

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



Université de Jijel
Faculté des Sciences



Département de Biochimie et de Microbiologie

Mémoire
de Fin d'Etude en Vue de l'Obtention du Diplôme des
Etudes Supérieures en Biologie Moléculaire et Cellulaire.

Option : Microbiologie

MB 02106

Thème



Les membres de jury :

- Président : M^r. LAHOUEL Mesbah
- Examinatrice : M^{lle}. LAGGOUNE Souheila
- Encadreur : M^{me}. ROULA Sagia



Réalisé par :

- ✎ CHIDEKH Leila
- ✎ MEGHZILI Messaouda
- ✎ TAGHLIL Habiba

Promotion 2006

Remerciement

Tout d'abord nous remercions Dieu tout puissant d'avoir nous donné la force, la patience et la volonté pour accomplir ce modeste travail.

Nous tenons à exprimer notre profonde gratitude à M^{me} ROULA Sagia qui nous a proposé ce sujet de recherche, et qui nous a encadré et soutenue par ses conseils, sa compréhension et sa gentillesse.

Notre vifs remerciements s'adresse aussi à M^r SEBTI M^{ed} pour ses précieux conseils, ses encouragements et leur aide.

Notre reconnaissance vont également à :

❖ M^r LEHOUEL. M

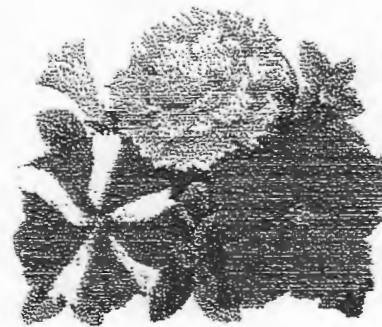
❖ M^r ROUIKHA

En fin nous remercions les membres de jury de bien vouloir examiner et critiquer le contenu de notre mémoire.

Leila,

Messaouda,

Habiba



Sommaire

Introduction	01
Partie bibliographique	
I- la propolis	02
I-1- Définition-historique	02
I-2- Origine.....	03
I-3- La récolte.....	03
- Par les abeilles	03
- Par l'apiculteur	04
I-4- Composition chimique	04
I-5- Propriétés physico-chimique	05
I-6- Propriétés biologiques et pharmacologiques.....	06
I-6-1- Propriétés antimicrobiennes.....	06
I-6-2- propriétés antioxydants	06
I-6-3- Propriétés cicatrisantes.....	07
I-6-4- Propriétés anesthésiques	07
I-6-5- propriétés immunitaires.....	07
I-6-6- Propriétés cardiovasculaires.....	07
I-6-7- Propriétés antifongiques.....	07
I-6-8- Propriétés antigerminalives.....	08
I-7- Utilisation	08
I-8- Conservation.....	09
II- Les infections urinaires.....	10
II-1- Le mécanisme	10
a- La voie ascendante ou rétrograde.....	10
b- La voie lymphatique.....	11
c- La voie hématogène	11
II-2- Aspects cliniques des infections de l'appareil urinaire.....	11
a- La cystite	11
b- La pyélonéphrite	11
II-3- Les germes responsables.....	12

III- <i>Escherichia coli</i>	13
III-1- L'habitat.....	13
III-2- Morphologie	13
III-3- Caractères culturels et métaboliques	13
III-4- Caractère antigéniques.....	14
III-5- Pouvoir pathogène	14
III-6- Pouvoir pathogène expérimental	14
III-7- Sensibilité aux antibiotiques.....	14
IV- Le rat de laboratoire	15
III-1- Organisation interne du rat	15
III-2- Anatomie de l'appareil urinaire	15

Partie Pratique

I- Matériels	16
I-1- Matériel biologique	16
a- La souche bactérienne	16
b- Les rats	16
c- La propolis.....	16
I-2- Autres matériels.....	16
I-3- Produits chimiques et réactifs.....	16
II- Méthode	18
II-1- Première expérience	18
II-1-1- Anesthésie et préparation de l'animal	18
II-1-2- Réalisation de la pyélonéphrite rétrograde	18
II-2- Deuxième expérience	20
II-2-1- La première étape	20
II-2-2- La deuxième étape : réalisation d'un modèle de cystite	20
II-2-2-1- Surveillance clinique du rat A	21
II-2-2-2- Bactériologie des urines	21
II-2-2-3- Dosage de la créatinine sérique et urinaire.....	21
II-2-2-4- Hemoculture	23
II-2-3- La troisième étape.....	23

III- Les résultats	25
III -1- Première expérience.....	25
III-2- Deuxième expérience.....	26
III-2-1- Première étape	26
III-2-2- Deuxième étape	26
III-2-2-1- Surveillance clinique des animaux.....	26
III-2-2-2- Bactériologie des urines	26
III-2-2-3- Dosage de la créatinine sanguine et urinaire	26
III-2-2-4- Hémoculture.....	28
III-2-3- Troisième étape	29
III-2-3-1- Surveillance clinique du rat A.....	29
III-2-3-2- Etude bactériologique des urines	29
III-2-3-3- dosage de la créatinine sanguine et urinaire	29
Discussion	32
Conclusion	34
Références bibliographiques	
Annexes	

Liste des tableaux

Tableau I : Composition chimique de la propolis	05
Tableau II : Mode opératoire du dosage de la créatinine	23
Tableau III : Profil biochimique d'E. coli.....	25
Tableau IV : Variation de la concentration de la créatinine sanguine (mg/l) au cours de l'infection.....	27
Tableau V : Variation de la concentration de la créatinine urinaires (mg/l/24h) au cours de l'infection	28
Tableau VI : Variation de la concentration de la créatinine sanguine (mg/l) lors du traitement	29
Tableau VII : Variation de la concentration de la créatinine urinaire (mg/l/24h) lors du traitement.	30

Liste des figures

Fig. 01 : Injection interne de la suspension bactérienne dans le rein gauche.....	19
Fig. 02 : Suture de la peau de rat.....	19
Fig. 03 : Injection infectante de rat A.....	20
Fig. 04 : Prélèvement du sang à partir de sinus rétro-orbital de l'œil.....	22
Fig. 05 : Administration de la propolis.....	24
Fig. 06 : Identification biochimique d' <i>E. coli</i> dans le rein droit.....	26
Fig. 07 : Variation de la concentration de la créatinine sanguine (mg/L) au cours de l'infection.....	27
Fig. 08 : Variation de la concentration de la créatinine urinaire (mg/L/24h) au cours de l'infection.....	28
Fig.09 : Variation de la concentration de la créatinine sanguine (mg/L) lors du traitement.....	30
Fig. 10 : Variation de la concentration de la créatinine urinaire (mg/L/24h) lors du traitement.....	31

Liste des abréviations

E. coli : *Eschérichia coli*

mn : Minute

Fig. : Figure

LDC : Lysine décarboxylase

ODC : Ornithine décarboxylase

ADH : Argemine dihydrolase

VP : Voges Proscawer

h: Heure

+ : Positif

- : Négatif

Introduction

Introduction:

Depuis quelques années, la recherche de nouveaux médicaments destinées à lutter contre des maladies, s'oriente vers la mise en évidence de principes actifs existants dans la nature [45].

C'est ainsi que l'étude des plantes et des animaux, ainsi que leur environnement, est devenue pour les chercheurs une source d'inspiration pour concevoir ces molécules bioactives [11].

L'étude de l'abeille et de ses moyens de défense permet la découverte des substances bioactives, entre autre la propolis. Cette dernière composée essentiellement de flavonoïdes [11], a fait l'objet de nombreuses études pour la mise au point de produit pouvant avoir une activité antibactérienne [25].

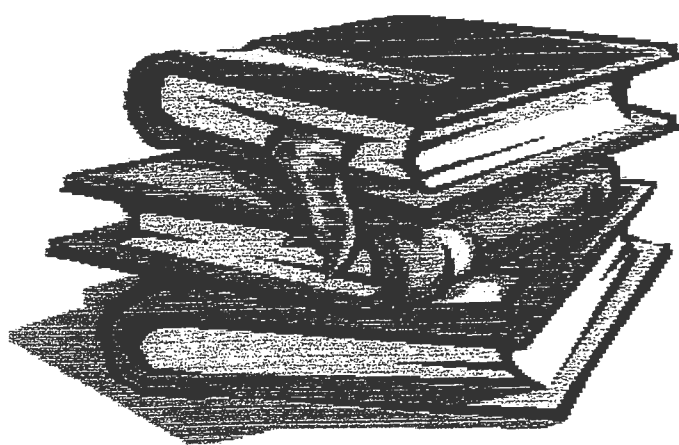
Dans le cadre de la santé la propolis présente l'avantage d'être un antibiotique naturel aussi efficace que ceux généralement utilisés, puisqu'elle agit avec une redoutable efficacité sur plusieurs germes (*staphylococcus*, *E. coli*...). Elle a une grande polyvalence et aucune contre indication [44].

Parmi les recherches dans le domaine médicale, les travaux réalisés en URSS sous l'égide de l'institut de recherche vétérinaire et médicale de KAZAN, les laboratoires effectuant des recherches sur l'emploi de la propolis dans le but de renforcer l'immunité des animaux aux épidémies et parasites, ces expériences révélèrent que la propolis accélère la guérison de quelques maladies et infections [40].

Notre travail se situe dans ce cadre ,il s'intéresse à l'étude de l'activité antibactérienne de la propolis algérienne de la région de Kaous, en déterminant l'efficacité de cette propolis in vivo sur un modèle de pyélonéphrite rétrograde expérimentale réalisés par injection d'une suspension d' *Escherichia coli* dans le bassinnet du rein gauche et un modèle de cystite provoquée par administration de la suspension bactérienne par sondage vésicale chez des rats de souche "wistar".

Partie

Bibliographique



I- Propolis

I- La propolis

I-1- Définition et historique

La propolis est une substance résineuse, gommeuse, balsamique [8], et aromatique de consistance visqueuse, translucide et très coulante, recueillie par les abeilles sur certaines parties des végétaux (essentiellement les bourgeons et les écorces de certains arbres) [25].

Les abeilles emmènent cette résine dans la ruche où un autre groupe d'abeille lui ajoute certaines salives en la transformant en un mastic pour pouvoir enduire l'entrée de la ruche et les cadres pour qu'il n'ait pas de courant d'air à l'intérieur de leur demeure, d'autre part une fine couche pelliculaire est déposée aussi dans les alvéoles où les reines pondent les œufs pour désinfecter et pour qu'il n'y ait pas de maladie nommée *Bacillus larvea* [29].

Elle est utilisée aussi à de nombreuses fins :

- ❖ Pour colmater les fissures de la ruche et assurer son étanchéité à l'eau [12].
- ❖ Pour consolider les cellules et fixer les cadres [4].
- ❖ Pour recouvrir les animaux qui auraient pénétré à l'intérieur de la ruche et auraient été tués par les gardiennes [4].
- ❖ Les abeilles l'utilisent également pour construire des sortes de chicanes à l'entrée de la ruche. Elles permettent de barrer l'entrée aux rongeurs et aux sphynx " tête - de-mort ", gros papillons amateurs de miel [17].
- ❖ Elle est responsable de la faible incidence des bactéries et moisissures à l'intérieur de la ruche [11].
- ❖ Il faut noter encore, la présence de la propolis sur les rayons de cire bâtis par les abeilles (elle est responsable en partie de la coloration de la cire) [12].

Le mot "propolis" est d'origine grecque et signifie "pro" devant et "polis" cité, en se référant aux observations des apiculteurs qui voyaient cette résine à l'entrée de la ruche " devant la cité ". cette résine nommée la propolis est utilisée depuis les temps les plus reculés à cause de ses propriétés antibactériennes, immunostimulantes, cicatrisantes [47]. Les Grecques l'ont utilisé pour traiter les suppurations et leurs anciens textes disent que les médecins l'utilisaient pour la fabrication des baumes, ainsi que les textes hébreux qui décrivent ses propriétés thérapeutiques, les Romains l'ont donné à tous les soldats pour soigner les blessures pendant les guères et les

Européens utilisent les préparations médicales à base de la propolis pour les traitements des maladies de la bouches et de respiration [23].

I-2- Origine

La propolis est d'origine complexe, elle peut être double d'après les différents auteurs :

Origine externe (la récolte sur les bourgeons d'arbres), et une origine interne (la propolis serait un résidu provenant de la première phase de la digestion du pollen et régurgité pour l'abeille) [12].

Les principales essences d'arbre connues pour être productrices de cette substance sont représentées par différents Conifères et aussi d' autres espèces (le Peupliers ,le Bouleau, le Châtaigne et l' Aulne [33], le Sapin, le Marronnier d'Inde, le Pin, le Cyprès et le Saule) [4].

Les différentes origines de la propolis expliquent sa grande variabilité de couleur, de l'odeur et de la composition chimique [23].

I-3- La récolte

- Par les abeilles

La récolte de la propolis est faite par un nombre restreint d'abeilles ouvrières butineuses (qui sont dans la dernière partie de leurs existences). Ces ouvrières sont très spécialisées dans cette activité puisqu'elles ne semblent pratiquement effectuer aucun autre travail au sein de la colonie (la récolte du nectar par exemple, et cela même si la demande s'en fait sentir). Leur travail se limite au colmatage de l'intérieur de la ruche [25].

Cette récolte s'effectue schématiquement de la façon suivante :

- ✓ La butineuse fait d'abord usage de ses antennes pour situer la partie la plus intéressante de la source. Ensuite elle l'attaque avec ses mandibules, enfin elle détache la particule saisie [25].
- ✓ Elle l'entasse dans l'une des corbeilles de ses pattes postérieures (3^{ème} paire) à l'aide de ses autres pattes pour accumuler ainsi progressivement une pelote (qui est en général un peu plus petite qu'une pelote de pollen) qu'elle rapportera à la ruche [25].

Au retour à la ruche, la butineuse de propolis est déchargée de sa récolte par d'autres ouvrières, le plus souvent à l'endroit même où la substance est utilisée. C'est une opération longue qui peut durer une à plusieurs heures [25].

- Par l'apiculteur

On peut produire expérimentalement de la propolis en introduisant une planche non rabotée dans la ruche. La récupération s'effectue facilement en raclant le bois avec un couteau à mastic. Il est préférable d'opérer par température assez basse, la propolis se détache et se casse plus facilement [46], mais cette propolis de raclage n'est pas d'une qualité optimale, car elle contient de la cire, des particules de bois et de métal. De plus, elle peut être assez vieille (très sombre) et partiellement dégradée [8].

Pour une récolte systématique, il est recommandé d'utiliser des grilles à propolis, les meilleurs sont en plastique mou, constituées de nombreux petits interstices que l'abeille va chercher à combler. Cette grille se place sur la tête des cadres, souvent après la récolte. A ce moment, la température aura diminué et la propolis sera abondante et nouvelle [8].

Pour la récolte, il suffira d'enlever la grille et de la placer dans un réfrigérateur ou un surgélateur. Au froid, la propolis devient cassante et la torsion de la grille décrochera les petits morceaux [8].

Elle est dès lors utilisable et peut être commercialisée sous cette forme brute [8].

I-4- Composition chimique

La composition chimique de la propolis a éveillé l'intérêt de nombreux chercheurs. Plusieurs travaux ont été effectués sur des propolis de différents pays et ont abouti aux conclusions suivantes : la composition chimique de la propolis varie selon l'origine botanique[6,14], l'espèce d'abeille [34], le temps de la récolte [35] et la zone géographique [47].

La cire d'abeille se trouve dans la propolis affecte aussi sa composition chimique, plus il y a de la cire et plus la propolis est moins bonne [47], mais elle présente tout de même qualitativement de nombreuses substances, qui s'y retrouvent de façon constante et relativement stable [40].

Jusqu'à présent, il a été fractionné et identifié de très nombreux constituants comme le montre le tableau I, mais la classe des flavonoïdes reste la plus principale, car on dénombre dans une propolis pas moins de 60 flavonoïdes et qui possèdent une énorme propriété dans leur activité biologique [37].

Tableau I : Composition chimique de la propolis

Classe des composés	Groupes des composés	Références
Résines	45 à 55%	
	- Flavonoïdes - Acides phénoliques et leurs esters	[6, 23] [6, 30]
Cire	25 à 35%	[23]
Huile essentielle	10%	[6, 23]
Pollen	5%	[23]
Autres composés organiques	- Traces de minéraux : calcium, magnésium, fer, zinc, silice, potassium, phosphore, manganèse	[23]
	- Les vitamines : A, B1, B2, C, E, H et la vitamine PP.	[23] [30]
	- Acides benzoïques et leurs esters	[23, 30]
	- Sucres	[6]

I-5- Propriétés physico-chimique

La couleur de la propolis s'étend selon sa provenance de jaune au noir avec tout les intermédiaires de bruns: brun-jaune ; en général très délicate liée aux résines aromatiques qu'elle contient [40].

La propolis se présente sous l'aspect d'une substance de consistance variable en fonction de la température. Dure et friable à 15°C [25], elle devient molle et malléable aux alentours de 25°C à 45°C, mais le point de fusion peut aller jusqu'à 100°C et plus [23].

La propolis est insoluble dans l'eau, elle est soluble partiellement dans l'alcool (éthanol, méthanol), l'acétone, l'ammoniaque, le benzène, le chloroforme, l'éther, le glycol, le trichloréthylène... [39].

Un mélange adéquat de différents solvants permet de dissoudre la quasi-totalité de ces composants [40].

I-6- Propriétés biologiques et pharmacologiques

Chaque propolis peut avoir des propriétés spécifiques en fonction de plusieurs facteurs tels que l'origine botanique, l'espèce d'abeille, etc [25]. Parmi les propriétés moyennes, c'est à dire les mieux connues et les plus souvent rencontrées, on trouve :

I-6-1- Propriétés antimicrobiennes

Les propriétés de la propolis à la fois sont bactériostatiques et bactéricides, étendues et importantes sur de nombreuses souches microbiennes, en particulier :

Sur certains Staphylocoques, Streptocoques et Salmonelles , sur *Bacillus subtilis* , *Proteus vulgaris* et sur *Escherichia coli* (colibacille) [40].

Ces propriétés antimicrobiennes, qui sont d'ailleurs souvent différentes selon le mode d' expérimentation de la propolis c' est à dire expérimentée « in vitro » ou « in vivo », semblent être directement proportionnelles à sa concentration et seraient en rapport entre autre avec les substances qu'elle contient [40].

I-6-2- propriétés antioxydantes

Les flavonoïdes concentrés dans la propolis ont un énorme pouvoir antioxydant et ils sont capables de détruire les antiradicaux libres en protégeant les lipides et autre substances comme la vitamine C [47].

C'est pour cette raison qu'on recommande la prise de la propolis au même temps que de la vitamine C [47]. Il est probable que les radicaux libres avec d'autres facteurs sont responsables de la dégradation cellulaire comme par exemple dans le cas de maladies cardiovasculaires, d'arthrites , du cancer, du diabète, etc [18, 23].

I-6-3- Propriétés cicatrisantes

La propolis a démontrée qu'elle possède un effet stimulant sur le métabolisme cellulaire, la circulation, et la formation du collagène et en même temps, en temps record répare l'épiderme abîmé [18, 23]. Ces propriétés proviennent de la flavonoïde arginine qui est un composant de la propolis [47].

I-6-4- Propriétés anesthésiques

La propolis avec ses composants est un très puissant anesthésique, et les études ont démontré que cette résine est trois fois plus anesthésiante que la cocaïne et 52 fois plus puissante que la procaine dans les tests sur les cornées de lapin [18].

I-6-5- Propriétés immunitaires

La propolis démontre une très grande activité immunitaire sur certains virus [32]. Tout récemment, les chercheurs japonais ont démontré que les extraits de la propolis sont responsables d'activation macrophagotiques, en activant les réponses immunitaires de l'organisme humain. La propolis active les cellules immunitaires qui commencent à produire les cytokines [47].

I-6-6- Propriétés cardiovasculaires

Les concentrations importantes de l'extrait de la propolis diminue la tension sanguine et produisent un effet sédatif en maintenant le niveau de sérum de glucose dans le sang [22]. Les dihydroflavonoïdes, contenus dans la propolis renforcent les capillaires, et produisent une activité antihyperlipidique [47].

La propolis est aussi un grand secours dans le cas d'alcoolémie en vue de protection de foie, et le tetrachloride chez les rats [13].

I-6-7- Propriétés antifongiques

Cizmark et Trupl ont étudié l'action de la propolis sur différentes levures et il ressort des résultats de cette étude que la propolis exerce une nette inhibition sur le développement de ces levures ainsi que les moisissures (*penicillium*, *pericystisapis*) [12].

I-6-8- Propriétés antigermminatives

De nombreuses expériences ont montré l'action inhibitrice de la propolis sur la germination de certains végétaux et tout spécialement sur le chanvre, la laitue et la pomme de terre, propriétés qui pourraient bien avoir un jour ou l'autre des prolongements dans le cadre de l'alimentation [12].

I-7- Utilisation

Les propriétés de la propolis lui ouvrent des possibilités d'utilisations dans des domaines multiples et variés qui peuvent nous surprendre [40].

En médecine le traitement de la douleur avec la propolis est effectivement très efficace. Cette propriété est exploitée depuis de nombreuses années [40].

Aujourd'hui la pharmacologie de la propolis est très vaste, on l'utilise le plus couramment en Oto-Rhino-Laryngologie (angines, pharyngites, rhinites, sinusites, otites...), en stomatologie(stomatites,gingivites, infections dentaires...) et en dermatologie [8].

Les traitement cliniques de la propolis sont souvent utilisés chez des infections microbiennes [30], surtout au niveau des différents étages de l'arbre urinaire (reins et vessie essentiellement) [40].

La propolis pourrait remplacer avantageusement beaucoup d'autres médicaments. Des professeurs expliquent, par exemple, que c'est un excellent produit pour soigner les blessures. On pourrait dire qu'une solution alcoolique de propolis pourrait remplacer le mercurochrome dans l'armoire d'un apiculteur [17].

Outre la médecine, la propolis servait également dans la fabrication des produits commerciaux qui sont en majorité des compléments alimentaires, produits de soins (pastilles, tablettes, crèmes, baumes, suppositoires) et d'hygiène (shampooing, savons, dentifrice) ainsi que les préparations magistrales en pharmacie (suppositoires, onguent, emplâtres) souvent la propolis est mélangée avec d'autre produits de la ruche pour lui rendre encore plus grande efficacité thérapeutique. Au Japon il est permis de rajouter la propolis pour la conservation des poissons surgelés [23].

Elle est utilisée aussi dans la fabrication des vernis pour instruments de musique, pour cacheter les bouteilles et pour cirer le matériel apicole, c'est un excellent produit antirouille[17].

I-8- Conservation

La propolis est un produit stable et inaltérable dans le temps, si elle est conservée dans les flacons opaques et à une température ambiante et à l'abri de la lumière, encore plusieurs années, elle ne perd pas ses propriétés pharmacologiques et antibiotiques [23], et sa teneur en composants chimiques reste la même, mais nous pensons, que pour obtenir de meilleurs effets et résultats, il faut toujours mieux l'utiliser la plus fraîche possible [25].

II- Les infections

urinaires

II- Les infections urinaires

Les maladies infectieuses résultent de l'agression de l'organisme par un être vivant microscopique ou macroscopique [36]. Celles qui ont une extrême fréquence sont les infections de l'appareil urinaire [31]. Ce dernier est chargé d'éliminer à l'extérieur de l'organisme, les déchets et substances toxiques déversés dans le sang par le travail des divers organes et tissus. Le rôle d'élimination est dévolu à deux organes glandulaires, les reins qui éliminent leur produit de filtration et de sécrétion, « l'urine » grâce aux voies urinaires [38]. Les urines vésicales sont normalement stériles [20, 28,31], elles forment un assez mauvais milieu de culture pour les germes. La présence de germes dans l'urine spontanément émise par miction ne signifie en aucune façon qu'il existe une infection de l'appareil urinaire. En effet, le méat et les premiers centimètres de l'urètre sont habités par des germes saprophytes, mais le reste de l'appareil urinaire est parfaitement stérile [31].

Le prélèvement des urines destiné à un examen bactériologique ne se faisant en routine que par miction spontanée, on est obligé d'accepter un certain nombre de germes sans pour autant qu'il s'agisse d'une infection de l'appareil urinaire lui-même. Ces urines sont discrètement septiques, mais l'appareil urinaire est stérile [31]. Donc il est possible de distinguer une bactériurie pathologique d'une contamination par des germes non pathogènes de l'urètre [20]. En interprétant le nombre et la nature des germes présents par ml d'urine [31].

II-1- Le mécanisme

Les mécanismes qui aboutissent à la constitution d'une infection urinaire sont nombreux et varient d'un patient à l'autre, les modes de contamination sont également variés et la flore endogène est en pause dans la majorité des cas [28].

Trois voies de pénétration des germes sont possibles :

a- La voie ascendante ou rétrograde

Les germes d'origine intestinales ou cutanée (le plus souvent *E. coli*) qui siègent au niveau de l'orifice urinaire [21] ou colonisent l'extrémité de l'urètre [3, 28], peuvent gagner la vessie par le flot des urines [3, 27].

Cette atteinte peut rester isolée ou être à l'origine d'une infection des voies urinaires supérieures, celle-ci se fait par voie canalaire et cette propagation ne peut se produire que s'il existe un reflux vésicorénel [21].

b- La voie lymphatique

Les germes intestinaux traverseraient les anastomoses lymphatique entre le colon et le rein droit et pourraient alors se développer et entraîner une infection des voies urinaires [21].

c- La voie hématogène

Les germes provenant de gîtes microbiens divers arrivent au rein par la voie sanguine, ce mécanisme est rarement invoqué (environ 10% des infections des voies urinaires) et correspond à des localisations secondaires de bactériémie ou de septicémie à staphylocoques voire à bacille à Gram négatif [21].

II-2- Aspects cliniques des infections de l'appareil urinaire

Il y a plusieurs possibilités pour classer les infections de l'appareil urinaire : les infections basses et les infections hautes, infections de la femme et infections de l'homme ...

Pour le clinicien, il est plus simple d'adopter une classification basée sur les organes infectés : cystites, pyélonéphrites... [31].

a- La cystite

C'est une inflammation aiguë ou chronique de la vessie [15]. Les signes d'une cystite sont bien connus : brûlures urinaires, pollakiurie, parfois hématurie due à un purpura de la muqueuse vésicale, absence de fièvre et surtout la présence de germes dans les urines [31]. Elle évolue habituellement de façon régressive en quelques jours [3].

Cette infection basse peut parfois se propager au parenchyme rénal, déclenchant une pyélonéphrite [3].

b- La pyélonéphrite

Infection des voies urinaires supérieures et du rein [15]. Cette infection avec invasion tissulaire s'accompagne d'une fièvre supérieure à 38 °c, de frissons, souvent

de douleurs de l'organe, d'une altération de l'état général (pyélonéphrite aiguë) et il existe volontiers un passage de germes dans la circulation, réalisant au minimum une bactériémie et au maximum une septicémie [31].

II-3- Les germes responsables

La plus part des germes responsables d'infections de l'appareil urinaire sont des entérobactéries, dominées par *E. coli* [27, 28, 31]. D'autres germes peuvent être également responsables. Il peut s'agir de *Proteus mirabilis* et beaucoup plus rarement d'Entérocoques ou de Staphylocoques [31]. On peut citer aussi : *klebsiella pneumoniaes*, *Pseudomonas aeruginosa* *Serratia marcescens* [28].

III- Escherichia coli

III- *Escherichia coli*

Ce sont des bacilles, appartenant à la famille des entérobactéries [1]. Elle est isolées pour la 1^{ère} fois par Escherich en 1885 [16, 2].

Elle présente l'espèce bactérienne la plus étudiée par les fundamentalistes pour des travaux de physiologie et de génétique [2]. Elle est aussi l'une des espèces bactériennes les plus souvent rencontrées en pathologie humaine [3].

III-1- L'habitat

E.coli est un hôte normale du tube digestif de l'homme et des animaux [2, 27], elle se colonise dès les premières heures après la naissance [27], elle constitue l'espèce dominante de la flore aérobie, présente à raison de 10^7 à 10^9 corps bactériens par gramme de selles [2]. Sa densité est cependant très inférieure à celle des germes anaérobies [1].

La présence de *E. coli* dans le milieu naturel surtout dans l'eau est le témoin d'une contamination fécale récente [2, 9].

III-2- Morphologie

Ce sont des bâtonnets droits à extrémités arrondies de 2 à 3 μ de long sur 0,6 μ de large, mobiles grâce à des cils peritriches [26], le germe est à Gram négatif et on ne décèle pas des spores même si parfois on croit observer une forme de pseudo-résistance apparentée à une pseudo-capsule [9].

III-3- Caractères cultureux et métaboliques

E.coli se développe en 24 heures à 37°C sur les milieux gélosés en donnant des colonies rondes, lisses, à bords réguliers, de 2 à 3mm de diamètre, blanchâtres et crémeuses [9]. Sur les milieux lactosés, les colonies sont généralement lactose positif sur gélose au sang elles peuvent être hémolytiques [2].

- ❖ Les principaux caractères positifs sont : indol, ONPG, mannitol.
- ❖ Les caractères suivants sont positifs de façon moins constante : mobilité, LDC, ODC, production de gaz lors de l'attaque du glucose.
- ❖ Les caractères qui sont toujours négatifs : inositol, urée, TDA, VP, gelatinase, citrate de Simmons [2].

III-4- Caractères antigéniques

Les caractères antigéniques d' *E. coli* permettent de reconnaître différents sérotypes :

- Antigènes O ou somatique (endotoxine) : Il existe environ 160 antigènes O différents. Au moyen d'immunsérums spécifiques de ces antigènes O, il est possible de classer sérologiquement les *E. coli* [1].
- Antigènes K ou capsulaire: Environ 70 antigènes d'enveloppe différents sont reconnus. La majorité des souches responsables de méningites néonatales possèdent l'antigène K1 [1].
- Antigène H ou flagellaire : On en connaît 52 types. Cet antigène est bien sûr absent chez les souches immobiles et à flagelles [1].

Les *E. coli* possèdent aussi à leur surface de fins filaments les pili ou funbriae, qui jouent un rôle dans l'adhérence des bactéries à certaines cellules [1].

III-5- Pouvoir pathogène

Certaines souches d'*E. coli* sont virulentes, capables de déclencher spécifiquement chez l'homme ou chez certaines espèces animales des infections au niveau des voies digestives ou urinaires [3], pour manifester leur pouvoir pathogène, la plupart de ces souches doivent posséder des structures d'adhérence [19].

III-6- Pouvoir pathogène expérimental

Celui ci est faible pour les animaux d'expérience : il faut un grand nombre de colibacilles injectés par voie péritonéale pour tuer la souris, et dans ce cas la mort est due plus à la quantité d'endotoxine (antigène O) injectée, qu'à une vraie virulence. Par contre on provoque chez le lapin des infections urinaires après injection intraveineuse à condition de provoquer une stase, par exemple en obstruant l'uretère ou en introduisant des corps étrangers dans la vessie [16] .

III-7- Sensibilité aux antibiotiques

Les souches d' *E.coli*, notamment celles responsables d'infections, sont sensibles à la plupart des antibiotiques actifs sur les bacilles à Gram négatif [1].

IV- Le rat du laboratoire

IV- Le rat de laboratoire

Les rats sont des mammifères omnivores, de l'ordre des Rongeurs, sont les plus connus anatomiquement et physiologiquement, du fait de centaines d'années dans les tests de laboratoire et de dissection [42].

Ils présentent un modèle important pour obtenir une meilleure connaissance de la physiologie de l'homme et de ses maladies [41.]

IV-1- Organisation interne du rat

La méthode à utiliser est la dissection, dans un premier temps elle montre une mise en évidence de la peau et de la musculature, et dans un deuxième temps, elle montre les organes en place (organes du cou, organes thoracique et organes abdominaux) certains organes du rat sont en liaison étroite : ils forment des ensembles que l'on nommées appareils [10].

Chaque appareil est défini, non seulement par les rapports anatomiques des organes qui le constituent, mais aussi par le rôle qu'il joue dans l'organisme, par sa fonction, sa physiologie [10].

Les principaux appareils du corps du rat sont :

L'appareil tégumentaire, le squelette et la musculature squelettique, l'appareil respiratoire, l'appareil génital, le système nerveux et l'appareil digestif [10].

IV-2- Anatomie de l'appareil urinaire

Il comprend une partie glandulaire constituée de deux reins et de voies excrétrices successivement constituées du pelvis, de l'uretère, de la vessie et de l'urètre [43].

Les reins constituent les organes sécréteurs de l'urine en forme d'haricot, juxta-péritonéaux, plaqués contre la voûte lombaire. Ils ne sont pas lobés chez les animaux de laboratoire (reins unilobés) et présentent une situation très dissymétrique, le rein gauche étant plus caudal que le droit [43].

L'urine qu'ils excrètent est conduite par les uretères jusqu'à la vessie, petit réservoir sphérique de couleur blanche, possédant un canal d'évacuation, l'urètre qui aboutit à l'orifice urinaire [10].

Partie
Pratique



I- Matériels

I- Matériels

Ce travail a été réalisé au niveau du laboratoire de microbiologie de l'institut de biologie, université de Jijel. Le dosage de la créatinine a été réalisé au niveau du laboratoire de biochimie de l'hôpital de Jijel.

I-1- Matériel biologique

a- La souche bactérienne

Notre expérimentation a porté sur une souche bactérienne hospitalière : *E. coli* isolée des urines d'un homme adulte.

b- Les rats

Cette étude a été menée sur 4 rats de souche « *Wistar* ».

c- La propolis

L'extrait a été préparé dans le laboratoire de recherche de l'université de Jijel.

I-2- Produits chimiques et réactifs

- ❖ La galerie biochimique : (TSI, citrate de Simmons, manitol mobilité, urée indol, LDC, ODC, ADH, milieu nitrate, Clarks et Lubs, VP1, VP2, réactif de Kovacs.
- ❖ Coloration de GRAM : violet de gentiane, lugol, alcool et fuschine.
- ❖ Examen direct : bleu de méthylène
- ❖ Dosage de la créatinine : Réactif 1 : soude (réactif alcalin)
Réactif 2 : acide picrique
Réactif 3 : étalon (concentration 20 mg/L)
- ❖ Le milieu de culture : La gélose Hecktoen pour le repiquage et la purification d'*E. coli* ainsi pour l'étude de la bactériurie et l'hémoculture.
- ❖ Autres produits : eau physiologique, eau de javel, eau distillée stérile, alcool, l'éther, la bétadine, valium Roche.

I-3- Autres matériels

- Boîtes de pétrie (en plastique)
- Tubes à essais stériles
- Pipettes pasteur



- Pipettes graduées (5- 10mL)
- Les seringues
- L'anse de platine
- Les lames
- Micro pipettes
- Les emboues
- Les épindofs
- Bec benzène
- Four pasteur
- La hotte
- Bain marie
- L'étuve
- Réfrigérateur
- Spectrophotomètre
- Microscope optique
- Centrifugeuse
- Matériel de dissection (ciseau, la loupe, la lame, l'aiguille, les compresses, les gants...)
- Tube secs micro capillaires « hémotubes »

II- Méthodes

après homogénéisation. On fait l'ensemencement en stries de chaque contenue (dans des boites de Petrie coulée par la gélose Hecktoen) après l'incubation en 37 °C, on fait l'identification des colonies dans le cas de culture positive.

II-2- Deuxième expérience

Elle est réalisée sur 03 rats (A,B,C) en passant par 3 étapes :

II-2-1- Première étape :

Etude de la bactériurie des rats (A,B,C) pour confirmer qu'ils ne sont pas infecter d'avance, donc on les met dans 3 cages à métabolisme a fin de récupérer les urines, puis on fait l'ensemencement de ces derniers dans 3 boites de pétries coulée de la gélose Hecktoen et on l'incube dans l'étuve à 37 °C.

II-2-2- Deuxième étape : (réalisation d'un modèle de cystite)

Injection d'une façon régulière et pendant 20jours d'une suspension bactérienne d'*E. coli* directement dans la vessie du rat A (Fig.03). la souche est repiquée régulièrement sur gélose Hecktoen.

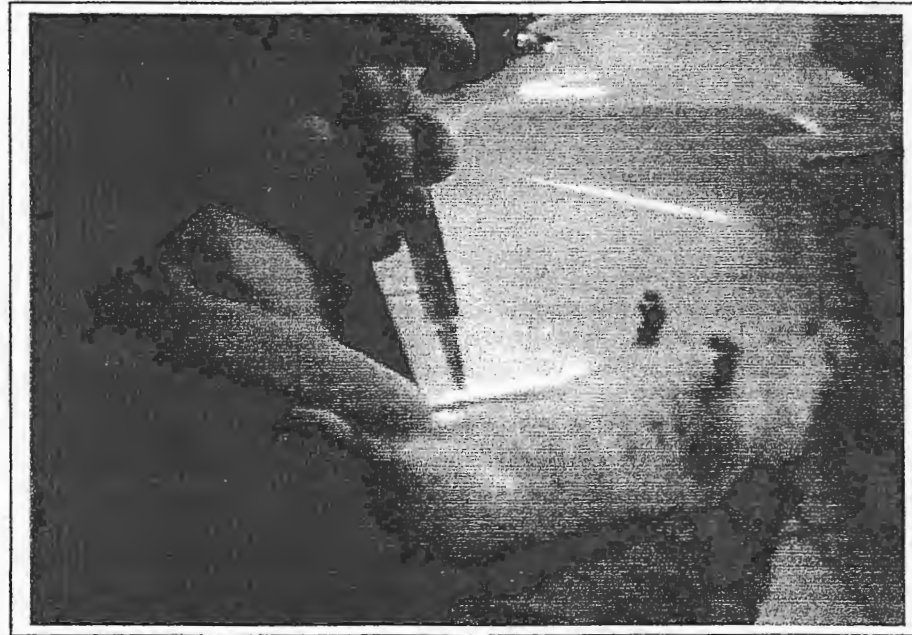


Fig. 03 : Injection infectante du rat A.

A chaque injection, le rat est remis dans la cage à métabolisme, avec un libre accès à l'eau et à la nourriture, pour la récupération des urines.

Pour juger l'installation de l'infection urinaire , nous avons testés les critères suivants chez le rat A, et les deux autres rats sains B et C.

- L'état général de l'animal.
- La bactériologie des urines.
- La créatinine sérique et urinaire (fonction rénal)
- L'hémoculture (seulement pour le rat A).

II-2-2-1- Surveillance clinique du rat A

C'est la surveillance de différenciations de l'état général et le comportement biologique de rat , pendant la période de l'injection.

II-2-2-2- Bactériologie des urines

Les urines recueillies 24 heures après chaque injection bactérienne, doivent être ensemencées sur gélose Hecktoen, les colonies qui apparaissent sont identifiées par la galerie biochimique et la coloration de Gram, afin de tester la bactériurie et confirmer l'installation de l'infection .

II-2-2-3- Dosage de la créatinine sérique et urinaire

La créatinine , produit de la dégradation de la créatine au cours de la contraction musculaire, est le constituant azoté dont le taux est plus fixé dans le sang, il ne varie q'en fonction de son élimination rénale [5].

Ainsi, quand la filtration glomérulaire diminue de 50%, la créatinine double son taux dans le sérum sanguin. D'où son intérêt dans l'appréciation d'un trouble de cette filtration glomérulaire [5].

Les dosages de la créatinine dans le sang et les urines sont prescrits pour évaluer comparativement la fonction rénale [5].

Principe

La créatinine forme en milieu alcalin un complexe coloré avec l'acide picrique, la vitesse de formation de ce complexe est proportionnelle à la concentration de créatinine [7].

Les prélèvement

On effectue trois prélèvement séparés du sang et des urines pour chaque rat (A, B et C).

Ils sont effectués de la manière suivante :

Le sang

Le prélèvement du sang s'effectue à partir du sinus rétro-orbital de l'œil , à l'aide d'un micro-capillaire appelé « hémotube » (Fig. 04). Ce prélèvement à été réalisé sur des tubes secs, ensuite le sang récolté est centrifugé à 3000 tours/minute, pendant 10 minutes.

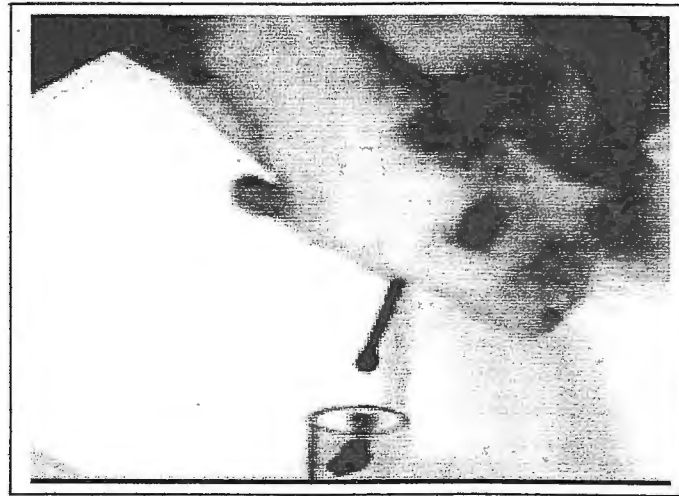


Fig. 04 : Prélèvement du sang à partir de sinus rétro-orbital de l'œil

Les urines

Ont été recueillies à partir de la cage à métabolisme dans un récipient.

Préparation des réactifs

Le réactif utilisé est constitué : réactif 1 (1 volume), réactif 2 (1 volume) [7].

Mode opératoire [7]**Tableau N° II : Mode opératoire de dosage de la créatinine**

	Dosage	Étalon	Blanc
Echantillon	100 µl		
Étalon		100 µl	
Eau distille			100 µl
réactif	1 ml	1 ml	1 ml

Le spectromètre donne la concentration en créatinine dans le sang en mg/l.

Réactifs

Réactif 1 : hydroxyde de sodium	1.6 mol/l
Réactif 2 : acide picrique	17.5 m mol/l
	2mg/dl.
Réactif 3 : créatinine	20 mg/l
Standard	176.8 µmol/l.

La programmation du spectromètre se fait comme suit :

- Longueur d 'onde :490nm
- Température :37°c
- Volume aspiré :1 ml

II-2-2-4-Hemoculture

Au cours de l'injection de l'animal A , on a effectué trois prélèvement séparés du sang pour faire des ensemencement sur gélose Hecktoen, afin de tester la présence d' une septicémie, les boites sont incubés à 37 c° pendant 24 heures .

II-2-3- Troisième étape

A partir du modèle de l'infection urinaire que nous avons mis au point , nous avons tester l'efficacité thérapeutique de la propolis, en administrant régulièrement une dilution de l'extrait pure de notre propolis(100mg/kg) : 0.2 ml d'extrait pure +1 ml d' éthanol +8.8 ml d'eau [24], au rat A (infecter) par voie orale. Le traitement à durer 20 jours (1.5 ml de dilution chaque jour) (Fig.05).

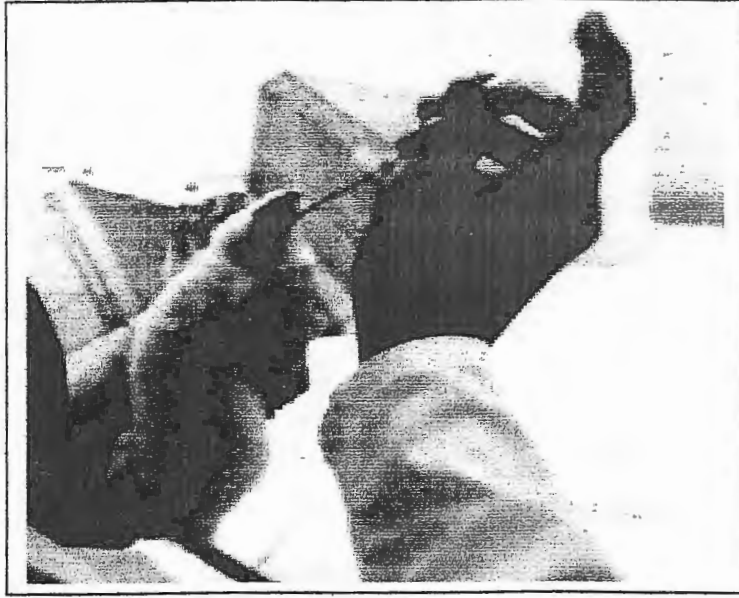


Fig. 05 : Administration de la propolis

L'efficacité thérapeutique est appréciée par l'étude des paramètres utilisés dans la 2^{ème} étape :

- Surveillance clinique du rat.
- Bactériologie des urines (tout le long de la durée du traitement).
- Dosage de la créatinine sanguine et urinaire (3prélèvements effectués).

Dans cette étape les deux rats B et C ont servi comme témoins, après une injection infectante de ces derniers par la même souche d'*E. coli*.

III- Résultats

III- Les résultats**III-1- Première expérience**

Dans les deux boîtes elles apparaissent des petites colonies arrondies, après l'identification on obtient les mêmes résultats pour les deux boîtes et qui correspondent aux caractères biochimiques d'*E. coli* (Fig.06). Ces résultats sont rassemblés dans le tableau III.

Tableau N° III : Profil biochimique d'*E. coli*

Les caractères biochimiques	Résultats
Indole	+
Glucose	+
Lactose	+
Saccharose	+
Citrate de simmons	-
ADH	-
ODC	-
LDC	-
Production du gaz	+
Nitrate	+
Manitol	+
VP	-
Urée	-

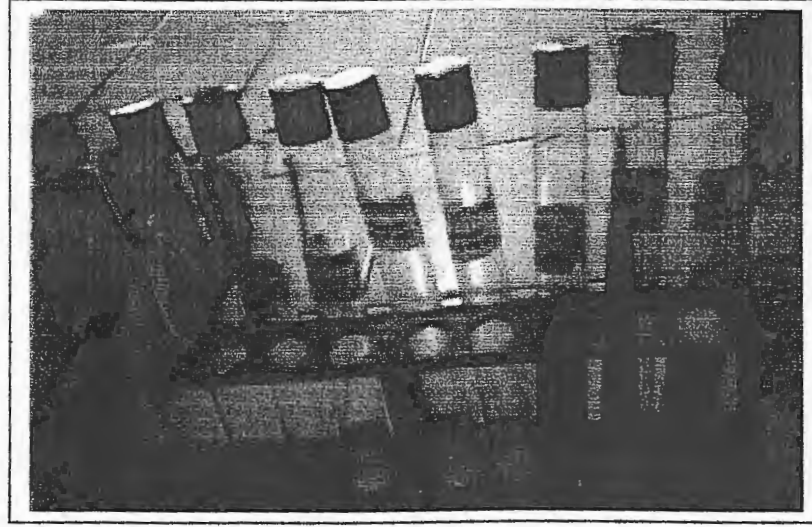


Fig.06 : Identification biochimique d'*E. coli* dans le rein droit.

III-2- Deuxième expérience

III-2-1- Première étape

La bactériurie est négatif dans les trois boîtes de pétries.

III-2-2- Deuxième étape

III-2-2-1- Surveillance clinique des animaux

Le comportement du rat (A) est normal jusqu'au 15^{ème} jour de l'injection, après ce jour l'état général est très altéré, le rat ne se nourrit et ne boit pratiquement plus, l'émission des urines est diminuée, et on remarque aussi une perte légère du poids.

III-2-2-2- Bactériologie des urines

L'étude de la bactériurie montre la présence des colonies bactériennes dès le 3^{ème} jour puis le nombre des colonies augmente et nous constatons un tapis vers le 10^{ème} jour, la coloration de Gram et l'identification de ces colonies montre des bâtonnets, Gram (-) dont le profil biochimique est celui d'une *E.coli*.

III-2-2-3- Dosage de la créatinine sanguine et urinaire (cas de l'infection)

On considère les valeurs de la créatinine chez les rats sains (B et C), comme des valeurs de références (valeurs normales).

Les résultats du dosage de la créatinine sanguine au cours de l'infection, sont représentés dans le tableau IV, figure 07.

Tableau N° IV : Variation de la concentration de la créatinine sanguine (mg/L) au cours de l'infection.

Les rats	Injecté (A) (mg/L)	Témoin B (sain) (mg/L)	Témoin C (sain) (mg/L)
6 ^{ème} jour	10	9	6
10 ^{ème} jour	15	8	7
20 ^{ème} jour	17	9	8
\bar{X}	14	8,66	7

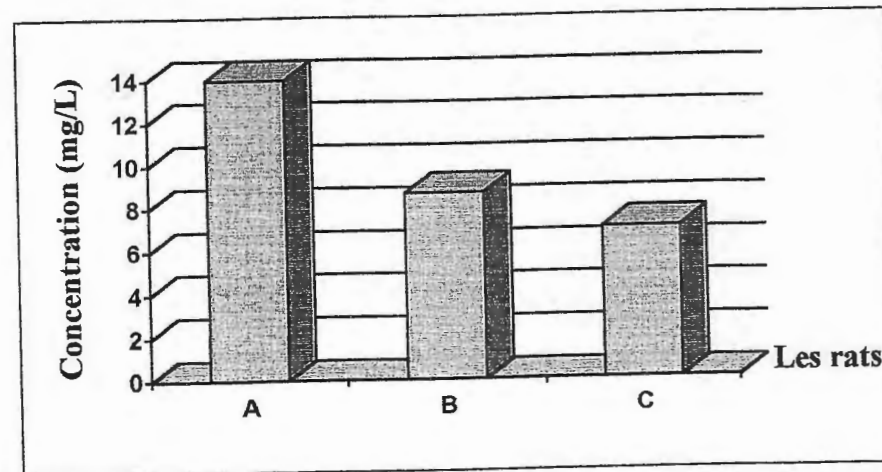


Fig. 07 : Variation de la concentration de la créatinine sanguine (mg/L) au cours de l'infection.

On remarque que les concentrations de la créatinine sanguine des rats témoins (B et C) au cours des 3 prélèvements sont toujours rapprochées et varient entre 6 et 9 mg/l, par contre ces valeurs chez le rat infecté (A) sont un peu plus élevées entre 10 et 17 mg/l.

Les résultats du dosage de la créatinine urinaire au cours de l'infection, sont représentés dans le tableau V, figure 08.

Tableau N° V : Variation de la concentration de la créatinine urinaire (mg/L/24h) au cours de l'infection.

Les rats	Infecté (A) (mg/L/24 h).	Témoin (B) (mg/L/24 h).	Témoin (C) (mg/L/24 h).
6 ^{ème} jour	180	480	603
10 ^{ème} jour	83	416	512
20 ^{ème} jour	147	450	422
\bar{X}	136,66	448,66	512,33

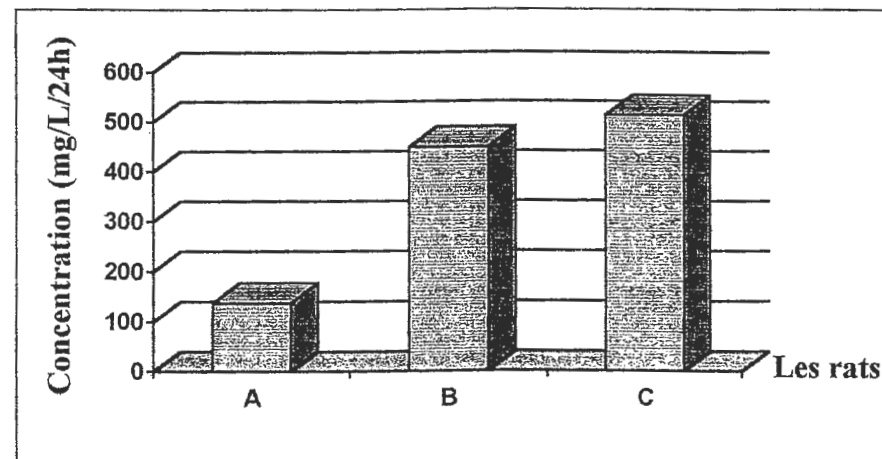


Fig. 08 : Variation de la concentration de la créatinine urinaire(mg/L/24h) au cours de l'infection.

On remarque que les valeurs de la créatinine urinaire chez le rat A sont très élevées par rapport à la créatinine sanguine, mais elles sont très inférieures de celles des rats B et C (témoins).

La moyenne des concentrations chez les rats sains présente le triple de la valeur moyenne des concentrations chez le rat A.

III-2-2-4- Hémoculture

L'hémoculture est négative donc il n'existe pas un passage de germes dans la circulation sanguine.

III-2-3- Troisième étape

III-2-3-1- surveillance clinique du rat A

Dés le 3^{ème} jour du traitement, on remarque que l'état général s'améliore et le rat se réalimente d'une façon normale .

Après 6 jour de traitement l'animal grossit pour atteindre et même dépasser son poids de départ.

III-2-3-2- Etude bactériologique des urines

- 1^{er} jour jusqu' au 3^{ème} jour du traitement: le test de la bactériurie a toujours été positive et a montré à chaque fois un tapis de colonies.
- 4^{ème} jour jusqu'au 15^{ème} jour : le nombre des colonies diminue jusqu'à un nombre limitant .
- 15^{ème} jour jusqu'au 20^{ème} jour: nous constatons une quasi stérilité des urines .

III-2-3-3- Dosage de la créatinine sanguine et urinaire : (cas du traitement)

Les résultats du dosage de la créatinine sanguine lors du traitement sont représentés dans le tableau VI, figure 09.

Tableau N° VI : Variation de la concentration de la créatinine sanguine (mg/L) lors du traitement.

Les prélèvements	Les rats	Traité A (mg/L).	Témoin B (mg/L).	Témoin C (mg/L).
6 ^{ème} jour		9	9	6
10 ^{ème} jour		10	8	7
20 ^{ème} jour		8	9	8
\bar{X}		9	8,66	7

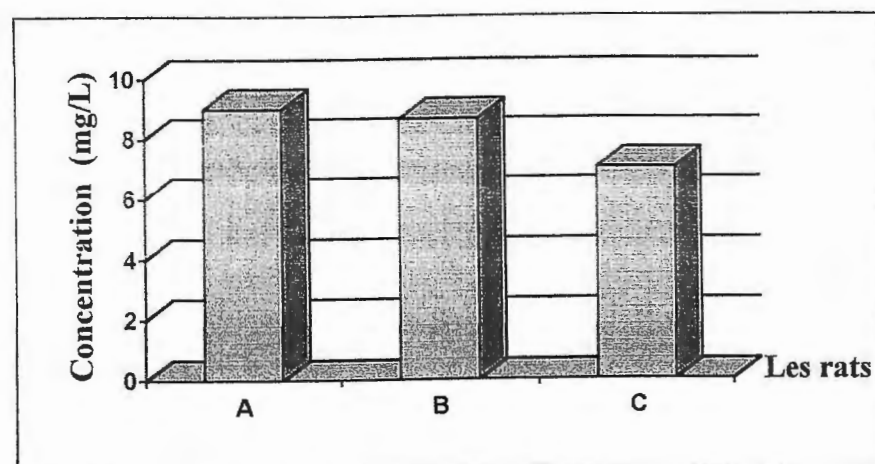


Fig.09 : Variation de la concentration de la créatinine sanguine (mg/L) lors du traitement

On remarque que les concentrations de la créatinine sanguine chez le rat (A) après le traitement sont diminuées dans les 3 prélèvements, leur valeur moyenne (9 mg/l) est rapprochée à la valeur moyenne des deux rats B et C (sains).

Les résultats du dosage de la créatinine urinaire lors du traitement sont représentés dans le tableau VI, figure 10.

Tableau N VII: Variation de la concentration de la créatinine urinaire (mg/L/24h) lors du traitement.

Les rats	Traité A	Témoin B	Témoin C
Les prélèvements	(mg/L/24 h).	(mg/L/24 h).	(mg/L/24 h).
6 ^{ème} jour	460	480	760
10 ^{ème} jour	322	416	512
20 ^{ème} jour	421	450	422
\bar{X}	401	448,66	564,66

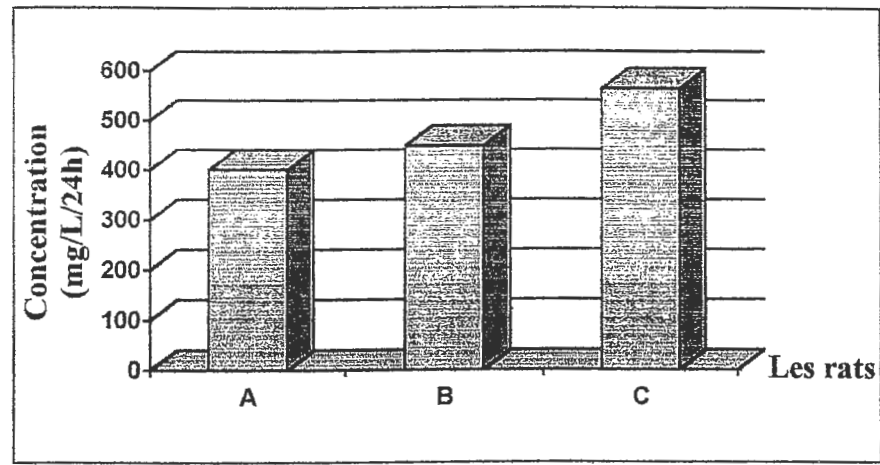


Fig. 10 : Variation de la concentration de la créatinine urinaire (mg/L/24h) lors du traitement

Au contraire de la créatinine sanguine, on remarque que les concentrations de la créatinine urinaire chez le rat A (traité) sont augmentées au cours des 3 prélèvements et la valeur moyenne (410 mg/l/24h) atteint presque les valeurs moyennes des témoins sains (B et C).

IV- Discussion

IV- Discussion

*** La première expérience**

Dans les pyélonéphrites expérimental, l'infection se limite au début dans le rein gauche et seulement après quelques jours que l'infection atteindra le rein droit.

Dans notre expérience, la mort du rat 24 heures après l'élimination de l'obstacle urétrale gauche, et le fait de retrouver des *E.coli* dans les deux reins indique la forte pathogénicité de la souche bactérienne, et on croit que cette dernière est peut être due à une infection généralisée mortelle.

*** Deuxième expérience**

Première étape:

La bactériurie négative indique la stérilité de l'appareil urinaire [28], donc les 3 rats A, B et C ne sont pas infectés d'avance (rats sains).

Deuxième étape

Jusqu'au 15^{ème} jour de l'infection infectante, le rat A se comporte d'une façon normal, alors que le test de la bactériurie est positif (montre un tapis de colonies vers le 10^{ème} jour). Ce ci indique l'installation de l'infection [28].

L'absence d'une altération de l'état général du rat indique que l'infection urinaire ne se développe pas, elle se limite au niveau de la vessie (cystite) et elle n'atteint pas la partie supérieure de l'appareil urinaire [31] .

Chez le rat infecté (A) le dosage biochimique de la créatinine a révélé une élévation du taux de la créatinine sérique et une diminution de la créatinine urinaire (par rapport aux témoins B et C), ces variations peuvent être un témoignage d'une atteinte rénal [20].

Le test d'hémoculture est toujours négatif donc, il n'existe pas un passage de germes dans la circulation sanguine, ce qui diminue la probabilité d'une atteinte rénale [31].

Troisième étape

Le traitement par la propolis améliore l'état général de l'animal A surtout après 3 administrations quotidiennes.

Dés le 4^{ème} jour de l'administration et jusqu'au 20^{ème} jour, le résultat est jugé satisfaisant la quasi stérilité des urines indique la guérison du rat [28].

Les valeurs de la créatinine sérique et urinaire chez le rat traité (A) sont ajustées et se rapprocher aux valeurs normales du témoins B et C. Donc les reins filtrent d'une manière normale [20], ce ci montre le rôle important de l'utilisation de la propolis dans le traitement et par conséquent dans la guérison des infections urinaires (infection de la vessie essentiellement) [40].

Conclusion

Conclusion

Le but de notre travail, a été la mise au point de deux types d'infection urinaire à *E. coli*, et d'étudier sur ces modèles, l'efficacité in vivo de la propolis, qui est une substance entièrement naturelle présentant les qualités essentielles qui lui permettent d'entrer dans la liste des thérapeutiques naturelles.

Dans notre premier modèle, qui consiste a réalisé une pyélonéphrite par injection rétrograde d'*E. coli* à l'intérieur du bassinet gauche et ligature temporaire de l'uretère, la mort du rat, nous ne permet pas de continuer l'expérience, donc on a étudié l'efficacité thérapeutique de la propolis sur un 2^{ème} modèle " la cystite ". Cette dernière est réalisée par injection directe d'*E. coli* dans la vessie, en se basant sur l'étude de quelques critères et sur lesquels nous avons pu confirmer qu'un traitement par une dose quotidienne de 1,5 ml de la dilution de notre propolis et durant 20 jours permettait : la stérilisation des urines, l'amélioration de l'état général de l'animal en moins de 4 jours et la récupération d'un taux normal de la créatinine qui a diminué dans le sang et augmenté dans les urines. Le résultat peut être jugé satisfaisant puisque la propolis étudiée dans notre travail a conduit à la guérison de l'infection.

A fin de confirmer l'intérêt de la propolis dans la traitement des infections urinaires, il est nécessaire de poursuivre notre travail par une étude plus vaste et plus approfondie dans des conditions favorables pour confirmer que la propolis a vraiment cette importante efficacité thérapeutique.

Références

bibliographique

Références bibliographique

- 1- Avril. J. L, 1991. Dictionnaire pratique de bactériologie clinique. ellipses. P127.
- 2- Avril. J. L, Dabernat. H, Denis. F, Monteil. H, 1992. Bactériologie clinique 2^{ème} édition.
- 3- Berche. P, Gaillard. J. L, Simonet. M, 1988. Bactériologie les bactéries des infection humains, Ed : Flammarion médecine science. Paris.
- 4- Biri. M, 1989. Grand livre des abeilles l'apiculture moderne. Ed : devecchi .S.a - Paris
- 5- Blaque – Belair. A, Blauqe –Bealair. N, 1995. L'infirmier et les examens clinique. Ed : Maloine. Paris.
- 6- Bonkova. V. S, De Castro. S. L, Marcucci. M. C, 2000. Propolis recent advances in chemistry and plant origine, apidologie 313-150.
- 7- Bonsnes. R. W and tousski. H. A, 1945. The colorimetric determination of creatinine the Jaffe reaction . J, Biol, chem.
- 8- Bruneau. E, Barbançon. J. M, Bonnaffé. P, Clément. H, Domerego. P, Fert. G, Lecont. Y, Ratia. G, Reeb. C, Vaissiere. B, Le traité Rustica de l'apiculture. P528.
- 9- Bugnicourt Masc, 1995. Dictionnaire de microbiologie générale. La vie racontée par les bactéries. ellipses.
- 10- Camefort. H, Gama. A, 1969. Sciences naturelles anatomie et physiologie animales et végétales. Schmit. Paris.
- 11- Challem. J, 1995. Medical journal document value of bee. propolis, Honey and Royal Jelly the nutrition reporter.
- 12- Chauviv. R, 1968. Traité de biologie de l'abeille. Ed: Masson ETC^{ie}, Paris.
- 13- Coprean, and 4 other, 1986. Effect of standardized propolis extract in the experimentally intoxicated liver of rats cliyul medical 59 (4): 333-337.
- 14- Crane. E, 1988. Bee keeping : Science practice and world resources, Heinemann, London.
- 15- Domart. A, Bourneuf. J, 1990. Petit LAROUSSE de la médecine, Librairie Larousse. Paris.
- 16- Ferron. A, 1979. Bactériologie médical à l'usage des étudiants en médecine. 10^{ème} édition.
- 17- Fronty. A, 1984. L'apiculture aujourd'hui. (2^{ème} édition). P222.
- 18- Ghisalberti. E. L, 1979. Propolis a review. Bee wold 60: 59-84.
- 19- Guiraud. J. P, 1998. Microbiologie alimentaire. Ed : Dunod.

- 20- **Hamburger. J, Grosnier. J, Grünfeld. J. P,** 1983., nephrologie Tome 1. Ed : Flammarion médecine sciences.
- 21- **Herscovici. L,** 1984. Incidence du rythme d'injection sur l'efficacité et la tolérance rénale d'un aminoglycoside dans le traitement des pyélonéphrites expérimentales du lapin. Thèse doctorat de la spécialité biologie cellulaire et moléculaire.
- 22- **Kedzia, Iwaszkie. W. J, and Geppert. B,** 1988. pharmacological investigations on ethanolic extract of propolis. *Herba polonica*, 34 (4): 243-253.
- 23- **Krell,** 1996. Value-Added products from beekeeping, FAO-Agricultural services Bulletin, N° 124.
- 24- **Lahouel. M et coll ,** 2004. Effet protecteur des flavonoïdes contre la toxicité de la vinblastine, du cyclophosphamide et du paracétamol par inhibition de la peroxydation lipidique et augmentation du glutathion hépatique. *Haema* ; 7(1) :59-67.
- 25- **Lavie. P,** 1975. La propolis. Edition ; Apimondia, Bucharest.
- 26- **Leminor. L, Verron. M,** 1982. Bactériologie médicale. Ed : Flammarion médecine science, 2.
- 27- **Leminor. L, Veron. M,** 1990. Bactériologie médicale. 2^{ème} édition.
- 28- **Macrez. A,** 1995. La prévention des infections nosocomiales urinaires. Ed : Malonnes (cahier de recherche en soins infirmiers). Paris.
- 29- **Malagan et Sulimanovic,** 1982. Action of propolis solution on bacillus larvae A Piacta, 17 : 16-20.
- 30- **Marcucci,**1995. Propolis : chemical composition, biological properties and therapeutical activity *apidologie* 26, 83-99.
- 31- **Meyrier. A et coll,** 1994. Maladies rénales de l'adulte. Ed : Alger Berti. P480.
- 32- **Mnolova. and 5 others,** 1987. Immunobiological effect of propolis. I. Effect on cellular immunity. *Act a microbiologica bulgarica* 21: 76-81.
- 33- **Mochida. S, Haga. M and Takino. Y,** 1985. Chemical constituents and antimicrobial activity of japanese propolis apimondia the XXX th Intern apicultural Congr. Nagoya. Japan, pp 455-456.
- 34- **Park. Y. K, IKegati. M, Matias of Alencar. S,** 2000. Classificação das propolis Brasileiro a partir de suas características fisico-quimicase propriedades biologicas. *mensagem doce* : 58.
- 35- **Park. Y. K, Matias of Alencar. S, L-Aguiar. C,** 2002. Estodo da composicao de meıs E propolis oriundos de mesma colméia. *Mensagem doce* : 67.
- 36- **Pebrer. F, Veron. M,** 1993. Pathologie infectieuse et démarche de soins. Tome 1. Ed : Heurs de France.

- 37- Schmid. J. O and Buchman. S. L, 1992. other products of the hive and the honey bee J. M Graham, ed Dadant & Sons, Hamilton. Illinois, USA 927-988.
- 38- Seguy. B, 1994. Anat : anatomie préparation au diplôme d'état d'infirmière et aux professions paramédicales (4^{ème} édition).
- 39- Tyklonov. O. I, Yarmykh. T. H, 1992. Investigation of the physicochemical and technological properties of a hydeophilie phenol propolis preparation. P 53-56.

Site d'internet

- 40- [http://biogassendi.ifrance.com/dossier propolis.htm](http://biogassendi.ifrance.com/dossier_propolis.htm).
- 41- <http://www.gensuisse.ch/act/sda040331bf.thm>.
- 42- [http://etudiant.univ-mlv.fr/Ncdelafor/cours rat.htm](http://etudiant.univ-mlv.fr/Ncdelafor/cours_rat.htm).
- 43- [http://www.vet-lyon.fr/ens/expa/cours/anat comparee/anat comp-reins.genit.htm](http://www.vet-lyon.fr/ens/expa/cours/anat_comparee/anat_comp-reins.genit.htm).
- 44- <http://www.aci-multimedia.net/feminin/propolis.htm>.
- 45- [http://www.jean louisetienne.fr/cliperton/proyramme20.htm](http://www.jean_louisetienne.fr/cliperton/proyramme20.htm).
- 46- [http://www.docteur-nature.com/toutes therapeutiques produit-ruche/propolis.htm](http://www.docteur-nature.com/toutes_therapeutiques_produit-ruche/propolis.htm).
- 47- <http://propolis-sama.com/français/fr-propolis.htm>.

Annexes

Annexes

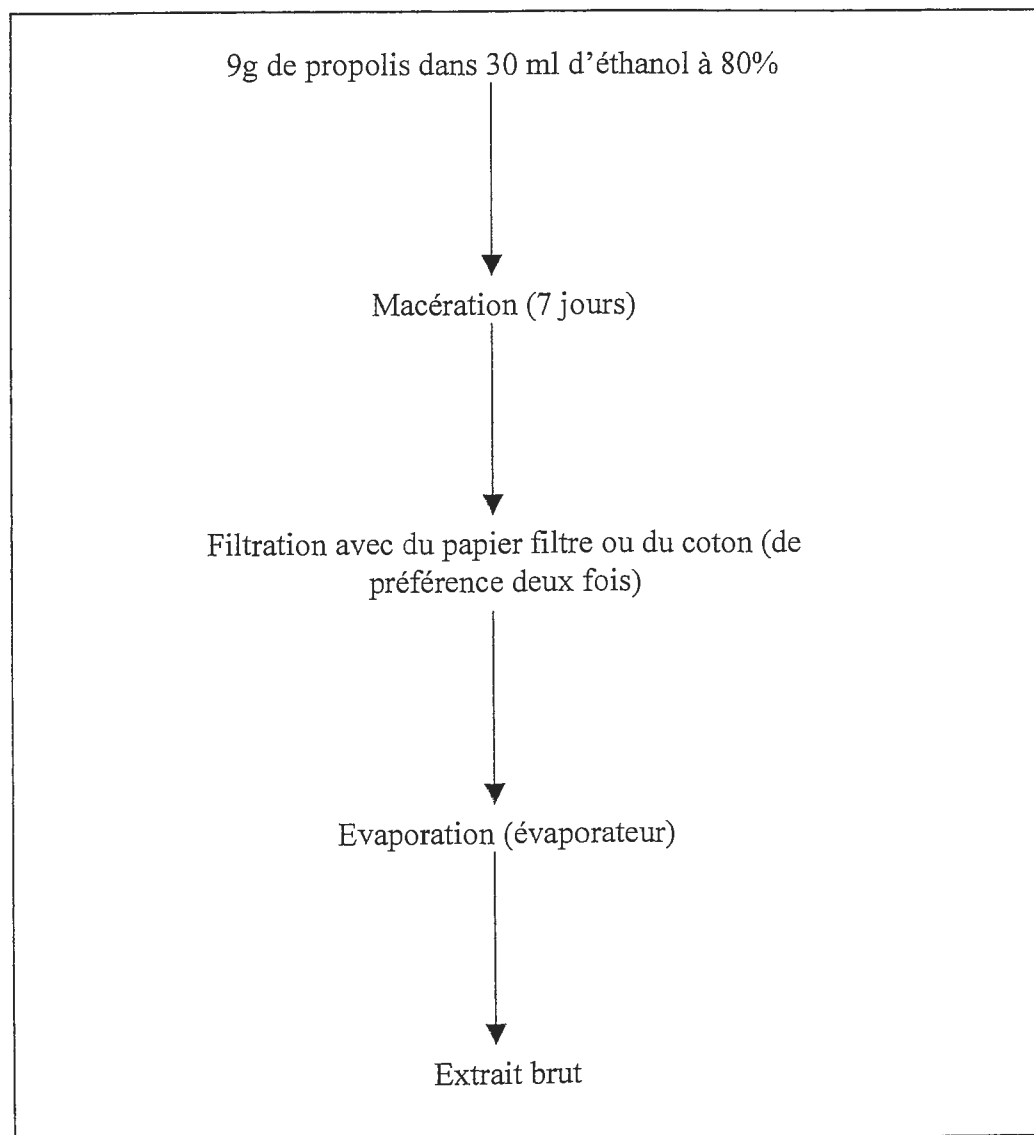
Extraction de la propolis

Méthode :

Une solution à 30% de propolis : 9g de propolis dans 30 ml d'éthanol à 80%.

La propolis brute est coupée en petits morceaux et mise dans un récipient. Si elle est trop molle, elle est placée au réfrigérateur pendant quelques heures puis coupée. Après ajout de l'éthanol, elle est laissée pour macération pendant 7 jours avec agitation de temps en temps.

Puis, le mélange est filtré sur papier filtre ou du coton (deux fois). Enfin, le filtrat est évaporé en utilisant un évaporateur de type rotatif.



Protocole d'extraction des principes actifs de la propolis

Violet de Gentiane :

- Violet de gentiane..... 1g
- Ethanol à 90% 10ml
- Phénol..... 2g
- Eau distillée 100ml

Fuschine de Ziel :

- Fuschine basique 1g
- Alcool ethylique à 90% 10ml
- Phénol..... 5g
- Eau distillée 100ml

Lugol :

- Iode..... 1g
- Iodure de potassium..... 2g
- Eau distillée 300ml

Bleu de méthylène

- Bleu de méthylène 1g
- Ethanol à 90% 10ml
- Phénol..... 2g
- Eau distillée 300ml

Réactif urée – Indole

- L-Tryptophane 3g
- Phosphate monopoyassique..... 1g
- Phosphate dipotassique..... 1g
- Chlorure de sodium 5g
- Urée 20g
- Alcool à 95° 10ml
- Solution de rouge de phénol à 1%..... 2,5ml
- Eau distillée 1000ml
- pH = 6,7

Réactifs de Kovacs :

- Alcool amylique ou isoamylique..... 150ml
- P. diméthylaminobenzaldéhyde..... 10g
- Acide chlorhydrique concentré 50g

Réactif de voges Prosquawer (VP) :

- **VP1 :**
 - ❖ KOH 40g
 - ❖ Eau distillée 100ml
- **VP2 :**
 - ❖ Naphtol 60g
 - ❖ Ethanol..... 100ml

Milieux de cultures :**Gélose Hektoen :**

- Protéose - peptone 19g
- Extrait de levure 3g
- Chlorure de sodium 5g
- Thiosulfate de sodium 5g
- Sels biliaires 9g
- Citrate de fer ammoniacal 1,5g
- Salicine 2g
- Lactose..... 12g
- Saccharose 12g
- Fushine acide 0,1g
- Bleu de bromothymol 65mg
- Gélose 13mg

Mannitol mobilité

- Peptone 20g
- Nitrate de potassium 01g
- Manitol 2g
- Rouge de phénol 40g
- Gélose 04g

Milieu TSI :

- Peptone 20g
- Extrait de viande..... 3g
- Extrait de levure 3g
- Chlorure de sodium 5g
- Glucose 1g
- Lactose..... 10g

➤ Saccharose	0,5g
➤ Hyposulfite de sodium.....	0,5g
➤ Rouge de phénol.....	28mg
➤ Gélose	12g

Nitrate de Simmons :

➤ Sulfate de magnésium	0,2g
➤ Sulfate de sodium	2g
➤ Chlorure de sodium	5ml
➤ Phosphate d'ammonium	0,2g
➤ Phosphate d'ammonium monosodique	0,8g
➤ Bleu de bromothymol.....	0,08g
➤ Agar	15g

Clarks et lubs

➤ Peptone	10g
➤ Phosphate dipotassium	02g
➤ Glucose.....	05g
➤ pH 7	

Eau physiologique :

➤ Chlorure de sodium	8,5g
➤ Eau distillée	1000ml

ODC :

➤ Ornithine.....	05g
➤ Extrait de viande.....	03g
➤ Chlorure de sodium	05g
➤ Glucose.....	01g
➤ Pourpre de bromocrésol.....	16mg

ADH :

➤ L'arginine	05g
➤ Extrait de levure	03g
➤ Chlorure de sodium	05g
➤ Glucose.....	01g
➤ Pourpre de bromocrésol.....	16mg

LDC :

➤ Lysine	05g
➤ Extrait de levure	03g

- Chlorure de sodium 05g
- Glucose..... 01g
- Pourpre de bromocrésol..... 16mg

Thème
L'étude de l'activité antibactérienne de la propolis in vivo

Présentés par :

- CHIDEKH Leila
- MEGHZILI Messaouda
- TAGHLIL Habiba

Les membres de jury:

- ❖ Président : M^r LAHOUEL Mesbah
- ❖ Examinatrice : M^{lle} LAGGOUNE Souheila
- ❖ Encadreur : M^{me} ROULA Sagia

Date de soutenance
27/09/2016

Résumé

Depuis plusieurs années les recherches qui ont été réalisées sur l'abeille et ses moyens de défense permet la découverte de la propolis substance résineuse et bioactive.

Notre étude a été menée pour évaluer l'efficacité thérapeutique de cette substance sur deux types d'infections urinaires, l'un est la réalisation d'une pyélonéphrite aiguë par injection rétrograde d'*E. coli* dans le bassinet gauche et ligature temporaire de l'uretère, l'autre est la réalisation d'une cystite par injection directe d'*E. coli* dans la vessie. Le traitement par la propolis est réalisé seulement sur le 2^{ème} modèle de l'infection.

L'efficacité thérapeutique est appréciée par la bactériologie des urines, l'aspect général de l'animal et le dosage de la créatinine .

Cette études montre qu'une dose quotidienne de 1,5 ml de notre dilution de la propolis est très efficace et a conduit à la guérison de la cystite.

Mots clés :

Activité antibactérienne – propolis – in vivo – pyélonéphrite – cystite - créatinine

Summary

Since several years of research which was carried out on the bee and its means of defense has allowed the discovery of the propolis resinous and bioactive substance.

Our study was undertaken to evaluate the therapeutic effectiveness of this substance on two types of urinary infections, one is the realization of an acute pyelonephritis by retrograde injection of *E. coli* in the left bassinet and temporary binding of the uretère, the other is the realization of cystitis by direct injection of *E. coli* in the bladder. The treatment by the propolis is carried out only on the 2nd model of the infection.

The therapeutic effectiveness is appreciated by the bacteriology of the urines, the general aspect of the animal and the proportioning of creatinin.

This studies shows that a daily amount witch is 1,5 ml of our dilution of propolis is very effective and led to the cure of cystitis.

Key words:

Antibacterien activity - propolis - in vivo - pyelonephritis – cystitis - creatinin

ملخص

منذ القدم أدت البحوث التي أجريت على النحل وعلى وسائل دفاعها إلى اكتشاف مادة البروبوليس ذات الطبيعة الصمغية والنشاط الحيوي.

وقد قمنا بدراسة في هذا البحث لتقييم الفعالية العلاجية لهذه المادة على نمطين من الالتهابات البولية، الأول عبارة عن افتعال لـ pyélonéphrite (التهاب الكلى) بواسطة حقن *E. coli* في حوض الكلية اليسرى مع غلق مؤقت للحالب الأيسر. أما النمط الثاني فهو عبارة عن افتعال تجريبي للتهاب المثانة (Cystite) عن طريق الحقن المباشر لـ *E. coli* داخل المثانة البولية. غير أن العلاج بالبروبوليس لم يتمكن من تجسيده إلا على النموذج الثاني من الالتهاب.

وقد تم تحديد الفعالية العلاجية بواسطة الدراسة البكتيرية للبول والمظهر العام للحيوان وكذلك عن طريق معايرة الكرياتينين. وفي الأخير بينت هذه التجربة أن جرعة يومية ذات 1,5 ملل من محلول البروبوليس كانت لها فعالية معتبرة أدت إلى علاج التهاب المثانة.

الكلمات الدالة:

النشاط ضد بكتيري - بروبوليس - داخل حيوي - pyélonéphrite (التهاب الكلى) - Cystite (التهاب المثانة) - كرياتينين.