimondia.com/fr/activities/commissions-scientifiques/apithérapie](http://www.apimondia.com/fr/activities/commissions-scientifiques/apithérapie).

(consulté le 20/05/2018)

[13] : **Figure**

<http://www.herbesan.fr/categorie-produit/produits-de-la-ruche/> (consulté le 20/05/2018)

[14] : **Anonyme** . la propolis

<https://www.delicesdesabeilles.fr/10-forme-et-vitalite> (consulté le 21/05/2018)

[15] : **Bernard NICOLLET** . Apipuncture en Apithérapie et venin d’abeille .

<http://www.abeille-et-nature.com/index.php?cat=Apitherapie&page=apipuncture>

(consulté le 22/05/2018)

[16] : *El Watan Le complément alimentaire*

<http://emerging-africa.org/public/index.php/fr/article/actualite/algerie-une-reglementation-pour-protoger-les-consommateurs-marche-des-complements-alimentaires> (consulté le 22/05/2018)

[17] : **Anonyme** . compléments alimentaires .

<http://www.cnpm.org.dz/index.php/d%C3%A9claration/compl%C3%A9ments-alimentaires.html>

(consulté le 20/05/2018)

[18] : **Anonyme** . compléments alimentaires .

<http://www.cnpm.org.dz/index.php/d%C3%A9claration/compl%C3%A9ments-alimentaires.html> (consulté le 20/05/2018)

[19] : **Figures**

<https://www.easyparapharmacie.com/sante-et-nutrition/complements-alimentaires/produits-de-la-ruche.html> (consulté le 20/05/2018)

[20] : **Anonyme** . La réaction inflammatoire . Les inflammations

http://campus.cerimes.fr/anatomiepathologique/enseignement/anapath_3/site/html/cours.pdf . (consulté le 21/05/2018)

[21] : **Elisabeth de la fontaine**

<http://www.anachronique.fr/blog/?p=3450> (consulté le 8/11/2018)

[22] : **B.LELOUTRE,C.BOYER,R.PUY,C.MAFFIOLO,**

N.BOSSON,A.GEOFFRAY . Fondation Lentral - Nice .

<http://pe.sfrnet.org/Data/ModuleConsultationPoster/pdf/2004/1/65e69c32-2a7c-4500-a5c9-dcb9e60644b4.pdf> (consulté le 10/05/2018)

[23] : **Anonyme**.

<https://www.nature.com/subjects/peritoneal-macrophages> (consulté le 10/05/2018)

[24] : **Association des Collèges des Enseignants d'Immunologie**

des Universités de Langue française . Réaction inflammatoire .

http://campus.cerimes.fr/immunologie/enseignement/immuno_112/site/html/cours.pdf
(consulté le 06/06/2018)

[25] : **Jeff**.

<https://sante-medecine.journaldesfemmes.fr/faq/14087-polynucleaires-neutrophiles-elevés-ou-bas> (consulté le 06/06/2018)

Annexe

Solutions utilisées

Solution de PBS

Na Cl	8 g
Na ₂ HPO ₄	1.15 g
KH ₂ PO ₄	0.1 g
K Cl	0.1 g
Eau distillée	1000 ml

Solution de lyse

NH ₄ Cl	0.83 g
Eau distillée	100 ml

H Cl 0.1 Normalité

H Cl	0.93 ml
Eau distillée	90.7 ml

Na OH 0.1 Normalité

Na OH	0.4 g
Eau distillée	100 ml

Produits et colorants utilisés pour la réalisation des coupes histologiques

Formol (10%).

Ethanol.

Hématoxyline de Mayer.

Eosine.

Paraffine.

Eukitt.