

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA  
RECHERCHE SCIENTIFIQUE  
جامعة 20 اوت 1955- سكيكدة  
UNIVERSITE 20 AOUT 1955- SKIKDA



Faculté des Sciences  
Département des Sciences de la Nature et de la Vie  
Mémoire Présenté en Vue de l'Obtention du Diplôme de Master  
Filière : Sciences Biologiques  
Spécialité : Biochimie Appliquée

**Intitulé:**

**Etude des quelques activités biologiques (antioxydant,  
anti-inflammatoire et anti-lithiasiques) du venin  
d'abeille local (*Apis Mellifera sahariensis*).**

**Présenté Par :**

- MATMED Maïssa
- SISSAOUI Riyane
- BOUCENNA Manel
- FERROUM Meriem

**Membre de Jury:**

BOUZEBDA Abderrezak (MCB) Président Univ. du 20 Août 1955 – Skikda  
BOUDJELLAB Zine-Eddine (MCA) Promoteur Univ. du 20 Août 1955 – Skikda  
Mr. Nom et prénom (MCA) Examineur ENSET (Azzaba), Skikda

**Année universitaire 2022/2023**



***Remerciement:***



Tout D'abord, Nous Souhaitons Exprimer Notre Gratitude Envers Allah Tout-Puissant Et Miséricordieux Pour Nous Avoir Donne La Force Et Le Courage Nécessaires Pour Mener A Bien Ce Modeste Travail.

Nous Tenons Egalement A Exprimer Nos Profonds Remerciements Et Notre Respect Reconnaissant Envers Notre Encadrant, Monsieur **Dahdouh Faouzi**, Pour Son Encadrement, Ses Conseils Et Ses Sacrifices Afin De Nous Aider A Donner Le Meilleur De Nous-Mêmes, Ainsi Que Pour Son Suivi Attentif Tout Au Long De La Préparation De Notre Mémoire D'étude

Nos Remerciements Vont Egalement Au Membres De Jury Pour Avoir  
Bien Voulue Faire  
L'honneur Et Acceptée D'examine Ce Travail.

Nous Tenons Egalement A Remercier Chaleureusement Monsieur Badis Pour Tout Les  
Conseils Qu'il Nous A Donné.

Nous Remercions Les Equipes De Laboratoire D'analyses De L'ENST D'azzaba Et  
Particulierement Mme Imen Bougddah, Mohammed Et Khaled.  
Et Merci Pour Les Equipes De Laboratoire D'analyses De L'aide De La Region Djendel Et  
Surtout Mme Imen.

Professeurs Qui Ont Contribue A Notre Formation Tout Au Long De Ces Annees.





## ***Dédicace :***

Je tiens à remercier en premier lieu **ALLAH** le tout puissant de m'avoir donné le courage et la santé pour achever ce travail.

Je dédié ce travail :

À très chère mère : **Tourkia**

Symbole de tendresse, de sympathie et de sacrifice, celle qui m'a toujours orienté vers le meilleur.

À mon cher père : **Rachid** Qui m'a inculqué le courage, l'espoir et m'a permis d'atteindre mes objectifs grâce à son aide, son soutien continu et sa présence pendant les moments difficiles.

À **moi-même**... Pour tous les moments difficiles que j'ai affrontés en solitaire, pour toutes les sacrifices que j'ai fait pour atteindre mon objectif. Merci à moi pour être forte.

Je dédié également ce travail à mes charmants frères, Amer, Housseem, Djamel, ainsi à mes charmantes sœurs, Samira, Houda, Nadia et Amina.

À mes petits : owais, siradj, obei, houdaifa, et à la bougie de notre maison, ma belle Nour, Votre tante vous aime énormément.

À mes meilleures amies, mes belles Aya et Wiam, qui ont toujours été à mes côtés dans les moments de joie et de peine, merci d'être partie de ma vie .

À mes chérie Meriem et Soumia. merci pour tout les moments magnifiques.

Je souhaite également remercier tout mes professeurs et collègues tout au long de ma vie scolaire.

À mes quadrinome Riyane, Maïssa et ma belle Meriem.

À tous ceux qui sont nés en 2000 .

À toutes mes amies et la promotion 2018-2023.

***Manel***





## ***Dédicace :***

*Tout d'abord, et avant toute chose je remercie Allah Tout-Puissant Et Miséricordieux .*

A mes plus grands soutiens et sources d'inspiration, je dédie ce travail avec tout mon amour et ma reconnaissance infinis.

À ma **mère**, qui a toujours été mon point d'ancrage et ma boussole, je te remercie pour ton amour inconditionnel, ton dévouement et ton soutien inébranlable. Tu as été la lumière qui a éclairé mon chemin dans les moments sombres, et tu as toujours cru en moi, même lorsque j'avais des doutes.

À mon **père**, qui m'a enseigné l'importance du travail acharné, de la persévérance et de l'honnêteté, je suis reconnaissante pour tes conseils éclairés et ton soutien constant. Tu m'as inspiré à viser plus haut et à poursuivre mes rêves. Je te suis infiniment reconnaissante pour ton soutien indéfectible, ta confiance en moi et ton amour.

A mes Chers frères **Taha, Hocine, Iyad et Youcef**, ainsi que mes chères sœurs **Afaf et Amina**, Que Dieu vous vous donne santé, Bonheur, courage et surtout réussite

A mes chères tantes surtout **Z, Massouda** je vous dédie ce travail en tant qu'expression d'amour et de reconnaissance Que Dieu vous vous donne santé, et Bonheur.

A mes amies **Aicha et Ines et Manel** Vous êtes pour moi des sœurs et des amies fiables. En témoignage de notre amitié et des souvenirs précieux que nous avons partagés, je vous dédie ce travail et je vous souhaite une vie pleine de santé et de bonheur.

À chaque membre de ma famille du plus grand au plus petit.

A tous les enseignants et enseignantes.

Et finalement mes quadirnome **Maïssa et Riyane** et surtout **Manel**.

## ***Meriem***





## ***Dédicace :***

À l'aide de Allah tous puissant , qui m'a tracé le chemin de ma vie ,j'ai pu réaliser ce travail que je dédie :

Ma très chère mère **ZAINEB** vous avez toujours été mon école de patience ,de confiance et surtout d'espoir et d'amour .Vous être et vous resterez pour moi ma référence , la lumière qui illumine mon chemin.

Mon très cher père **FOUDIL** qui a œuvré pour ma réussite , de par son amour ,son soutien , tous les sacrifices consentis et ses précieux conseils, pour toute son assistance et sa présence dans ma vie .

À mon professeur qui nous a soutenu et conseillé :Dahdouh Faouzi.

Et je dédiee spécialement a mon cher grande-père, mon amour :**Abd Allah.**

À Mes chers frères : Mouhamed lamine et Achref.

À Mes sœurs sont mes yeux : Imane ,Soumia.

Mes belle tantes : Salima,Halima,Fatima,Zahra .

À Mes oncles : Khalade,Ahmed,Mouhamed.

À Mes cousines : Iyad, houssem et a une petite famille Nihal.

À mari de ma soure et au mari de ma tante : Houcin ,Fouzi.

À la tante de ma mère : Yakouta .

À ma grande-mère, et grande père que Allah lui fasse miséricorde.

Spécialement a mes fidèles amies :

Ibtissame ,Naima, Maïssa KH ,Loubna , Manel ,Maïssa M A ,Samar ,Rokaïa ,Djehane ,Rihab,Maïssa L.

À mes quadrinom : Maïssa , Manel et Meriem .

À tout ma famille , proche ou éloignée.

**RIYANE.**





**Dédicace :**

À l' aide d'Allah tout puissant, qui m'a tracé le chemin de ma vie, J'ai pu réaliser ce travail que je dédie :

À la lumière de mes yeux, l'ombre de mes pas et le bonheur de ma vie ma très chère mère: **Fatiha** qui ma apporté son appui durant toutes mes années des études, pour son sacrifice et soutien qui m'ont donné confiance, courage et sécurité.

À mon très cher père : **Ahsene** qui ma appris le sens de la persévérance tout au long de mes études, pour son sacrifice ses conseils et ses encouragements.

À mon professeur qui nous a soutenu et conseillé :Dahdouh Faouzi .

À mes chères frères : Mohamed Lamine, Mohieddine.

À mes chères soeurs : Fairouz , Bassma, Manel, Ahlem.

À mes chère petits : Najla, Ibrahim, Imran , Maram , Meriem, Gheferan, Raghed el Afnane.

À maris de mes sœurs : Farid, Nabil, Mustapha, Kamal.

À mes tantes : Fatima et Fatima Zohra.

À mes oncles : Abd Al Hamid, Rachid, Azzedine, Mustapha, Rachid, Farid, Shérif (que Allah lui fasse miséricorde).

À mes grands –père et grands- mères, qu' Allah leur fasse miséricorde.

Je dédié Spécialement à mes fidèles amies :

Riyane,H Halla, Soulafa, Zahra , Bahdja.

À ma chère binôme : Riyane , Manel, Meriem.

À tout ma famille :Matmed et Boussealsal, prouche ou éloignée .

**Maïssa**



## Résumé :

Le venin d'abeille est traditionnellement utilisé dans le traitement de certains problèmes de santé, en raison de ses propriétés biologiques efficaces. Comme le venin des sous-espèces d'abeilles algériennes (*Apis mellifera intermissa* et *Apis mellifera sahariensis*) n'ont pas été étudiés, la présente étude a été consacrée à l'étude *in vitro* des activités anti-oxydantes, anti-inflammatoires et anti-lithiasiques d'*Apis mellifera sahariensis*. L'activité antioxydant du venin d'abeille brut de différentes concentrations (0,5 ; 1 ; 2 et 4 mg/ml) a été évaluée par le test de DPPH, et l'activité anti-inflammatoire a été étudiée en utilisant la méthode de dénaturation de l'albumine sérique bovine (BSA) induite par la chaleur. L'activité anti-lithiasique contre la cristallisation de l'oxalate de calcium a été testée par la mesure de la turbidité en présence ou en l'absence du venin. Les résultats ont montré une activité antioxydant efficace, présentée par une concentration demi-maximale élevée (EC50);  $2,33 \pm 0,04$  par rapport à celle de l'acide ascorbique ( $1,03 \pm 0,06$ ) et du BHT ( $0,45 \pm 0,04$ ). De même, le venin d'abeille a révélé une activité anti-inflammatoire potentielle supportée par une concentration maximale médian d'inhibition élevée de dénaturation de la BSA (IC50 =  $8,34$  mg/mL) par rapport à celle du diclofénac (CI50 =  $6,78$  mg/mL). De plus, l'activité anti-lithiasique atteint le pourcentage maximal d'inhibition de la cristallisation de l'oxalate de calcium à la concentration de 4 mg/ml de 90% et 80% pour le venin d'abeille et l'acide citrique, respectivement pour le test de nucléation, et de 68% et 59% pour le essai d'agrégation. En conclusion, nous nous attendions à ce que cette enquête encourage une exploration plus poussée de nouveaux médicaments pour la prévention et le traitement des maladies oxydatives, inflammatoires et de la lithiase urinaire.

**Mots clés:** Activité antioxydant, Activité anti-inflammatoire, Activité anti-lithiasique, Venin d'abeille algérienne (*Apis mellifera sahariensis*).

## **Abstract:**

Bee venom has been traditionally used in treating some health conditions, owed to its effective biological properties. As the venom of the Algerian subspecies bees (*Apis mellifera intermissa* and *Apis mellifera sahariensis*) have not been investigated, the present study was devoted to *in vitro* investigate the anti-oxidant, anti-inflammatory and antiurolithiatic activities of the *Apis mellifera sahariensis*. The antioxidant activity of the crude bee venom of various concentrations (0,5; 1; 2 and 4 mg/ml) was evaluated by DPPH assay, and the activity anti-inflammatory was performed using heat-induced bovine serum albumin (BSA) denaturation method. The antiurolithiatic activity against calcium oxalate crystallization was tested by the measurement of turbidity in presence or absence of the venom. Results showed effective antioxidant activity, as evidenced by high half maximal concentration (EC<sub>50</sub>);  $2,33 \pm 0,04$  compared with that of ascorbic acid ( $1,03 \pm 0,06$ ) and BHT ( $0,45 \pm 0,04$ ). Similarly, the bee venom revealed a potential anti-inflammatory activity supported by high half maximal inhibitory concentration of BSA denaturation (IC<sub>50</sub>=8,34 mg/mL) as compared with that of diclofénac (CI<sub>50</sub>=6,78 mg/mL). In addition, the antiurolithiatic activity reaches the maximum inhibition percentage of calcium oxalate crystallization at the concentration of 4 mg/ml of 90% and 80% for bee venom and citric acid, respectively for the nucleation test, and 68% and 59% for the aggregation test. In conclusion, we expected this investigation would provide encouragement for further exploration into new drugs for the prevention and treatment of oxidative, inflammatory and urolithiasis diseases.

**Keywords:** Activity antioxidant, Activity anti-inflammatory, Activity antiurolithiatic, Algerian bee venom (*Apis mellifera sahariensis*)

## ملخص :

تم استخدام سم النحل تقليديا في علاج بعض الحالات الصحية ، ويرجع ذلك إلى خصائصه البيولوجية الفعالة. نظراً لأن سم السلالات الجزائرية الفرعية *Apis mellifera intermissa* و *Apis mellifera sahariensis* لم يتم التحقيق فيهم ، فقد تم تخصيص هذه الدراسة للتحقيق في المختبر في الأنشطة المضادة للأكسدة والمضادة للالتهابات والمضادة لليوروليثيات لسم النحل الخام *Apis mellifera sahariensis*. بتركيزات مختلفة (0.5 ، 1 ، 2 و 4 مجم / مل) بواسطة اختبار DPPH ، وتم فحص النشاط المضاد للالتهاب باستخدام طريقة زلال المصل البقري الناجم عن الحرارة (BSA). تم اختبار النشاط المضاد لليوروليثيات ضد تبلور أكسالات الكالسيوم عن طريق قياس التعكر في وجود أو عدم وجود السم. أظهرت النتائج فعالية مضادات الأكسدة ، كما يتضح من ارتفاع التركيز النصف الأقصى الفعال (EC50) ؛ لسم النحل ( $2,33 \pm 0,04$ ) مقارنة بحمض الأسكوربيك ( $0,06 \pm 1,03$ ) و BHT ( $0,45 \pm 0,04$ )، وبالمثل ، كشف سم النحل عن نشاط مضاد للالتهابات مدعوم بتركيز الثبيط العالي النصف الأقصى لتحلل BSA ( $IC_{50}=8,34$  mg/mL) مقارنة مع ديكلوفيناك ( $CI_{50}=6,78$  mg/mL).

بالإضافة إلى ذلك ، يصل النشاط المضاد لليوروليثيات إلى الحد الأقصى لنسبة تثبيط تبلور أكسالات الكالسيوم بتركيز 4 مجم / مل 90% و 80% لسم النحل وحمض الستريك ، على التوالي لاختبار التنوي ، و 68% و 59% لسم النحل وحمض الستريك لاختبار التجميع.

في الختام ، توقعنا أن يوفر هذا البحث التشجيع لمزيد من الاستكشاف للعقاقير الجديدة للوقاية والعلاج من الأمراض المؤكسدة والالتهابية وتحصي المسالك البولية.

**الكلمات المفتاحية:** نشاط مضاد للأكسدة ، نشاط مضاد للالتهابات ، نشاط وتحصي المسالك البولية ، سم

النحل الجزائري (*Apis mellifera sahariensis*)

## Liste des abréviations

### Liste des abréviations

<b>% :</b>	Le pourcentage
<b>°C :</b>	dégré
<b>AA :</b>	acide ascorbique
<b>Abs:</b>	absorbance
<b>ADE :</b>	Agence Algérienne de Léau
<b>AINS :</b>	Les anti-inflammatoires non stéroïdiens
<b>AIS :</b>	Les anti - inflammatoires stéroïdiens
<b>ADE :</b>	Agence Algérienne de Léau
<b>BHT :</b>	Le butylhydroxytoluène
<b>BSA :</b>	Le sérum albumine bovine
<b>C4H11NO3 :</b>	Tris(hydroxyméthyl)-aminométhane
<b>CaC<sub>2</sub>O<sub>4</sub> :</b>	L'oxalate de calcium
<b>CaCl<sub>2</sub> :</b>	Chlorure de calcium
<b>CI:</b>	Concentration d'inhibition.
<b>CO<sub>x</sub> :</b>	L'enzyme cyclooxygénase
<b>CRP :</b>	Protéine C-réactive
<b>DPPH :</b>	2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl
<b>ERN :</b>	Radicaux dérivés d'azote
<b>ERO :</b>	Espèce réactive de l'oxygène
<b>G :</b>	gramme
<b>H<sub>2</sub>O:</b>	l'eau
<b>IC:</b>	concentration d'inhibition.
<b>MCD:</b>	Mast cell degranulating
<b>Mg:</b>	milligramme
<b>ml:</b>	millilètr
<b>Na<sub>2</sub>C<sub>2</sub>O<sub>4</sub> :</b>	Sodium oxalate
<b>Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> :</b>	Phosphate disodique.
<b>NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> :</b>	Phosphate monosodique.
<b>Ph:</b>	Est une mesure de la façon dont l'eau acide/ basique.

## Liste des abréviations

---

<b>SOD :</b>	La superoxydedismutase
<b>VBL:</b>	Venin d'abeille local.

## Liste des figures

N°	TITRE	PAGE
<b>Figure 1</b>	La morphologie de l'abeille.....	5
<b>Figure 02.</b>	Les sept produits de la ruche (Yves Roberti, 2011).....	6
<b>Figure 03.</b>	Le miel (Blanc, 2010). ....	6
<b>Figure 04.</b>	Le pollen (Khechai & Seraiche, 2019).....	7
<b>Figure 05.</b>	La gelée royale (Blanc, 2010). ....	7
<b>Figure 06.</b>	Le venin d'abeille (Khechai & Seraiche, 2019).....	8
<b>Figure 07.</b>	La propolis (Blanc, 2010). ....	9
<b>Figure 08.</b>	Le miellat (Blanc, 2010). ....	9
<b>Figure 9.</b>	La composition moyenne de la matière sèche du venin (Clément, 2011). ....	11
<b>Figure 10.</b>	La structure de l'acide ascorbique (vitamine C) (Diallo, 2005). ....	15
<b>Figure 11.</b>	La structure de Le butylhydroxytoluène (BHT) (Diallo, 2005).....	16
<b>Figure 12.</b>	La réaction inflammatoire (Congo. ,2012) .....	17
<b>Figure 13.</b>	Localisation de la zone d'étude.....	23
<b>Figure 14.</b>	Les ruches de l'abeille domestique, Apis mellifera, sahariensis, de la région de Bousaada, M'Sila. ....	23
<b>Figure 15.</b>	Electro-stimulateur utilisé pour la récolte du venin d'abeille. ....	23
<b>Figure 16.</b>	Réaction de test DPPH (2,2- diphényle -1-picrylhydrazyle) (Congo. ,2012).....	25
<b>Figure 17.</b>	Préparation de la solution mère de venin locale .....	26
<b>Figure 18.</b>	Préparation de la solution de DPPH.....	26
<b>Figure 19.</b>	Régulation le PH de la solution tampons (Tris + NaCl) par le PH-mètre.....	28
<b>Figure 20.</b>	Préparation de défèrent concentration de venin d'abeille.....	29
<b>Figure 21.</b>	Préparation de défèrent concentration de diclofénac sodique. ....	29
<b>Figure 22.</b>	Le turbidimètre.....	31
<b>Figure 23.</b>	Les produits utilisés dans la formation des cristaux de l'oxalate de calcium monohydrate (CaCOx). ....	32
<b>Figure 24.</b>	La réduction du DPPH par le venin d'abeille locale (VBL), l'acide ascorbique et l'butylhydroxytoluène (BHT).....	33

## Liste des figures

---

- Figure 25.** Le droit de régression du pourcentage d'inhibition du radical DPPH en fonction de la concentration en acide ascorbique et BHT (témoins positifs (de références);  $0,25 \times 10^{-1}$  ;  $0,25 \times 10^{-2}$ ;  $0,25 \times 10^{-3}$  ;  $0,25 \times 10^{-4}$  ;  $0,25 \times 10^{-5}$  mg/ml. L'acide ascorbique.....34
- Figure 26.** Le droit de régression du pourcentage d'inhibition du radical DPPH en fonction de la concentration en venin d'abeille locale(VBL);  $0,25 \times 10^{-1}$ ;  $0,25 \times 10^{-2}$ ;  $0,25 \times 10^{-3}$  ;  $0,25 \times 10^{-4}$  ;  $0,25 \times 10^{-5}$  mg/ml. Le VBL a été préparé dans l'éthanol. ....35
- Figure 27.** L'activité antioxydante (%) au test DPPH de l'acide ascorbique (AA), le BHT et le venin d'abeille local (VBL).....35
- Figure 28.** La concentration efficace moyenne (CE50) de l'acide ascorbique (AA), le BHT et le venin d'abeille local (VBL), représentant la concentration nécessaire pour réduire 50% du radical DPPH. Les valeurs de CE50 sont présentées en moyenne  $\pm$  erreur de moyenne.....36
- Figure 29.** Corrélation entre la concentration et l'inhibition (%) Par analyse linéaire de l'activité anti-inflammatoire in-vitro avec la méthode de dénaturation des protéines sériques bovines. VBL : Venin d'abeille locale (VBL) .....37
- Figure 30.** Pourcentage d'inhibition de la cristallisation de l'oxalate de calcium monohydraté par des différentes concentrations de venin d'abeille locale (VBL) et l'acide citrique (témoin positif). Test de nucléation.....39
- Figure 31.** Pourcentage d'inhibition de la cristallisation de l'oxalate de calcium monohydraté par des différentes concentrations de venin d'abeille locale (VBL) et l'acide citrique (témoin positif). Test d'agrégation.....39

# Sommaire

---

**Remerciement**

**Dédicace**

**Résumé**

**Abstract**

**ملخص**

**Liste des Abréviations**

**Liste des Figures**

**Liste des Tableaux**

**Sommaire**

**Introduction .....1**

## **Chapitre 02 : Partie bibliographique**

<b>I. Génialité sur les abeilles : .....</b>	<b>3</b>
1. Historique.....	3
2. Définition: .....	3
3. Classification systématique classique de l'abeille domestique .....	3
3.1 L'Apis mellifica intermissa : .....	4
3.2 L'Apis mellifica sahariensis : .....	4
4. La morphologie: .....	4
4.1 La Tête : .....	5
4.2 Le Thorax : .....	5
4.3 L 'abdomen : .....	5
5. Les produits de la ruche : .....	5
5.1 Le miel : .....	5
5.2 Le pollen : .....	6
5.3 Gelée royale: .....	7
5.4 La cire .....	7
5.5 Venin .....	8
5.6 La propolis .....	8

## Sommaire

---

5.7	Le miellat .....	9
6.	Le venin d'abeille .....	10
6.1.	La récolte du venin d'abeille .....	10
6.2.	Composition de venin .....	11
6.2.1.	La Mellitine... ..	11
6.2.2.	La Phosphlipase A2 .....	11
6.2.3.	L'Apamine .....	11
6.2.4.	La Hyaluronidase .....	11
6.2.5.	l'histamine .....	12
6.2.6.	L'adolapine .....	12
6.2.7.	Le peptide MCD .....	12
6.3.	Facteurs affectant le venin d'abeille : .....	12
6.4.	L'utilisation de venin d'abeille : .....	12
<b>II. Activités biologiques:</b> .....		14
1.	Activite antioxydant .....	14
1.1	stress oxydatif : .....	14
1.2	Origine du stress .....	14
1.3	Les radicaux libres .....	14
1.3.1.	Espèce réactive de l'oxygène (ERO) .....	14
1.3.2.	Les radicaux dérivés d'azote (ERN) .....	15
1.4	Les antioxydants .....	15
1.5.	Les type des antioxydants .....	15
1.5.1.	Les antioxydants endogènes .....	15
1.5.2.	Les antioxydants exogènes .....	15
a.	La vitamine C .....	15
b.	Le BHT .....	16
1.6.	Mecanisme antioxydant .....	16

## Sommaire

---

1.7.	L'évaluation de l'activité antioxydant .....	17
2.	Activité Anti-inflammatoires .....	17
2.1.	L'inflammation.....	17
2.1.1.	Inflammation aigue .....	18
2.1.2.	L'inflammation chronique.....	18
2.2.	Anti - inflammatoires.....	18
2.2.1.	Les anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS).....	18
2.2.2.	Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS).....	19
2.3.	Mécanisme d'action.....	19
3.	Activité Anti-lithiasique .....	20
3.1	lithiase urinaire .....	20
3.2	La lithogenèse .....	20
3.3	Facteurs de la lithogenèse.....	20
3.4	L'antilithiasique.....	21
3.4.1	Définition.....	21
3.4.2	Mécanisme.....	21
 <b>Chapitre 02 : Matériels et Méthodes</b>		
1.	Lieu d'étude.....	22
1.	Matériels .....	22
2.	Méthodes.....	25
3.1.	Evaluation de l'activité antioxydant .....	25
3.2.	Evaluation de l'activité anti-inflammatoire .....	27
3.3.	Evaluation de l'activité anti-lithiasique .....	30
 <b>Chapitre 03 : Résultats &amp; Discussion</b>		
1.	L'activité antioxydant .....	33
2.	L'activité anti-inflammatoire.....	36
3.	L'activité anti-lithiasique.....	37
<b>Conclusion générale .....</b>		<b>40</b>

**Sommaire**

---

-Références bibliographiques.....



# Introduction

### Introduction:

## بِسْمِ اللّٰهِ الرَّحْمٰنِ الرَّحِیْمِ



Albert Einstein (1879-1955) a dit que si les abeilles venaient à disparaître, l'humanité ne survivrait que pendant seulement quatre années. Alors, l'importance et l'urgence de protéger cet animal sont primordiales pour assurer la survie de l'humanité et préserver notre environnement (Clement, 2006). L'abeille (*Apis mellifera*) est un insecte social de l'ordre des hyménoptères qui vit en colonies et qui sont connue pour produire de la cire et du miel, venin ... etc, et elles jouent un rôle essentiel en tant que pollinisatrices pour les plantes sauvages et cultivées. Le service qu'elles fournissent en termes de pollinisation est d'une valeur considérable sur le plan agronomique, environnemental et économique, dépassant largement celle des produits issus des ruches. Il s'agit en effet d'un service vital pour maintenir l'équilibre des écosystèmes. Depuis des temps anciens, l'abeille a été utilisée pour ses multiples bienfaits, tels que le miel, la cire, la gelée royale, le pollen, la propolis et même son venin. Ces produits sont réputés pour leurs qualités nutritionnelles et thérapeutiques et sont consommés à travers le monde entier (Louveaux, 1958 ; LUKOKI *et al.*, 2023). L'apithérapie est une forme de médecine alternative qui utilise les produits de la ruche, tels que le miel, la propolis et la gelée royale, à des fins thérapeutiques. Les adeptes de cette pratique croient que ces produits ont des propriétés médicinales bénéfiques pour la santé humaine, notamment en tant qu'antibiotiques naturels, anti-inflammatoires et immunostimulants. L'apithérapie peut prendre différentes formes, comme l'ingestion de ces produits, leur application topique ou même l'utilisation de piqûres d'abeilles vivantes dans le cadre de l'apipuncture. Dans l'apithérapie, le venin d'abeille est administré de différentes manières, notamment par des piqûres d'abeilles vivantes ou par l'utilisation de produits contenant du venin d'abeille, tels que les crèmes et les onguents (Ali, 2012 ; Kim, 2013). Certaines études scientifiques suggèrent que l'apithérapie au venin d'abeille peut être efficace dans le traitement de divers problèmes de santé, tels que l'arthrite rhumatoïde, la sclérose en

## Introduction

---

plaques, les douleurs articulaires et musculaires, et les maladies de la peau telles que le psoriasis et l'eczéma. Cependant, il convient de noter que les preuves scientifiques sur le venin d'abeille, et surtout les sous espèces Algériens (*Apis mellifera intermissa* et *Apis mellifera sahariensis*), d'Algérie sont encore limitées et que des recherches supplémentaires sont nécessaires pour confirmer ces effets bénéfiques (Kintz and Villain, 2011). Donc, L'objectif de cette recherche est d'examiner le potentielle thérapeutique et l'efficacité de certaines caractéristique biologiques du venin d'abeille locale (*Apis mellifera sahariensis*), telles que ses propriétés anti-inflammatoires, anti-lithiasique et antioxydant.

Notre travail se divise en trois chapitres : synthèse biographiques, matériels et méthodes, résultats obtenus et discussion et Finalement une conclusion.



**Chapitre1:**  
**Synthèse bibliographique**

## I. Généralité sur les abeilles :

### 1. Histoire d'abeille :

Historiquement, dans les années 1920, Alfred Cary Hawkins, un géologue et minéralogiste, a fait une découverte majeure lorsqu'il travaillait dans une carrière près de Kinkora, dans l'État du New Jersey, aux États-Unis. Il a trouvé un morceau d'ambre renfermant un insecte d'environ 6 millimètres de long. Les analyses ont révélé qu'il s'agissait d'une abeille ouvrière de l'espèce *Trigona*, et qu'elle était emprisonnée dans cette goutte de résine depuis 45 à 65 millions d'années. *Trigonaprisca* reste à ce jour le fossile d'abeille le plus ancien du monde. Les abeilles de l'espèce *Trigona* appartiennent au groupe des mélipones (*Meliponini*), qui compte 370 espèces. Ces abeilles, dépourvues de dard, établissent des colonies permanentes sur plusieurs générations, tout comme les abeilles mellifères, et sont organisées autour de la division du travail. Cette découverte prouve que des abeilles caractérisées par une vie sociale existent sur Terre depuis probablement plus de 50 millions d'années (Grüter, 2020).

### 2. Définition :

Le terme "abeille" dérive du mot latin "apis", qui signifie "mouche à miel". Il existe plus de 20 000 espèces d'abeilles qui jouent un rôle crucial dans la pollinisation et la survie des plantes, contribuant ainsi à la propagation et à l'évolution de 80 % des plantes à fleurs. Les abeilles sont arrivées sur notre planète il y a environ 45 millions d'années, bien avant l'apparition des Hommes, et elles font partie de l'ordre des hyménoptères et est un insecte social. Le genre *Apis mellifera* est largement reconnu et utilisé dans le domaine de l'apiculture. Il englobe différentes espèces géographiques présentes en Europe, en Afrique, en Asie occidentale, en Amérique du Nord, en Amérique du Sud, en Australie et en Nouvelle-Zélande (Xagoraris *et al.*, 2021).

### 3. Classification systématique classique de l'abeille domestique Selon (Panarelli, 2020).

- Règne : Animalia
- Embranchement : Arthropoda
- Sous-embranchement : Hexapoda
- Classe : Insecta
- Sous-classe : Pterygota
- Infra-classe : Neoptera
- Super -ordre : Endopterygota
- Ordre : Hymenoptera
- Sous-ordre : Apocrita

- Infra-ordre : Aculeata
- Famille : Apidae
- Sous-famille : Apinae
- Genre : *Apis*
- Espèce : *Apis mellifera*
- Sous-Espèce : *A. m. sahariensis* , *A. m. intermissa* :

En Algérie, l'élevage des abeilles mellifères est largement répandu dans toutes les zones agro écologiques, notamment dans les régions montagneuses, les oasis et les plaines. Une abondance de cette espèce d'abeille est présente, et elle s'intègre harmonieusement dans les systèmes de production arboricole. Il existe deux races qui composent cette espèce (**Fridi et al., 2022**).

### 3.1. L'*Apis mellifera intermissa* :

Communément appelée « abeille tellienne » ou « abeille noire du tell », est une race d'abeilles dont l'aire de répartition correspond principalement à l'Atlas tellien. Cette race trouve son origine en Libye, en Tunisie, en Algérie et au Maroc, mais elle est plus largement répandue en Algérie. Les caractéristiques principales de cette race sont son agressivité, sa nervosité, sa tendance à l'essaimage, ainsi que sa grande fécondité et sa capacité à récolter efficacement le pollen et la propolis (**Fridi et al., 2022**).

### 3.2. L'*Apis mellifera sahariensis* :

Également connue sous le nom d'"abeille saharienne", est une race d'abeilles qui se trouve dans le désert du Maroc et de l'ouest de l'Algérie. Comparée à l'*Apis mellifera intermissa*, elle est de taille plus petite. L'*Apis mellifera sahariensis*, connue sous le nom d'abeille saharienne, est principalement présente dans le sud-ouest de l'Algérie, notamment à Béchar et Ain Safra. Elle se distingue par sa couleur noire et possède des caractéristiques telles que la productivité, la prolificité, la résistance aux maladies et aux prédateurs. Cependant, il convient de noter qu'elle est également très agressive et a tendance à essaimer. En Algérie, la race dominante est l'abeille tellienne, qui se présente sous différentes variétés adaptées aux différents biotopes (**Fridi et al., 2022**).

#### 4. La morphologie de l'abeille :

Le corps de l'abeille consiste la tête, thorax et l'abdomen (**figure 1**)

##### 4.1. La Tête

C'est une capsule ovoïde, Il y a deux yeux de très grande taille, placés de chaque côté de la tête et trois ocelles. Ce sont les trois petits yeux situés au centre de la tête. Il existe également des antennes et des pièces buccales qui permettent la communication (*Azizi et al., 2020*).

##### 4.2 Le Thorax

C'est la partie la plus dure du corps. située entre la tête et l'abdomen, Il assure la locomotion de l'abeille parce qu'elle a trois paires de pattes et deux grandes ailes et deux petites, les ailes antérieures et postérieures s'accrochent grâce à des crochets. Le thorax possède des muscles puissants et trois paires d'orifices respiratoires appelés stigmates. (*Azizi et al., 2020*).

##### 4.3 L'abdomen :

C'est la partie la plus grosse de l'abeille, Il est composé de 7 anneaux mobiles qui peuvent s'allonger suivant le besoin. L'abdomen possède une grande partie du système respiratoire trachéen, le système digestif et reproducteur, et l'organe venimeux pour les reines et les ouvrières (*Azizi et al., 2020*).

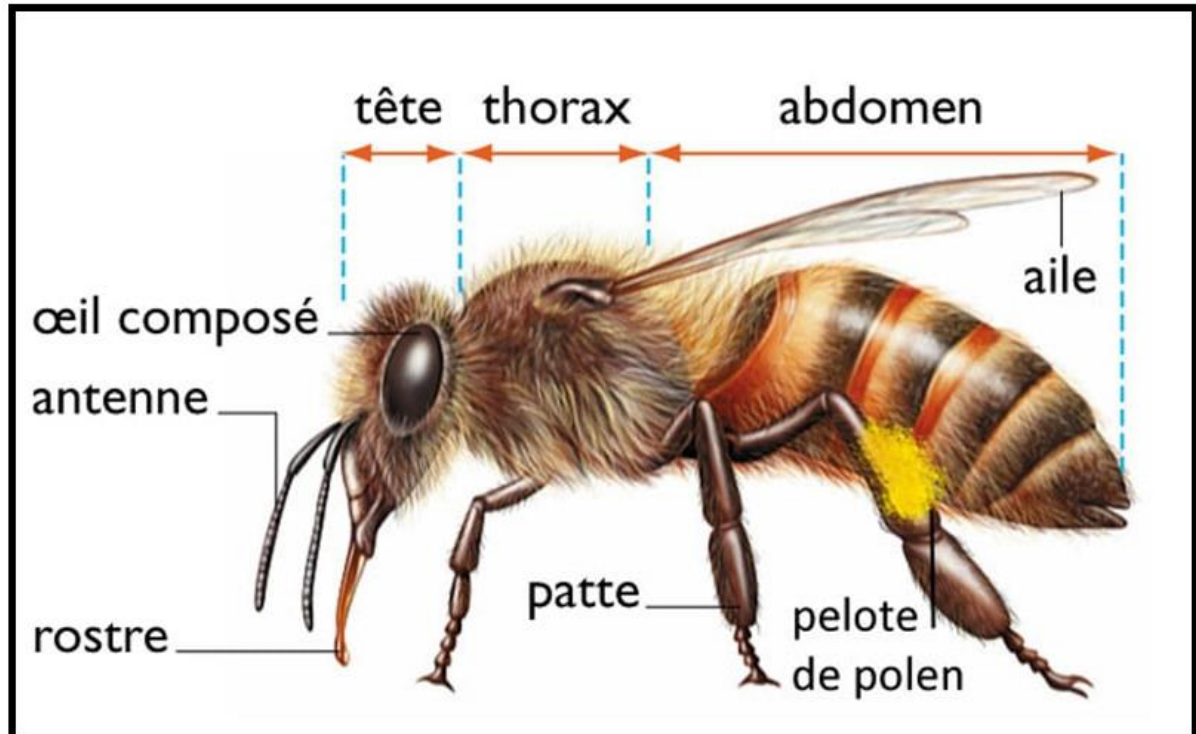
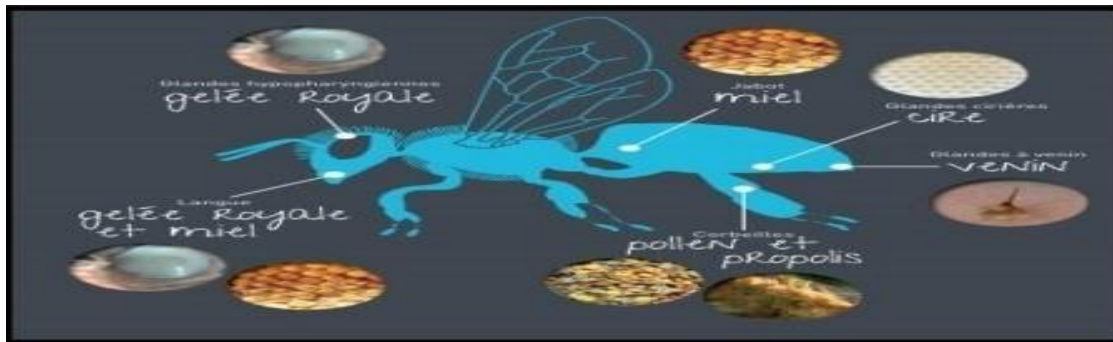


Figure 1 La morphologie de l'abeille.

#### 5. Les produits de la ruche

La ruche est composée principalement de gelée royale, miel, cire, pollen, propolis et venin (**Figure 2**)



**Figure 02. Les sept produits de la ruche (Yves Roberti, 2011).**

### 5.1. Le miel :

Le miel est une substance naturelle sucrée, avec un apport glucidique couvrant des besoins énergétiques de l'abeille. IL est le seul produit au monde qui soit consommé par l'homme et fabriqué par l'insecte. Le miel provient de produits végétaux récoltés par les abeilles avant transformation, le nectar est la base, qui est produite par les glandes nectarifères des nectaires des plantes à fleurs (**Figure 03**) (Chirsanova *et al.*, 2022).



**Figure 03. Le miel (Blanc, 2010).**

### 5.2. Le pollen

Le pollen« pain d'abeille », (**Figure 04**) est l'aliment fécondant mâle d'une fleur. Les abeilles récoltent le pollen sur les anthères des fleurs et le ramènent à la ruche sous forme de pelotes collées à leurs pattes. Ils proviennent de nombreuses plantes, leur contenu peut donc varier considérablement.

Le pollen d'abeilles est considéré comme un complément alimentaire diététique qui a connu une large gamme d'utilisation avec ses propriétés thérapeutiques (Végh *et al.*, 2021).



**Figure 04. Le pollen (Khechai & Seraiche, 2019).**

### 5.3. Gelée royale :

Est une substance sécrétée par les abeilles ouvrières, qui a l'aspect d'une sécrétion laiteuse. Elle est composée généralement d'environ 60% à 70% d'eau, de 12% à 15% de protéines, de 10% à 16% de sucre, de 3% à 6% de matières grasses, ainsi que de 2% à 3% de vitamines, de sels et d'acides aminés. Sa composition peut varier en fonction de la géographie et du climat. La gelée royale tire son nom du fait qu'elle est utilisée par les abeilles pour nourrir et développer les reines de la ruche. Certains individus utilisent la gelée royale à des fins médicinales (Figure 05) (Collazo *et al.*, 2021).



**Figure 05. La gelée royale (Blanc, 2010).**

### 5.4. La cire

Est un produit fabriqué par les abeilles des espèces *Apis mellifera* et *Apis cerana*. Elle est produite sous forme liquide par les glandes à cire présentes dans l'abdomen des ouvrières. La

composition de la cire d'abeille est complexe, comprenant plus de 300 composants différents. Parmi ces composants, on trouve des hydrocarbures, des acides gras libres, des esters d'acides gras et d'alcools gras, ainsi que des diesters et des substances provenant de l'environnement dans lequel les abeilles évoluent (**Figure 06**) (Demirkesen and Mert, 2019).



**Figure 06. La cire (Chott, 2018).**

#### 5.5. Le Venin :

Une substance toxique est un mélange de différents composés produit par deux glandes distinctes : la glande acide (venimeuse) et la glande alcaline (lubrifiante ou du four). Environ 10 000 abeilles sont nécessaires pour produire un gramme (1g) de venin, et ce venin est stocké dans le réservoir situé dans l'abdomen de l'abeille; Il est principalement composé de 85% d'eau et de 15% de diverses substances, telles que des enzymes, des protéines, des sucres, des phospholipides, des hydrates de carbone, des acides, des amines, ainsi que des composés anti-inflammatoires tels que l'apamine et la méllitine (**Figure 07**)(Khalil *et al.*, 2021).



**Figure 07. Le venin d'abeille (Khechai & Seraiche, 2019).**

### 5.6. La propolis :

La propolis est une substance résineuse collectée par les abeilles à partir des jeunes bourgeons. Sa composition est complexe et varie considérablement en fonction de la région d'origine, étant étroitement liée aux résines spécifiques utilisées par les abeilles (Santos *et al.*, 2020).



Figure 06. La propolis (Blanc, 2010).

### 5.7. Le miellat :

Le miellat est une substance liquide épaisse et visqueuse qui est constituée des excréments liquides des insectes homoptères tels que les psylles, les cochenilles et surtout les pucerons. Comparé au nectar, il est plus dense et contient une quantité plus élevée d'azote, d'acides organiques, de minéraux et de sucres complexes. Les abeilles récoltent le miellat en complément ou en remplacement du nectar, ce qui donne un miel de couleur plutôt sombre et moins humide que le miel de nectar (Figure 09) (Roubik, 2023).



Figure 07. Le miellat (Blanc, 2010).

## 6. Le venin d'abeille

Le venin est sécrété par deux glandes situées dans l'abdomen et est conservé dans un réservoir à venin. Il se forme pendant la première semaine de vie de l'abeille et la glande à venin est opérationnelle au bout de 4 semaines quand les ouvrières deviennent gardiennes. La glande à venin est reliée par un canal à la chambre à venin. Il est utilisé pour la défense de la ruche contre les intrus mais aussi par les reines pour se débarrasser des rivales, est composé de nombreux peptides et enzymes qui sont nécessaires pour l'organisme humain (Khalil *et al.*, 2021).

### 6.1. La récolte du venin d'abeille

Le venin d'abeille est généralement obtenu à partir des piqûres d'abeilles. Voici deux méthodes courantes pour obtenir le venin d'abeille.

#### 6.1.1. Collecte manuelle

Cette méthode consiste à stimuler une abeille pour qu'elle pique un matériau qui collectera le venin. Les apiculteurs utilisent souvent des feuilles de verre ou des plaques en plastique avec des électrodes en métal pour recueillir le venin. Lorsqu'une abeille pique le matériau, le venin est délivré dans le plastique ou la feuille de verre et peut ensuite être récupéré (Aparna, 2020).

#### 6.1.2. Collecte électrique :

Cette méthode utilise un dispositif électrique pour stimuler les abeilles à piquer une surface conductrice. Le venin est alors recueilli sur la surface conductrice et peut être collecté. Cette méthode est souvent utilisée à grande échelle pour produire du venin d'abeille à des fins commerciales (Omar, 2020).

## 6.2. Composition de venin :

Les principaux composants sont donc la mellitine (40 à 50%), la phospholipase A2 (10 à 12%) et l'apamine (2 à 3%). Ces trois composés sont principalement à l'origine des propriétés du venin (Figure 10) (Abd El-Wahed *et al.*, 2019).

### 6.2.1. La mellitine

La mellitine induit un désordre dans les bicouches phospholipidiques, provoquant une lyse cellulaire. la mellitine serait un anti-inflammatoire 100 fois plus puissant que l'hydrocortisone, également cardiotonique, immuno-stimulant et anticoagulant.

### 6.2.2. La Phospholipase A2

La phospholipase A2 est une enzyme qui intervient dans le processus inflammatoire.

### 6.2.3. L'Apamine

C'est un peptide basique qui possède des propriétés neurotoxiques périphériques et centrales par passage de la barrière méningée. Elle bloque les canaux calciques dépendants du potassium au niveau du système nerveux central (canaux SK2 et SK3) ce qui la met en cause dans les effets neurotoxiques après piqûre ou en cours d'immunothérapie spécifique par venin d'abeille.

### 6.2.4. La Hyaluronidase

La hyaluronidase dégrade les acides hyaluroniques, ce qui permet une diminution de la viscosité de la matrice extracellulaire. Ainsi, les cellules et molécules ont une meilleure diffusion. Ce processus est retrouvé dans le phénomène de l'inflammation (Abd El-Wahed *et al.*, 2019).

### 6.2.5. L'histamine :

Compte pour 0,5 à 2 % est impliqué dans la réponse allergique.

### 6.2.6. L'adolapine

Compte pour 2 à 5 % des peptides et agit comme un anti-inflammatoire et un analgésique car il bloque la cyclooxygénase.

### 6.2.7. Le peptide MCD :

Est un peptide dégranulateur des mastocytes (MCDP ou peptide 401) et qui possède une action anti-inflammatoire potentiellement intéressante dans les cas d'arthrites (Abd El-Wahed *et al.*, 2019).

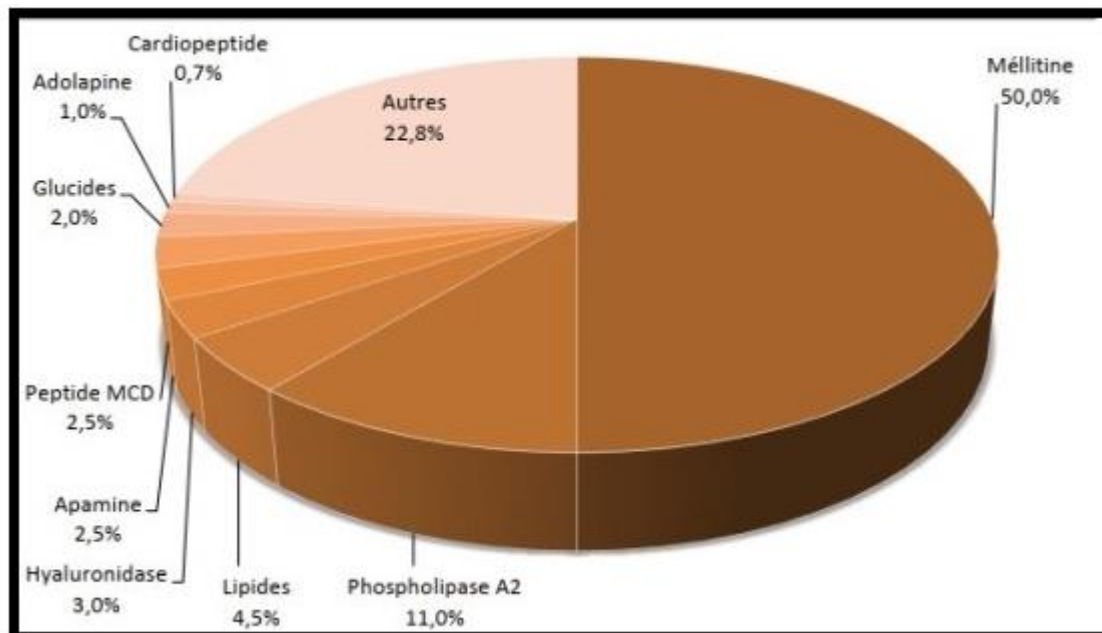


Figure 8. La composition moyenne de la matière sèche du venin (Clément, 2011).

### 6.3. Facteurs affectant le venin d'abeille :

Le venin d'abeille est composé de plusieurs substances, notamment des enzymes, des peptides et des protéines, qui peuvent varier en quantité et en composition en fonction de plusieurs facteurs :

- L'espèce d'abeille : il existe différentes espèces d'abeilles, et chacune peut produire un venin avec une composition légèrement différente.
- L'âge de l'abeille : les abeilles plus âgées ont tendance à produire un venin plus fort que les abeilles plus jeunes.
- La saison : le venin d'abeille peut être plus puissant pendant les mois d'été, lorsque les abeilles sont plus actives.
- La nourriture : la qualité et la quantité de nourriture que les abeilles consomment peuvent affecter la composition de leur venin.
- La région géographique : la composition du venin d'abeille peut varier en fonction de l'endroit où les abeilles vivent.
- Le stress : les abeilles stressées peuvent produire un venin plus puissant que les abeilles détendues (**Kekeçoğlu et al., 2022**).

### 6.4. L'utilisation thérapeutiques de venin d'abeille

Le venin d'abeille est généralement utilisé dans le domaine de l'apithérapie est l'utilisation thérapeutique médicamenteuse de produits d'abeille, consistant des composants de la ruche d'abeille, particulièrement le venin d'abeille. L'un des aspects de la médecine alternative adoptée depuis l'antiquité est l'apithérapie qui consiste à l'utilisation des produits de la ruche pour traiter de nombreuses pathologies, parmi eux la thérapie au venin d'abeilles (apitoxine) qui vise à traiter plusieurs maladies, telles que : les Rhumatismes, les maladies cancéreuses et les maladies dermatologiques (**Şengul and Vatansev, 2021**).

Elle est réalisée soit par une piqure directe d'une abeille vivante sur la peau du patient ou récemment par une injection intradermique à l'aide d'une aiguille hypodermique (**Şengul and Vatansev, 2021**).

De plus, le venin d'abeille a été utilisé comme une médecine traditionnelle pour traiter certaines maladies par ses effets anti-inflammatoires. La thérapie au venin d'abeille est la partie de l'apithérapie qui utilise le venin d'abeille dans le traitement des problèmes de santé. Plusieurs chercheurs ont montrés l'importance de ce type de traitement contre plusieurs maladies et symptômes, Le venin d'abeilles trouve son utilité dans l'arthrose grâce à ses propriétés analgésiques et anti-inflammatoires.

Les propriétés anti-inflammatoires du venin d'abeille sont utilisées pour soigner certaines pathologies. Des études menées sur la thérapie aux toxines naturelles ont révélé que le venin d'abeilles présente une activité anti inflammatoires puissante grâce aux propriétés bioactives de ses composants (Şengul and Vatansev, 2021).

Il existe des études qui traitant l'effet du venin d'abeille sur le processus de cancérogenèse. Il a été démontré que la fixation de la melittine sur les cellules cancéreuses a permis de bloquer leur multiplication et leur propagation( Pan et al ,2015), L'activité anti cancéreuse assurée par l'apitoxine est engendrée principalement par la mélittine qui fonctionne en synergie avec la PLA2, par diverses cascades d'activation qui aboutissent à l'induction de l'apoptose, l'arrêt de la métastase et l'angiogenèse ainsi que l'arrêt du cycle cellulaire (Şengul and Vatansev, 2021).

En outre, le venin d'abeille augmente la circulation sanguine coronaire et périphérique, améliore-la microcirculation de sang, ralentit le cœur aux doses inférieures et le stimule aux plus hautes doses, baisse la tension, antiarhythmique contre la coagulation de sang et fibrinolytique, stimule la construction d'érythrocytes. Il est utilisé aussi dans les allégements d'hypertension, l'artériosclérose, l'arythmie d'angine de poitrine (Şengul and Vatansev, 2021).

La mélittine et la phospholipase A2 qui désorganisent les membranes cellulaires sont principalement responsables de l'activité antibactérienne, plutôt dirigée vers des bactéries à Gram négatif. La mélittine est responsable de l'action antivirale en modifiant la plaque d'adhésion cellulaire, ce qui empêche la fixation de certains virus (notamment le virus de l'herpès simplex de type 1) et par extension leur pénétration. Le venin a montré également une toxicité envers le Plasmodium falciparum (Şengul and Vatansev, 2021).

En plus, le venin d'abeille est l'arme de défense ultime de l'abeille, des ouvrières gardiennes sont postées à l'entrée de la ruche. Dans l'hypothèse où un intrus essaie de pénétrer la ruche, les gardiennes tentent de le faire fuir voire de le tuer et utilisent alors en plus de leurs mandibules, leur appareil inoculateur de venin. Après la piqûre, les dents du dard l'obligent à rester implanté dans la chair de la victime. Le sac à venin ainsi implanté continue à injecter régulièrement son contenu par des contractions pendant 2 à 5 minutes. Le plus souvent, la douleur engendrée par la piqûre suffit à éloigner l'agresseur, la dose létale pour un adulte de 80 kg est estimée à un peu plus de 1500 piqûres, soit une dose de 19 piqûres/kg environ. Une particularité concernant la reine lui permet de survivre après la piqûre, son dard lisse qui ne reste pas solidaire de ses victimes et lui permet donc de tuer ses concurrentes déjà sortie ou même encore dans leur cellule (El-Seedi et al., 2022).

## II. Activités biologiques

## 1. Activité antioxydant :

### 1.1. Stress oxydative :

Est un phénomène causé par un déséquilibre entre la production et l'accumulation d'espèces réactives à l'oxygène (ROS) dans les cellules et les tissus et la capacité d'un système biologique à détoxifier ces produits réactifs (Migdal, 2011).

### 1.2 Origine du stress :

Les radicaux libres sont produits par divers mécanismes physiologiques car ils sont utiles pour l'organisme à doses raisonnables. Cette production physiologique est parfaitement maîtrisée par des systèmes de défense. Dans les circonstances normales, on dit que la balance antioxydants/prooxydants est en équilibre. Si tel n'est pas le cas, que ce soit par déficit en antioxydants ou par suite d'une surproduction énorme de radicaux libres, un état de «stress oxydant » est signalé (Migdal, 2011).

### 1.3. Les radicaux libres:

Les radicaux libres sont des entités chimiques autonomes, comprenant des atomes, des molécules ou des fragments de molécules. Ayant un ou plusieurs électrons célibataires ce qui les rend extrêmement réactifs. Les radicaux libres recherchent la stabilité en capturant les électrons des molécules avoisinantes, ce qui entraîne à leur tour l'instabilité de ces molécules (Migdal, 2011).

#### 1.3.1. Espèce réactive de l'oxygène (ERO) :

Espèces réactives oxygénées (ERO) qui sont des formes variées de l'oxygène active, elles incluent les radicaux libres comme l'anion super oxyde ( $O_2^{\cdot-}$ ) et le radical hydroxyle ( $\cdot OH$ ), et les espèces non radicalaires qui sont des oxydants et/ou facilement transformées en radicaux comme le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) (Migdal, 2011).

#### 1.3.2. Les radicaux dérivés d'azote (ERN) :

Contrairement aux ERO, il y a peu de données sur l'altération induite par les espèces réactives d'azote, ils sont considérés comme une sous-classe des radicaux libres qui sont générés par la réaction de l'oxygène avec l'azote. Les ERN incluent des espèces non-radicalaires (acide nitreux, le peroxy-nitrite et alcyloxy-nitrite) et des espèces radicalaires (l'oxyde nitrique et le dioxyde d'azote) (Lemaire and Rassat, 1964 ; Luo *et al.*, 2018).

## 2. Les antioxydants :

Les antioxydants sont des composés capables de neutraliser les radicaux libres, qui sont responsables de nombreux problèmes de santé. Les antioxydants agissent en inhibant ou en retardant le processus d'oxydation, empêchant ainsi l'amorçage ou la propagation de réactions en chaîne

d'oxydation. Ils sont des composés qui réagissent avec les radicaux libres et les rendent ainsi inoffensifs.

Les antioxydants sont également utilisés pour Retarde la détérioration, le rancissement ou la décoloration des aliments, généralement dus à Oxydation causée par la lumière, la chaleur et certains métaux. Il existe deux classes d'antioxydants : Les endogènes et les exogènes (Wu *et al.*, 2022).

### 2.1. Le type des antioxydants :

#### 2.1.1. Les antioxydants endogènes :

Sont principalement les enzymes super oxyde dismutase, catalase et glutathion peroxydase dont les mécanismes sont développés plus haut. La deuxième partie permet d'appréhender (Migdal, 2011).

#### 2.1.2. Les antioxydants exogènes :

Qui sont, par définition, apportés de l'extérieur de l'organisme par exemple par l'alimentation, y compris :

##### a. La vitamine C :

La vitamine C ou acide ascorbique, est essentielle pour l'organisme humain en raison de ses fonctions critiques en tant que cofacteur enzymatique et antioxydant. En tant que cofacteur enzymatique, la vitamine C est impliquée dans plusieurs processus importants. Elle joue un rôle clé dans la synthèse des catécholamines, du collagène, de la carnitine et de l'acide biliaire. De plus, elle participe à la transformation de la dopamine en noradrénaline, au métabolisme des stéroïdes, de la tyrosine et du cholestérol (Mierina *et al.*, 2022).

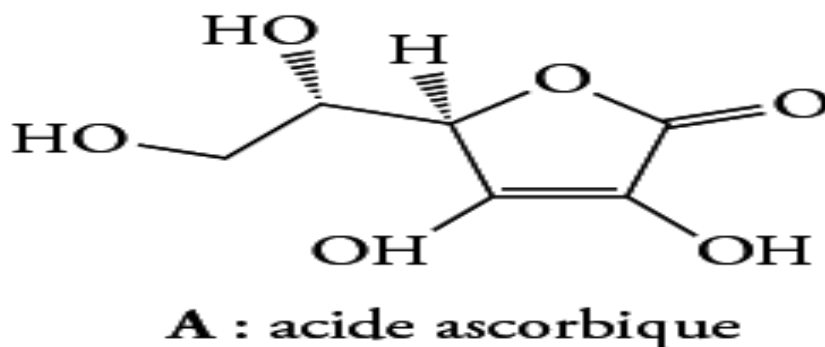
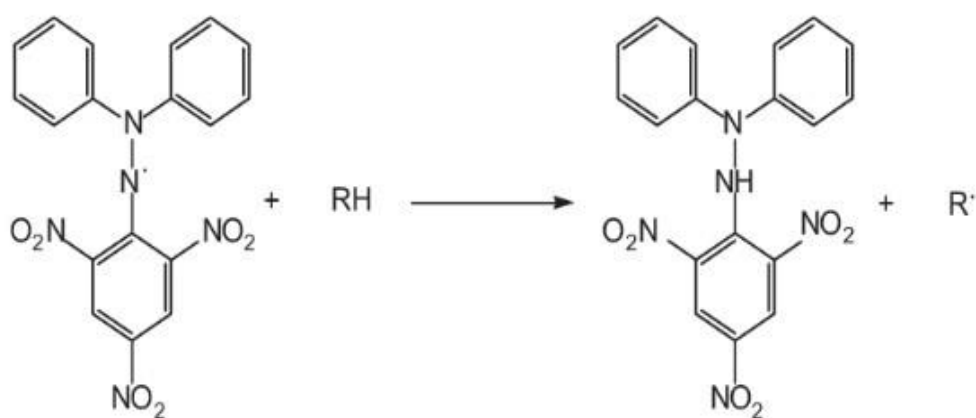


Figure 9. La structure de l'acide ascorbique (vitamine C) (Diallo, 2005).

##### b. Le BHT :

Le butylhydroxytoluène (BHT) est un composé chimique fréquemment employé comme additif alimentaire et antioxydant. Son rôle principal consiste à empêcher l'oxydation et la détérioration des

aliments et des produits cosmétiques, ce qui prolonge leur durée de conservation. Le BHT agit en entravant les réactions chimiques d'oxydation susceptibles d'altérer la qualité, la couleur et la saveur des produits. U.S (Mieriņa *et al.*, 2022).



**Figure 10. La structure de Le butylhydroxytoluène (BHT) (Diallo, 2005).**

## 2.2. Mécanisme antioxydant :

Dans des conditions physiologiques normales, il existe un équilibre entre la production de radicaux libres et les mécanismes de défense antioxydant endogènes présents dans le corps. Ces mécanismes comprennent des enzymes telles que la catalase, la peroxydase dismutase et la glutathion peroxydase, ainsi que les vitamines A, E et C, ainsi que les polyphénols provenant de l'alimentation et des plantes. Depuis 1968, le rôle essentiel de la superoxydedismutase (SOD) dans le système de défense antioxydant de l'organisme est connu. L'ion peroxyde  $O_2^-$  est le point de départ de la chaîne de production des radicaux libres. Dès cette étape précoce, la SOD inactive l'ion  $O_2^-$  en le transformant en peroxyde d'hydrogène  $H_2O_2$ . Ce dernier est ensuite rapidement dégradé en dioxygène  $O_2$  et en molécules d'eau  $H_2O$  par la catalase et les peroxydases. L'activité antioxydant de ces molécules peut être évaluée *in vitro* par différentes méthodes, telles que la méthode du DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle).

Ces mécanismes de défense antioxydant sont importants car les radicaux libres, lorsqu'ils sont présents en excès, peuvent causer des dommages oxydatifs aux cellules et contribuer au développement de diverses maladies. Il est donc crucial d'avoir un équilibre adéquat entre la production de radicaux libres et les mécanismes de défense antioxydant pour maintenir la santé et le bien-être de l'organisme (Wu *et al.*, 2022).

## 2.3. L'évaluation des activités biologiques

Ces dernières décennies, de nombreux tests ont été développés pour évaluer l'activité antioxydant des nouveaux composés. Plusieurs méthodes sont utilisées pour déterminer cette activité et sont nommées d'après la substance utilisée comme source de radicaux libres. Parmi ces méthodes,

on trouve le test DPPH<sup>+</sup> (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl). Ce test est stable à température ordinaire avec une couleur violette se réduit en 2,2 Diphényl 1 picryl hydrazine de couleur jaune. Il possède un électron non apparié sur un atome du pont, d'azote. Facilement mesurable par spectrophotométrie à 517 nm, et par conséquent une diminution de l'absorbance et fut l'un des premiers radicaux libres utilisée pour étudier la relation structure-activité antioxydant des composés phénoliques. La méthode est généralement standardisée par rapport à un contrôle positif réalisé avec un antioxydant standard (Baliyan *et al.*, 2022).

## 2. Activité Anti-inflammatoire

### 2.1 . L'inflammation

L'inflammation est un processus naturel complexe utilisé par le corps pour se défendre contre des agressions étrangères au niveau des vaisseaux sanguins et des tissus. Son but est d'éliminer ou d'isoler l'agresseur et de maintenir l'intégrité des tissus infectés. L'inflammation se manifeste par différents signes caractéristiques, notamment la chaleur, la douleur, la rougeur et le gonflement de la partie affectée. Il s'agit d'un état anormal de l'organisme qui indique une réaction inflammatoire en cours (Liu *et al.*, 2022).

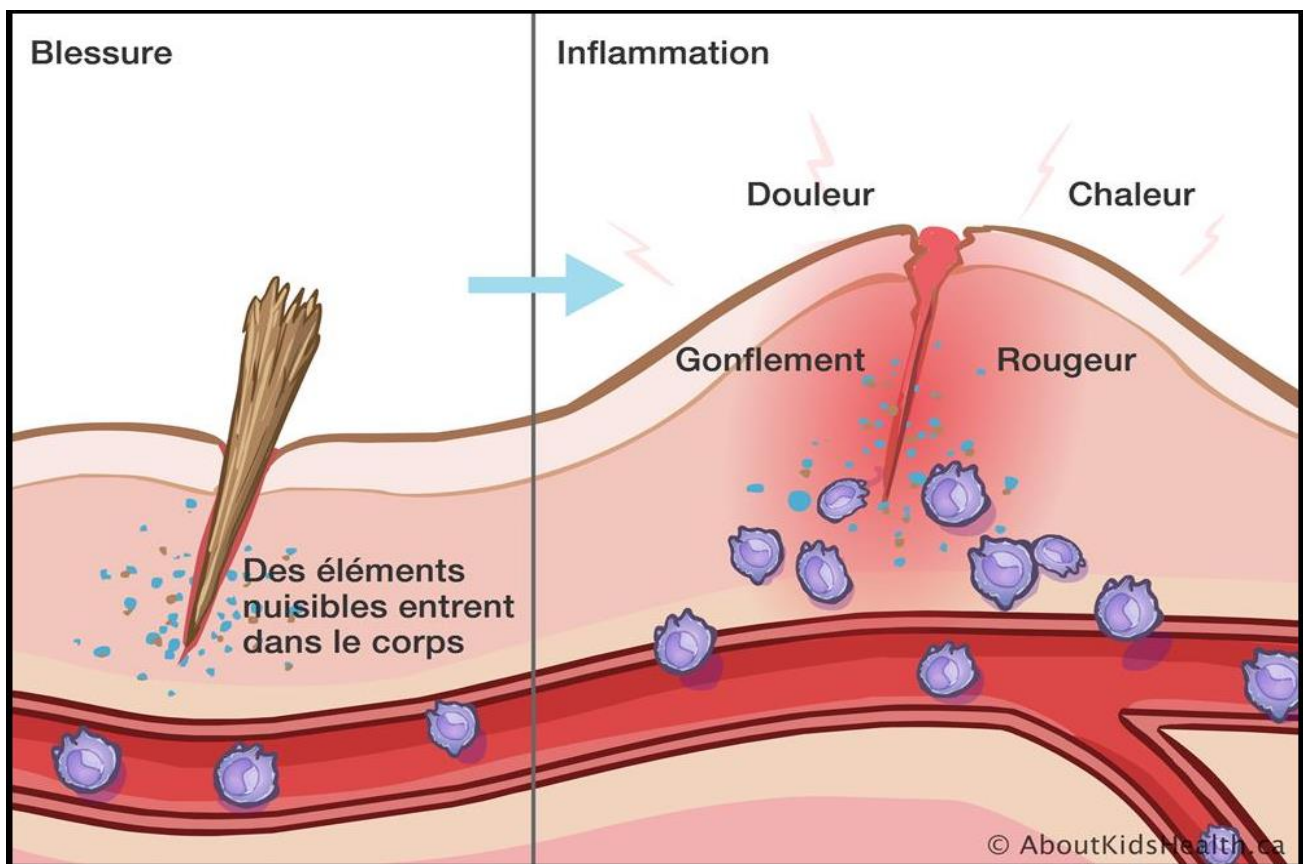


Figure 11. La réaction inflammatoire (Congo, 2012).

### 2.1.1. Inflammation aigue :

C'est une première réponse du corps à une lésion ou à une infection, elle est immédiate et courte, elle est caractérisé par une augmentation du débit sanguin (circulation accrue de plasma, les leucocytes et les protéines sériques) dans les sites infecté (Liu *et al.*, 2022) .

### 2.1.2. L'inflammation chronique :

C'est une inflammation qui dure longtemps en raison de la persistance de facteurs agressifs (acide gastrique dans l'ulcère peptique) et de la réponse inadéquate de l'hôte à l'infection et aux maladies auto-immunes chroniques (arthrite rhumatoïde). L'inflammation chronique est associée à une réponse immunitaire tissulaire et peut impliquer des défenses spécifiques ou non spécifiques. L'inflammation chronique peut suivre une inflammation aiguë ou commencer comme une réponse trompeuse de bas grade, et est souvent asymptomatique (Savado *et al.*, 2022) .

## 2.2. Les anti – inflammatoires :

Un anti - inflammatoire est un médicament qui agit sur les conséquences physiopathologiques de la réaction inflammatoire quelle qu'en soit l'origine. On en distingue deux grands groupes les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) et les anti - inflammatoires stéroïdiens (AIS), dont les cibles pharmacodynamiques sont différents (Liu *et al.*, 2022).

### 2.2.1. Les anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS) :

ou les glucocorticoïdes constituent une vaste famille de médicaments dérivés du cortisol. Parmi les AIS les plus puissants se trouvent les glucocorticoïdes, qui comprennent à la fois les corticoïdes naturels tels que le cortisol, ainsi que les corticoïdes de synthèse tels que la prednisone, la prednisolone, la dexaméthasone ou le triamcinolone (Liu *et al.*, 2022).

### 2.2.1. Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS)

Elles constituent la classe thérapeutique la plus largement utilisée dans le monde en raison de leurs propriétés anti-inflammatoires, antipyrétiques et antalgiques. Les AINS agissent en inhibant l'enzyme cyclooxygénase (CO<sub>x</sub>), ce qui réduit la production de prostaglandines, des substances qui jouent un rôle clé dans l'inflammation, la fièvre et la sensation de douleur (Mrozovski, 2022).

## 2.3. Mécanisme d'action d'un anti-inflammatoire

- Inhibition de la cyclooxygénase (COX) : Certains anti-inflammatoires, tels que les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS), agissent en inhibant l'activité de l'enzyme cyclooxygénase (COX). La COX est responsable de la production de prostaglandines, qui sont des médiateurs chimiques de l'inflammation. En inhibant la COX, les AINS réduisent la production de prostaglandines, ce qui diminue l'inflammation, la douleur et la fièvre.

- Inhibition de la synthèse des médiateurs de l'inflammation : Certains anti-inflammatoires, tels que les corticostéroïdes, agissent en inhibant la synthèse des médiateurs de l'inflammation, tels que les cytokines pro-inflammatoires. Les corticostéroïdes modulent également l'expression de nombreux gènes impliqués dans la réponse inflammatoire.
- Modulation de la réponse immunitaire : Certains anti-inflammatoires, tels que les immunosuppresseurs, modulent la réponse immunitaire en inhibant l'activation des cellules du système immunitaire. Cela peut réduire l'inflammation associée à certaines maladies auto-immunes.
- Inhibition de la migration cellulaire : Les anti-inflammatoires peuvent également inhiber la migration des cellules inflammatoires vers le site de l'inflammation. Cela réduit l'accumulation de cellules inflammatoires et atténue ainsi la réponse inflammatoire (**Liu et al., 2022**).

### 3. Activité Anti-lithiasique

#### 3.1. Lithiase urinaire

La lithiase urinaire, anciennement connue sous le nom de "maladie de la pierre", se réfère à une condition caractérisée par la formation de calculs dans les reins ou les voies urinaires, y compris les cavités rénales, les uretères et la vessie. Le terme "lithiase" provient du mot grec "lithos", qui signifie pierre. La lithiase urinaire inclut plusieurs types de calculs; calculs calciques représentent la majorité des pathologies lithiasiques et englobent notamment les calculs à base d'oxalate de calcium (75 %) et de phosphate de calcium. Les calculs d'acide urique sont communs, et fréquentes dans les pays méditerranéens, ils sont jaunes ou orange basiques dont la solubilité urinaire dépend du pH. Cependant, les lithiases cystiniques rénales et intestinales de la cystine et des acides aminés dibasiques sont rares, et leur excrétion excessive de cystine, le moins soluble de tous les acides aminés, entraîne la formation répétée de calculs de cystine. En outre, plusieurs traitements peuvent être suivis selon les cas de lithiase urinaire, comme le traitement chirurgical, la dilution des solutés contenus dans l'urine grâce à l'augmentation de la diurèse, et donc de l'hydratation, suivie d'un régime alimentaire pauvre en calcium, apports sodiques et protéines animales, et un régime riche en fibres naturelles (**Dimple and Archana, 2022**).

#### 3.2. La lithogénèse

La lithogénèse fait référence à l'ensemble des processus qui entraînent la formation d'un calcul dans les voies urinaires. Ces processus se déroulent en deux étapes principales : la

cristallogénèse et la calculogénèse. La cristallogénèse correspond à la formation de cristaux, tandis que la calculogénèse concerne la croissance et l'agrégation de ces cristaux pour former un calcul complet. Ces étapes peuvent se produire à des intervalles variables, parfois espacés dans le temps, parfois rapprochés les uns des autres (**Agudelo et al., 2022**). En plus, la lithogénèse peut être influencée par plusieurs facteurs, y compris le sexe, l'âge, l'alimentation, et anomalie du pH urinaire (anomalies anatomiques favorisant la stase urinaire, donc la formation des calculs) (**Agudelo et al., 2022**).

### 3.3. Facteurs de la lithogénèse

La formation et la croissance des calculs sont favorisées par plusieurs facteurs, qui peuvent être éventuellement associés :

Une augmentation de la concentration des sels lithogènes dans les urines. Celle-ci peut être due à une augmentation de leur excrétion urinaire (hypercalciurie, hyperoxalurie, hyperuricurie), ou à uned diurèse trop faible par suite d'apports hydriques insuffisants (**Kourilsky., 2014**).

Des modifications physicochimiques de l'urine aboutissant à une diminution du pouvoir solvant de l'urine. Un pH acide favorise la sursaturation en acide urique ou en cystine, un pH alcalin favorise la sursaturation en phosphates. L'infection urinaire notamment à germes uréasiques peut entraîner une croissance très rapide des calculs. L'activité des inhibiteurs de la cristallisation pourrait être diminuée chez les lithiasiques par rapport aux sujets normaux, et favoriser la formation des calculs pour un même degré de sursaturation des urines. Ces inhibiteurs sont nombreux mais ne sont pas tous identifiés (citrate, pyrophosphates, magnésium, polyanions, certaines glycoprotéines telles que la néphrocalcine) (**Kourilsky., 2014**)

Les apports élevés en protéines animales diminuent l'acide citrique urinaire, puissant agent antilithiasique et augmentent la calciurie et l'uricurie qui précipitent facilement en cristaux à pH acide (**Docti., 2013**). Les apports élevés en graisses, les aliments riches en oxalate (rhubarbe, chocolat noire ...) favorisent l'oxalurie (**Docti., 2013**). Il faut éviter la vitamine C en complément alimentaire car l'acide ascorbique se convertit en oxalate. Pour un patient lithiasique les apports en vitamine C ne devraient pas dépasser 500 mg par jour que l'on trouve aisément dans l'alimentation. De même, il faut éviter le thé et le chocolat qui sont riches en oxalate (**Mignon et Fichet., 2015**).

- Une anomalie des voies excrétrices responsable de stase et d'infection.
- Des facteurs génétiques (cystinurie congénitale) ou liés à l'environnement (pays chauds) peuvent intervenir. La lithiase atteint plus fréquemment l'homme que la femme (**Kourilsky., 2014**).

### 3.4. Antilithiasique :

#### 3.4.1. Définition :

Les antilithiasiques sont des médicaments utilisés pour prévenir ou traiter les calculs rénaux, également appelés lithiases rénales. Les calculs rénaux sont des dépôts solides qui se forment dans les reins et peuvent causer une douleur intense lorsqu'ils se déplacent dans les voies urinaires. (Kourilsky., 2014).

### 3.4.2. Mécanisme :

Le mécanisme d'action des antilithiasiques peut varier en fonction du type spécifique de médicament, mais en général, ils agissent en modifiant la composition de l'urine ou en inhibant la formation des cristaux responsables de la formation des calculs rénaux. Voici quelques mécanismes d'action courants des antilithiasiques (Mignon et Fichet., 2015). :

- Modification de la composition de l'urine : Certains antilithiasiques, tels que les diurétiques, augmentent la production d'urine, ce qui dilue les substances responsables de la formation de calculs et facilite leur élimination.
- Inhibition de la cristallisation : Certains médicaments agissent en inhibant la formation de cristaux dans l'urine. Par exemple, les citrates peuvent se lier au calcium présent dans l'urine et prévenir la formation de calculs de calcium.
- Réduction de l'absorption de certains composants : Certains antilithiasiques peuvent réduire l'absorption intestinale de certains composants présents dans l'alimentation qui contribuent à la formation de calculs rénaux. Par exemple, les agents chélateurs peuvent se lier à l'acide oxalique, un composant courant des calculs rénaux, et empêcher son absorption par l'intestin.
- Modification du pH urinaire : Certains médicaments peuvent modifier le pH de l'urine, ce qui peut empêcher la formation de certains types de calculs. Par exemple, l'administration d'agents alcalinisants peut augmenter le pH de l'urine et prévenir la formation de calculs d'acide urique



**Chapitre 2**  
**Material et Méthode**

### 1. Lieu d'étude :

1.1. L'école normale supérieure d'enseignement technologie à Azzaba- Skikda (département de Science Naturelle) pour une durée allant de 26 mars au 29 mai, dans ce laboratoire nous avons pu évaluer l'activité antioxydant , anti-inflammatoire, anti-lithiasique de venin d'abeille local de sous espèce *Apis mellifera sahariensis*.

1.2. Agence Algérienne de Léau (ADO) à Gandel –Azzaba-Skikda pour mesurer la turbidité de venin d'abeille local dans l'activité anti-lithiasique.

### 2. Matériels :

#### a) Produit naturel « Venin d'abeille » :

L'étude a basé sur l'utilisation du venin d'abeille local, *Apis mellifera sahariensis*, obtenu de la région du Bousaada M'Sila (Nord-centre d'Algérie) (**Figures 14 et 15**), sous forme d'une poudre (forme lyophilisée). Le venin d'abeille a été collecté de l'abeille par la méthode de l'électrostimulation (**Figure 16**), où l'abeille est exposée à un choc électrique de faible courant alternatif discontinu de 20 ou 25 volts. Le système d'extraction utilisé est composé d'une plaque de verre collectrice surmontée d'une série de fils éclectique métalliques, et il est placé horizontalement au-dessus de la ruche (il sert de fermeture). L'appareil peut être branché à partir du moment où une première abeille se posent sur la plaque. Il s'agit de provoquer des piqûres réflexes des insectes par électrostimulation. En touchant les fils, l'abeille vide sa vésicule à venin. Après que quelques abeilles ont déchargé leur venin sur la plaque, la colonie réagit en attaquant le collecteur. Ces légers chocs électriques ne sont pas intenses au point de perturber l'abeille lors de sa production de miel et ne présente aucun risque mortel comme c'est le cas après une piqure directe d'un être humain car elle perd son dard. Le venin des abeilles stimulées par l'appareil séchera assez vite voir immédiatement après la piqure (surtout pas au soleil pour éviter d'altérer la substance). Après le prélèvement, il reste encore trois autres opérations à réaliser avant d'obtenir un produit commercialisable, y compris la dessiccation complète de la poudre obtenue, la purification du produit qui contient encore bon nombre de particules parasites et enfin la lyophilisation du venin.



Figure 12. Localisation de la zone d'étude.



Figure 13. Les ruches de l'abeille domestique, *Apis mellifera*, *sahariensis*, de la région de Bousaada, M'Sila.

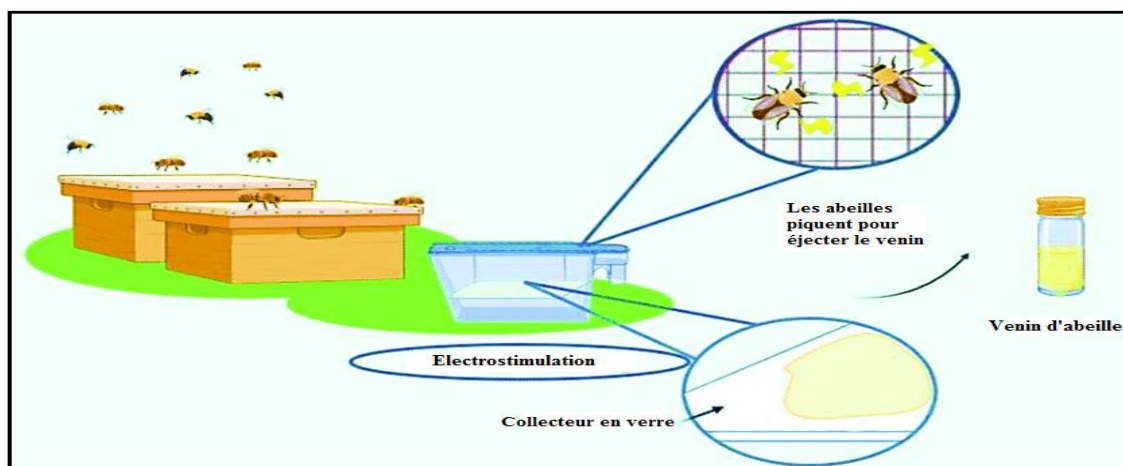


Figure 14. Electro-stimulateur utilisé pour la récolte du venin d'abeille.

**b) Produits chimiques :**

Pour étudier les activités biologiques du venin d'abeille, on a utilisé des produits chimiques obtenus de la société Sigma Aldrich Chimie, France. Ces produits sont :

- ✓ Ethanol.
- ✓ Acide ascorbique.
- ✓ 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl(DPPH).
- ✓ Butylhydroxytoluène (BHT).
- ✓ Phosphate disodique ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ).
- ✓ Phosphate monosodique ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ ).
- ✓ Sodium oxalate ( $\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$ )
- ✓ Chlorure de calcium ( $\text{CaCl}_2$ )
- ✓ Tris(hydroxyméthyl)-aminométhane ( $\text{C}_4\text{H}_{11}\text{NO}_3$ )
- ✓ L'albumine de sérum bovin (BSA).
- ✓ Diclofénac sodique

**c)Matériel de laboratoire :**

- ✓ Pipette de volume 10ml et 5ml.
- ✓ Béchers.
- ✓ Agitateur.
- ✓ Tubes à essais stériles.
- ✓ Fiole.
- ✓ Autoclave.
- ✓ Vortex. :
- ✓ Spectrophotomètre.
- ✓ Etuve.
- ✓ Balance.
- ✓ Spatule.
- ✓ Cuve.
- ✓ Bain marie.
- ✓ L'eau distillée.
- ✓ Aluminium.
- ✓ Ethanol.

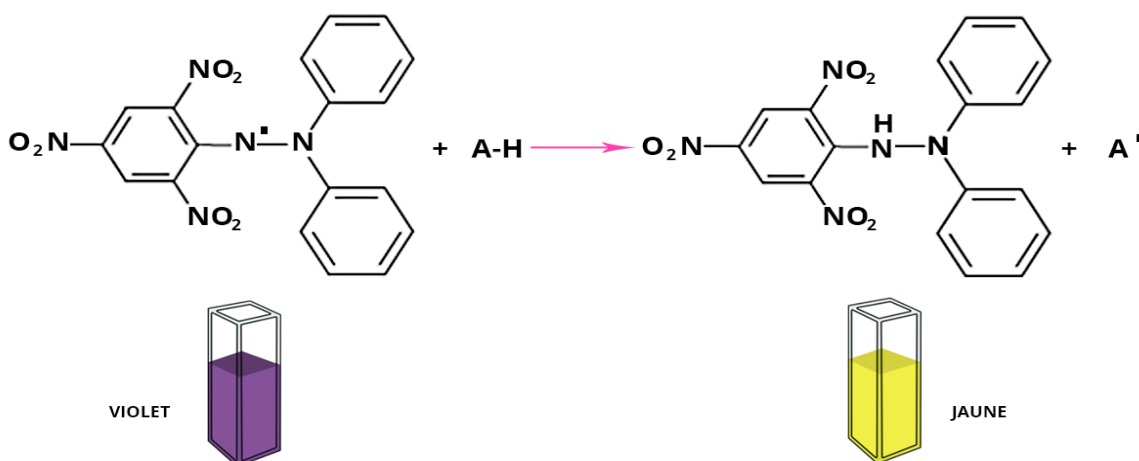
### 3. Méthodes :

#### 3.1. L'activité antioxydant

##### a) Principe

L'activité antioxydant du venin d'abeille locale a été évaluée par le test de piégeage du radical libre Diphényle picryl –hydrazyle (DPPH), un radical libre, possédant un couleur violet en solution. Les composés ont des propriétés anti-radicalaires peuvent réduire le DPPH° en DPPH-H de couleur jaune pâle présentant une absorbance caractéristique à 517 nm. L'intensité de la coloration est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons (Wang et al., 1998).

On peut résumer la réaction sous la forme de l'équation :

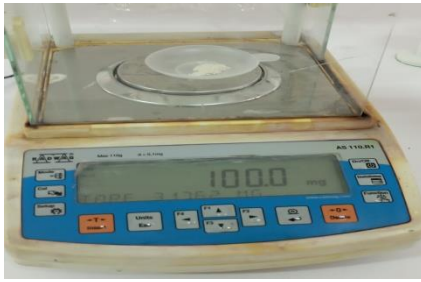


**Figure 15.** Réaction de test DPPH (2,2- diphényle -1-picrylhydrazyle) (Congo. ,2012).

Où (AH) représente un composé capable de céder un hydrogène au radical DPPH (violet) pour le transformer en diphényle picryl-hydrazines (jaune). Ceci permet de suivre la cinétique de décolorant à 517 nm.

##### b) Protocole expérimentale

- Des solutions mères de concentration de 0.25mg/ml de venin d'abeille locale (VBL), de l'acide ascorbique, de BHT et de DPPH (0.04mg/ml) ont été préparées dans l'éthanol (Figures 17 et 18).



**Figure 16. Préparation de la solution mère de venin locale**



**Figure 17. Préparation de la solution de DPPH**

Préparation d'une série de dilution dans 5 tubes secs de solution mère de VBL

- 1<sup>er</sup> tube contient 9ml de l'éthanol plus 1ml de SM (dilution  $10^{-1}$ )
- 2<sup>ème</sup> tube contient 9ml de l'éthanol plus 1ml de la solution 1<sup>ème</sup> tube (dilution  $10^{-2}$ )
- 3<sup>ème</sup> tube contient 9ml de l'éthanol plus 1ml de la solution 2<sup>ème</sup> tube (dilution  $10^{-3}$ )

Préparations d'une série de dilution dans 5 tubes secs de solution mère (AA , DPPH, BHT) :

- 1<sup>er</sup> tube contient 4,5 ml de l'éthanol plus 0,5ml de SM (dilution  $10^{-1}$ ).
- 2<sup>ème</sup> tube contient 4,5ml de l'éthanol plus 0,5ml de la solution 1<sup>ème</sup> tube (dilution  $10^{-2}$ ).
- 3<sup>ème</sup> tube contient 4,5ml de l'éthanol plus 0,5ml de la solution 2<sup>ème</sup> tube (dilution  $10^{-3}$ ).

C'est la même méthode pour le reste des tubes jusqu'au dernier tube ( $10^{-5}$ ). Notons que chaque tube de dilution préparée doit être bien mélangé à l'aide d'un vortex.

- ✚ Déterminer l'activité du piégeage du radical DPPH en ajoutant 1ml de chaque dilution de venin avec 1ml de la solution du DPPH.
- ✚ Utiliser une solution composée de 1 ml de chaque dilution de la solution DPPH et de 1 ml de l'éthanol comme un témoin négatif.
- ✚ Utiliser l'acide ascorbique (AA) et le BHT comme témoins positifs; 1ml de DPPH est ajouté au chaque dilution de AA et de BHT.
- ✚ Incuber les solutions à tester 30min à l'obscurité et à température ambiante.
- ✚ Lire l'absorbance de chaque solution a 517nm contre le blanc (éthanol).
- ✚ Les résultats peuvent être exprimés en tant que l'activité anti-radicalaire ou des pourcentages d'inhibition des radicaux libres (I%) en utilisant la formule suivant :

$$\% \text{ d'inhibition} = (\text{Abs témoin négatif} - \text{Abs échantillon} / \text{Abs témoin négatif}) \times 100$$

Où

% : Le pourcentage d'inhibition de l'activité anti radicalaire.

**Abs échantillon** : Absorbance de l'échantillon.

**Abs témoin négatif** : Absorbance de témoin négatif.

- ✚ Déterminer des la concentration efficace
- ✚ de 50% (CE<sub>50</sub> : La concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50% de radical DPPH), en utilisant les régressions linéaires des graphes tracés (Le pourcentage d'inhibition en fonction de différentes concentrations de venin local testée).

### 3.2. L'activité anti-inflammatoire

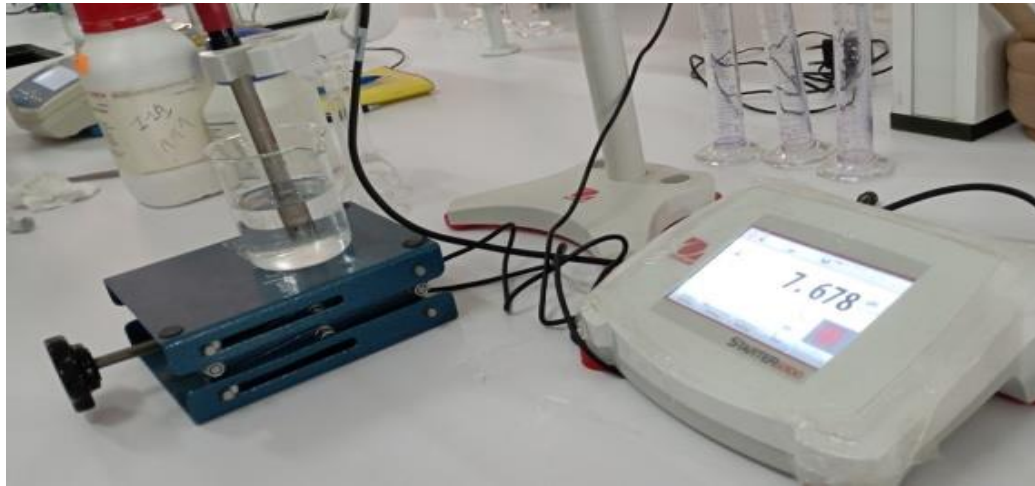
#### a) Principe

L'activité anti- inflammatoire a été évaluée en utilisant l'essai de dénaturation de la protéine de l'albumine de sérum bovin (BSA) selon la méthode décrite par **Kandikattu et al. (2013)** avec de légères modifications. Le sérum albumine bovine (BSA) est une protéine soluble, présentant approximativement 60% des protéines totales du plasma sanguin, un poids moléculaire important, et une proportion relativement élevée en acides aminés chargés, ce qui lui donne la capacité à transporter certaines substances et molécules bioactives (**Cushman et Rizack , 1970**).

#### b) Protocole expérimentale

- ✚ Préparer une solution mère de BSA à partir de la solubilisation de 1,79g de Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (poudre) dans 50ml l'eau distillée, et le laisser sous agitateur.
- ✚ Solubiliser 0,69g de NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (poudre) dans un 50ml à l'eau distillée.

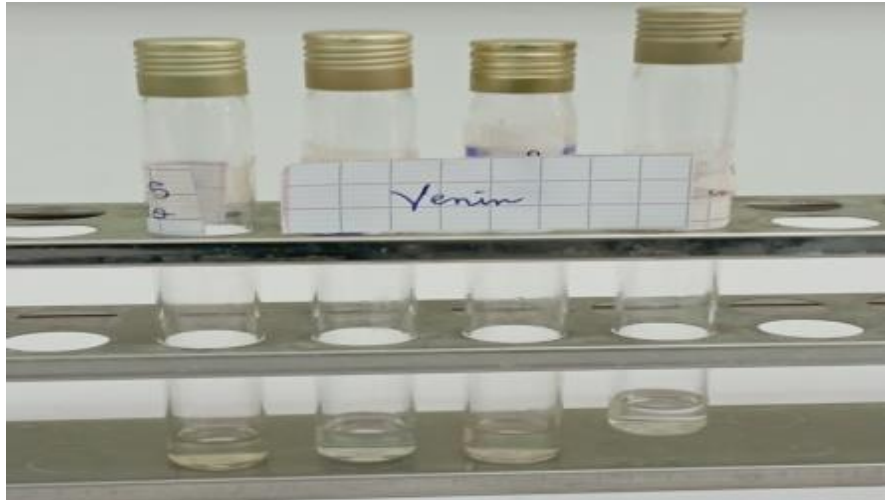
- + Mélanger les deux solutions et les laisser sous agitateur.
- + Ajuster le pH à 7.6 de la solution résultant avec un ajusteur de pH ( pH mètre).



**Figure 18. Régulation le PH de la solution tampons (Tris + NaCl) par le PH-mètre.**

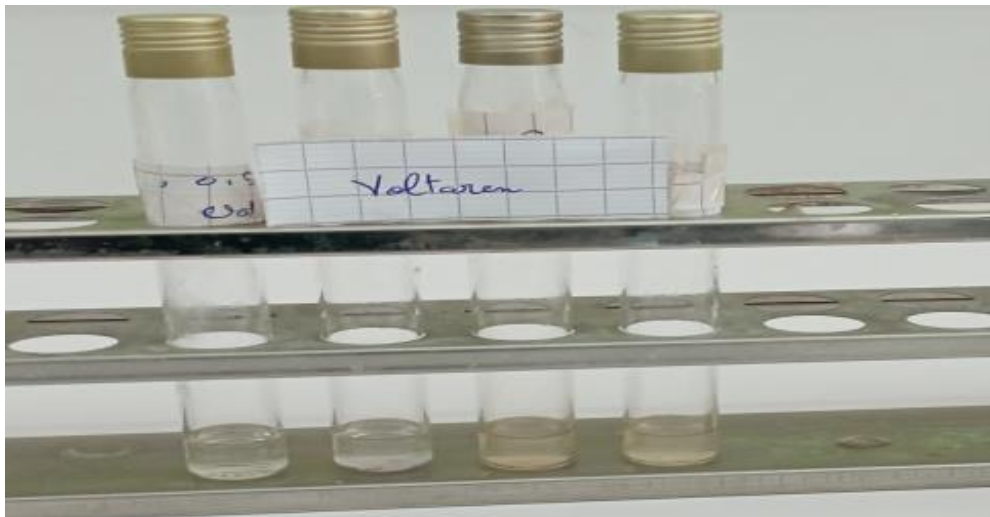
- + Prendre la moitié de la solution et l'ajouter avec 0,5g de BSA, puis laissée à l'aide d'un vortex jusqu'a solubilisation.
- + Préparer des concentrations différentes de venin d'abeille locale (VBL) dans des 4 tubes secs;
  - 1<sup>er</sup> tube contient 1ml de l'éthanol plus 0,5g de VBL
  - 2<sup>ème</sup> tube contient 1 ml de l'éthanol plus 1 g de VBL
  - 3<sup>ème</sup> tube contient 1ml de l'éthanol plus 2 g de VBL.
  - 4<sup>ème</sup> tube contient 1ml de l'éthanol plus 4g de VBL

Les tubes doivent être mélangés bien à l'aide d'un vortex.



**Figure 19. Préparation de défèrent concentration de venin d'abeille.**

- ✚ Préparer 4 tubes de différente concentration de l'anti-inflammatoire de référence, considéré comme témoin positif ( ) exactement avec les mêmes étapes et les volumes que dans celle de VBL.



**Figure 20. Préparation de défèrent concentration de diclofénac sodique.**

Pour tester l'activité anti-inflammatoire ;

- Ajouter 1ml de la solution de BSA dans chaque tube des différentes concentrations de VBL.
- Ajouter 1ml de la solution de BSA dans chaque tube des différentes concentrations de diclofénac sodique .

Les tubes doivent être mélangés bien à l'aide d'un vortex.

- Incuber les échantillons dans un four à 36°C pendant 15min, et ensuite les transférés dans un bain – marie à 72°C pendant 5 min.
- Après refroidissent des tubes, lire l'absorbance contre un blanc (éthanol) à 660nm.

Le pourcentage d'inhibition de la dénaturation des protéines a été calculé en utilisant l'équation suivante :

$$\text{Inhibition de dénaturation (\%)} = \frac{[(\text{Abs de témoin positif} - \text{Abs de venin}) / \text{Abs de témoin positif}] \times 100}{(\text{Abs} : \text{Absorbance})}$$

Le résultat obtenu est la moyenne de trois répétitions. La concentration (CI50) de l'extrait pour une inhibition de 50% est déterminée par la courbe dose-réponse.

### 3.3. L'activité anti-lithiasique

Le pouvoir inhibiteur de venin d'abeille locale (*Apis mellifera, sahariensis*) sur la cristallisation oxalocalcique in vitro a été étudié selon la méthode décrite par **Sasikala et al. (2013)** avec certaines modifications.

#### a) Principe

L'effet de venin d'abeille sur la cristallisation du CaOx a été déterminé par la mesure dans le temps des changements de turbidité dû à la nucléation et l'agrégation des cristaux.

La turbidimétrie est une méthode optique qui mesure l'absorbance de la solution, et assure le suivi de la cinétique de cristallisation d'une façon continue.

L'oxalate de calcium (CaC<sub>2</sub>O<sub>4</sub>) est un cristal ionique non-hydrosoluble, et le principal composant des calculs urinaires. La cristallisation ou la formation des calculs d'oxalate de calcium se fait par précipitation selon l'équation suivante (**Abdelmalek et al., 2001**):



La précipitation de l'oxalate de calcium à 37 °C et pH 6,8 a été étudiée par la mesure de la turbidité par la turbidimètre.



Figure 21. Le turbidimètre.

### Protocole expérimentale

#### ○ Essai de nucléation

##### - En absence d'inhibiteur (sans venin d'abeille).

- ✓ Préparer une solution de chlorure de calcium et de l'oxalate de sodium aux concentrations finales de 5 mmol/L et 7,5 mmol/L, respectivement dans un tampon contenant Tris 0,05 mol/L et NaCl 0,15 mol/L à pH 6.5.
- ✓ Un volume de 1 ml de  $\text{CaCl}_2$  est dans un turbidimètre et tarer au zéro, aussi tôt 1 ml de  $\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$  est versé rapidement sur la solution de  $\text{CaCl}_2$ .
- ✓ La manipulation se fait contre un inhibiteur de référence (témoin positif), l'acide citrique avec les concentrations (100%).

##### - Test avec inhibiteur (présence de venin d'abeille)

- ✓ Ajouter 1ml de la solution inhibitrice de différentes concentrations (0.5 ; 1; 2 ; 4g/ml) à 1ml de solution de chlorure de calcium pour lire le blanc
- ✓ La cristallisation a été démarrée en ajoutant 1 mL d'une solution d'oxalate de sodium.
- ✓ La température a été maintenue à 37 °C.

- ✓ Le taux de nucléation a été estimé en comparant l'induction temps en présence de venin d'abeille.
- ✓ La croissance des cristaux était attendue en raison de ce qui suit réaction:



○ **Essai d'agrégation**

- ✓ Les cristaux de l'oxalate de calcium monohydrate ( $\text{CaCO}_x$ ) ont été préparés en mélangeant du calcium chlorure et oxalate de sodium à 50 mmol/L.



**Figure 22. Les produits utilisés dans la formation des cristaux de l'oxalate de calcium monohydrate ( $\text{CaCO}_x$ ).**

- ✓ Les deux solutions ont été équilibrées à 60 °C dans un bain-marie pendant 1 h et puis refroidi à 37°C pendant une nuit.
- ✓ Les cristaux ont été récoltés par centrifugation puis évaporée à 37 °C.
- ✓ Les cristaux de  $\text{CaO}_x$  ont été utilisés à une concentration finale de 0,8 mg/ml, tamponnés avec Tris 0,05 mol/L et NaCl 0,15 mol/L à pH 6,5.
- ✓ Les expériences ont été menées à 37 °C en l'absence ou présence de venin d'abeille après arrêt de l'agitation.
- ✓ Le pourcentage d'inhibition de l'agrégation été calculé en comparant la turbidité en présence du venin d'abeille avec celui obtenu dans le témoin en utilisant les formule :

$$\% I = 1 - \text{Turbidité échantillon} / \text{Turbidité témoin} ) \times 100$$



**Chapitre 3**  
**Résultas et Discussion**

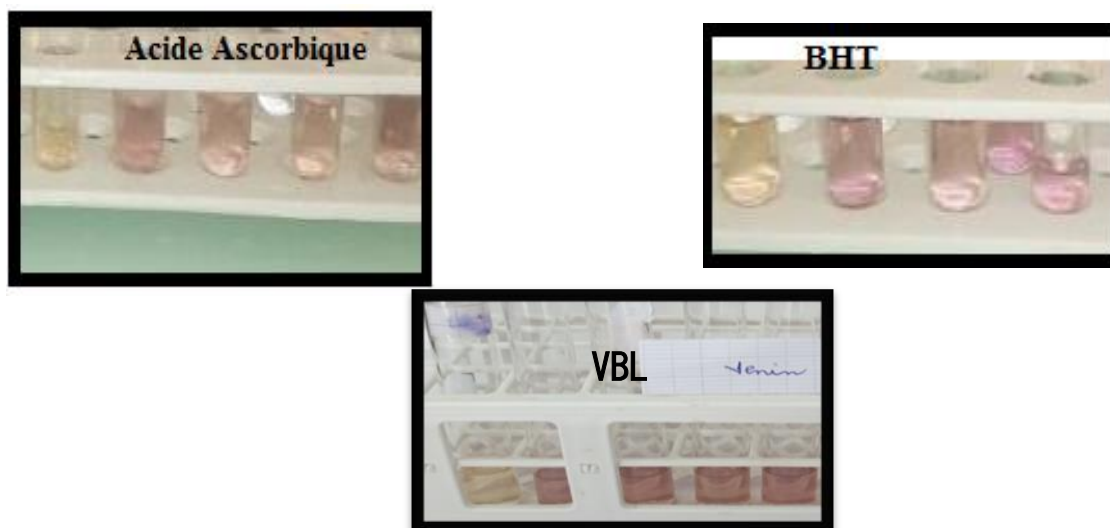
## 1. Résultats et discussion

### 1.1. L'activité antioxydant

L'activité antioxydant du venin d'abeille local, de l'acide ascorbique et de la butylhydroxytoluène (BHT) déterminé par le test du radical libre 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) montre une variation très importante en fonction des concentrations utilisées de chaque composé. Le virage du couleur de violet au couleur jaune est bon indicateur de la réduction du DPPH en présence de l'antioxydant utilisé. Dans ce contexte, l'activité antioxydant de nos composés a été estimé macroscopiquement (observation directe) et graphiquement (droit de régression, permettant de déterminer la  $CE_{50}$ ).

#### 1.1.1. Résultat macroscopique

La **Figure 1** montre le changement progressive du couleur de violet au couleur jaune suivant les concentrations décroissantes de chaque composé (de  $10^{-1}$  à  $10^{-5}$  mg/ml)



**Figure 23.** La réduction du DPPH par le venin d'abeille locale (VBL), l'acide ascorbique et l'butylhydroxytoluène (BHT).

#### 1.1.2. Résultats graphique ( $CE_{50}$ )

D'après les **Figures 25-27** l'ensemble des composés testés révèlent des propriétés anti-oxydantes intéressantes, ce que se manifeste par des valeurs antioxydants de importantes qui varient entre 56.2 , 69.8 et 81.3, respectivement pour l'acide ascorbique, le BHT et le

VBL. En outre, la **Figure 28** montre une faible valeur de  $CE_{50}$  pour le BHT ( $0,45 \pm 0,04$ ), moyennement élevée pour l'acide ascorbique ( $1,03 \pm 0,06$ ) et plus élevée pour le VBL ( $2,33 \pm 0,04$ ). Nos résultats sont analogues à ceux rapportés par des travaux antérieurs sur l'activité antioxydant de venin d'abeille du Portugal (Sobral et al., 2016) and des champignons vivent en surface des abeilles domestiques stérilisées (*Apis mellifera*) (Kalaba et al., 2022). Aussi, le potentiel antioxydant de venin d'abeille et/ou ses composants majeures, y compris le melittine, apamine et phospholipase a été bien rapporté (Mackler et al., 1972; Ali et al., 2014; Alam et al., 2023). Par conséquent, les molécules bioactives du venin d'abeille, surtout melittine et phospholipase sont responsables d'amplifier le pouvoir antioxydant du venin sous les conditions du stress oxydative (Alam et al., 2023).

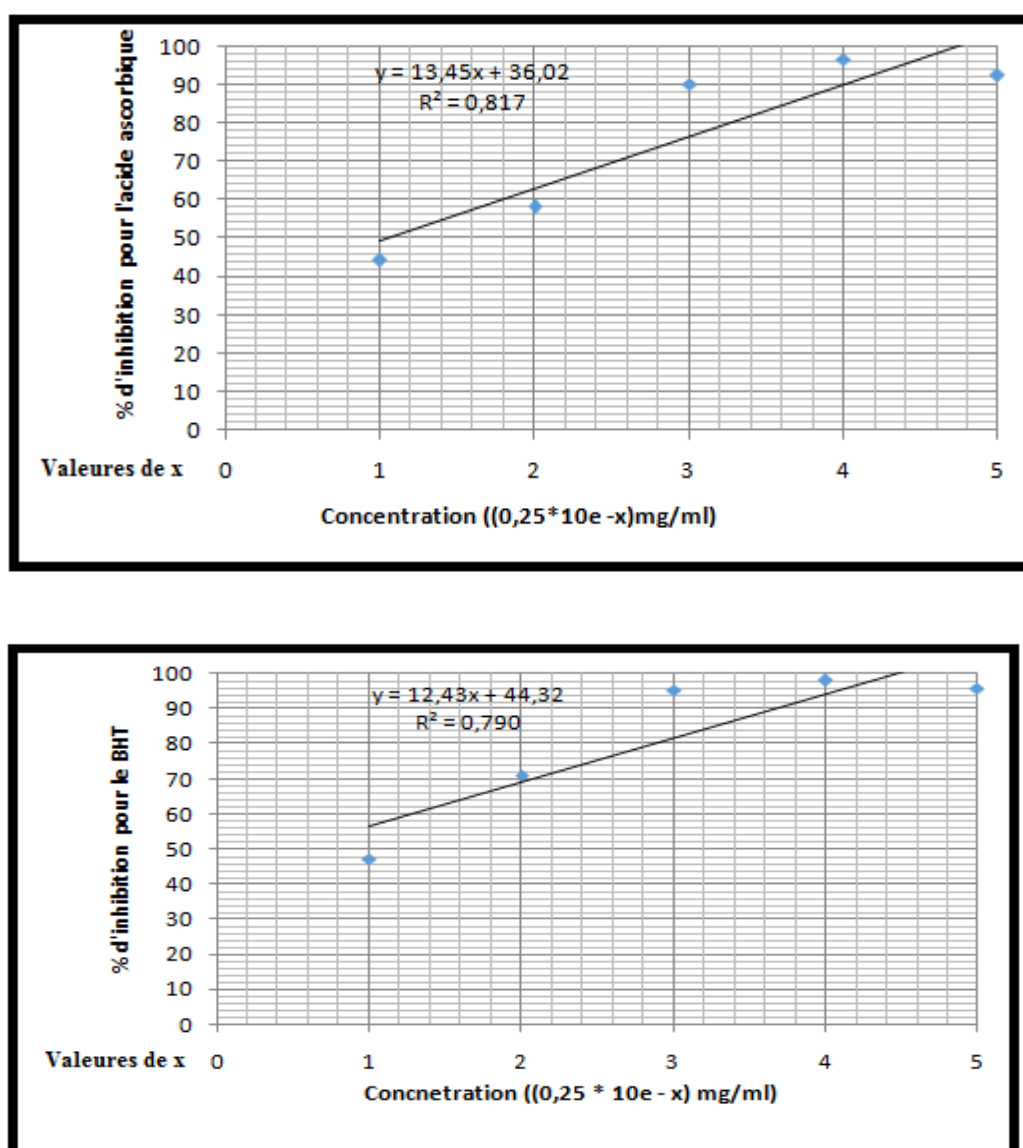


Figure 24. Le droit de régression du pourcentage d'inhibition du radical DPPH en fonction de la concentration en acide ascorbique et BHT (témoins positifs (de références);  $0,25 \times 10^{-1}$  ;  $0,25 \times 10^{-2}$ ;  $0,25 \times 10^{-3}$  ;  $0,25 \times 10^{-4}$  ;  $0,25 \times 10^{-5}$  mg/ml. L'acide ascorbique

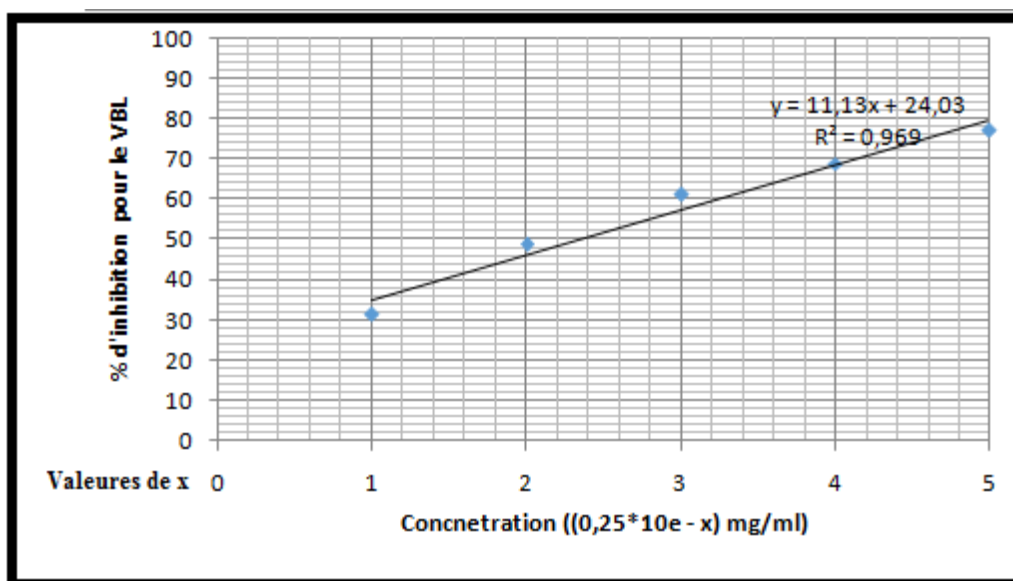


Figure 25. Le droit de régression du pourcentage d'inhibition du radical DPPH en fonction de la concentration en venin d'abeille locale(VBL); 0,25 x 10<sup>-1</sup>; 0,25x10<sup>-2</sup>; 0,25x10<sup>-3</sup> ; 0,25 x 10<sup>-4</sup> ; 0,25 x 10<sup>-5</sup> mg/ml. Le VBL a été préparé dans l'éthanol.

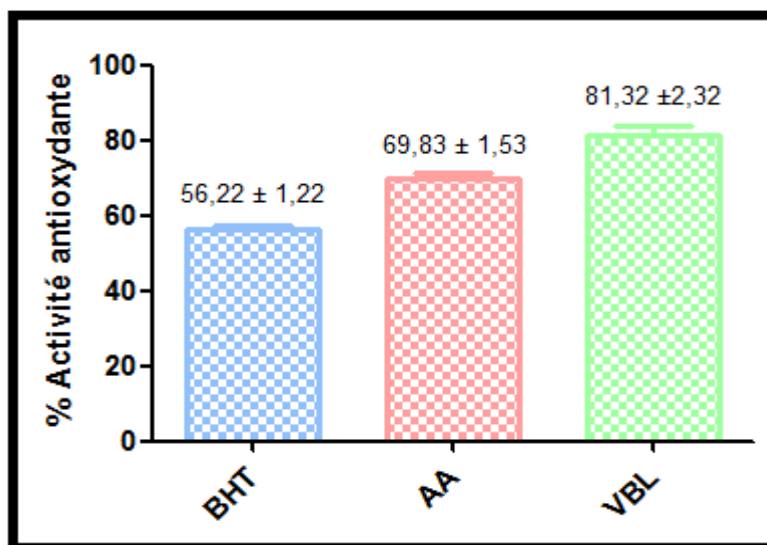


Figure 26. L'activité antioxydante (%) au test DPPH de l'acide ascorbique (AA), le BHT et le venin d'abeille local (VBL).

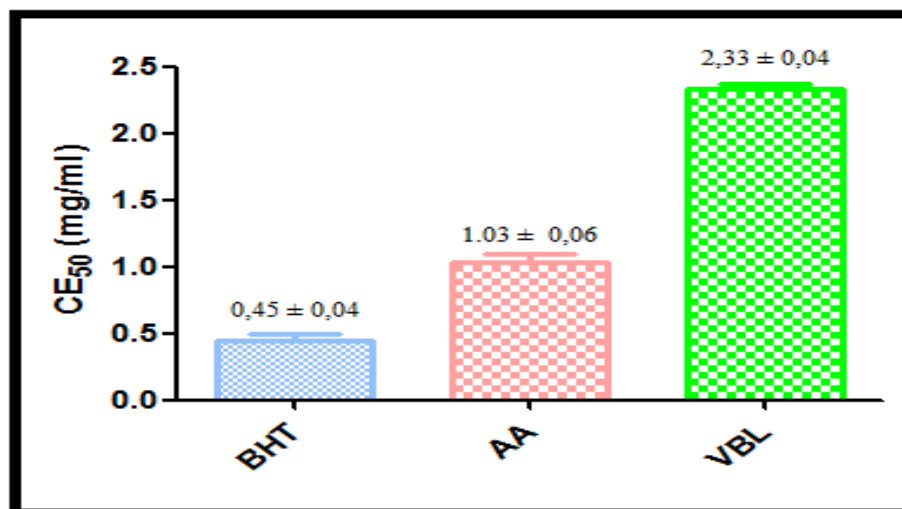


Figure 27. La concentration efficace moyenne (CE<sub>50</sub>) de l'acide ascorbique (AA), le BHT et le venin d'abeille local (VBL), représentant la concentration nécessaire pour réduire 50% du radical DPPH. Les valeurs de CE<sub>50</sub> sont présentées en moyenne ± erreur de moyenne

## 1.2. L'activité anti-inflammatoire

Le pourcentage (%) d'inhibition et de dénaturation de venin d'abeille aux concentrations (mg/ml) de 0,5 ; 1 ; 2 ; 4 était de 29,93 ; 34,89 ; 33,5 et 39,3 respectivement, alors que le standard du diclofénac a montré une inhibition de 15,79 ; 26,6 ; 28,08 et 33,9 de la dénaturation de la SAB (**Figure 29**). La corrélation entre la concentration et le pourcentage d'inhibition a montré que la capacité inhibition de la dénaturation de la BSA dépend de la concentration de venin et de standard. Ceci est confirmé en comparant la CI<sub>50</sub> de venin d'abeille locale (CI<sub>50</sub>=8,34 mg/mL) avec celle du diclofénac (CI<sub>50</sub>=6,78 mg/mL).

Le paramètre de la CI<sub>50</sub> a été utilisé pour classer le venin d'abeille locale avec le diclofénac, selon l'ordre suivant : venin d'abeille > diclofénac. Donc, le venin d'abeille montre ainsi une efficacité dans l'inhibition de la dénaturation du SAB. Il est à noter l'évolution du degré d'inhibition de la dénaturation des protéines qui augmente avec la concentration de venin et de diclofénac. Les travaux de différents auteurs montrent que la propriété anti-dénaturation des protéines est due à la présence de deux sites de liaison dans la thréonine riche en tyrosine aromatique et aliphatique et les régions de résidu lysine des protéines (**Kirkeskov et al., 2011; Yan et al., 2013**). Les molécules thérapeutiques du diclofénac pourraient également activer le récepteur riche en tyrosine couplé avec

la thréonine qui régule les voies biologiques de transduction du signal pour leur action biologique globale (Nguemfo et al., 2007 ; Clemenzi et al., 2009). Les composés protéiques de venin d'abeille, tels que le melittine, l'apamine et le phospholipase interagissant avec les régions aliphatiques autour du résidu lysine des protéines et sont des antioxydants avec une activité anti-inflammatoire puissante (Abbasi et al., 2023 ; El Mehdi et al., 2012). Le venin d'abeille a traditionnellement été utilisé pour la prévention et le traitement de l'inflammation, en réduisant les symptômes associés à l'inflammation rhumatoïde dans des essais cliniques. Cet effet est lié à sa forte teneur en molécules anti-inflammatoires, comme le melittin et le phospholipase, qui peut réduire la chimiotaxie des leucocytes polymorphonucléaires périphériques du sang, des neutrophiles et des monocytes et aussi diminuer les niveaux de protéine C-réactive (CRP), une protéine produite dans le foie en réponse à l'inflammation (Hartman et al., 1991 ; Lebel, 2021). De plus, il a été démontré que le venin d'abeille réduisaient la production de plusieurs cytokines pro-inflammatoires et de chimiokines (Lebel, 2021). Il est également intéressant de noter que le venin d'abeille empêche la dénaturation de la SAB, a une activité antioxydante in vitro qui est également une caractéristique de certains anti-inflammatoires (Hartman et al., 1991 ; Lebel, 2021). Nos résultats répondent à l'avis des auteurs qui conseillent le potentielité de l'utilisation de venin d'abeille, et surtout ses molécules bioactives dans le traitement des maladies inflammatoires.

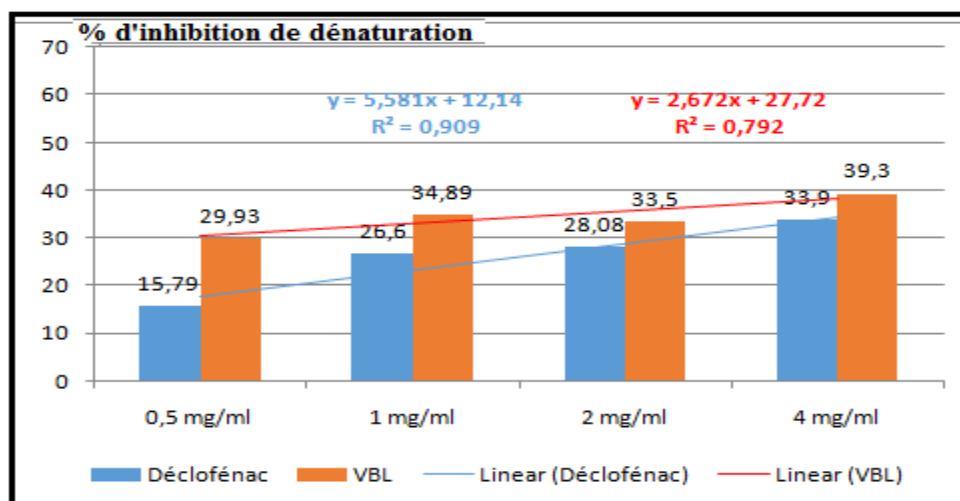


Figure 28. Corrélation entre la concentration et l'inhibition (%) Par analyse linéaire de l'activité anti-inflammatoire in-vitro avec la méthode de dénaturation des protéines sériques bovines. VBL : Venin d'abeille locale (VBL) .

### 1.3. Activité anti-lithiasique

Le % d'inhibition de la cristallisation de l'oxalate de calcium augmente progressivement en fonction des concentrations utilisées pour le venin d'abeille locale et de l'acide citrique. Ce pourcentage d'inhibition pour les testes de nucléation et d'agrégation était plus grande pour le venin d'abeille locale par rapport à l'acide citrique. Elle atteint la valeur maximale de pourcentage d'inhibition de cristallisation de calcium oxalate à la concentration de 4 mg/ml de 90% et de 80% pour le venin et l'acide citrique respectivement pour le test de nucléation, et de 68% et de 59% pour le test d'agrégation.

Nos résultats sont accord avec ceux rapportés pour les extraits de certaines plantes médicinales (**Mamillapalli et al., 2016 ; Mechraoui et al., 2021**), et produits de l'abeille, propolis (**Elghouizi et al., 2022 ; El Menyiy et al., 2016**) en comparaison avec le témoin positif (acide citrique). En outre, La fonction des calculs rénaux est un processus complexe qui résulte d'une succession de plusieurs événements physico-chimiques, y compris la sursaturation, la nucléation, la croissance, l'agrégation et la rétention dans les tubules rénaux. Ainsi, si la sursaturation ou la plus tard étapes de la cristallisation peuvent être évitées, alors la lithiase doit être évité. En effet, plusieurs mesures sont généralement prises pour réduire la sursaturation, par ex. augmentation de l'apport hydrique et thérapie médical. En Algérie, comme dans de nombreuses régions moins développées, l'apithérapie est devenu, dans ces dernières années, une méthode courante de soins de santé primaires parce que les produits pharmaceutiques sont chers et que le « peuple » pharmacopée fournit des remèdes apparemment efficaces pour de nombreuses maladies. Ces résultats pourraient être considérés comme positifs parce que les produits de l'abeille, surtout, les piqûres par le venin inhibent la cristallisation et empêchent formation de pierre dans les reins (**Gokulakrishna and Thirunavukkarasu, 2020**). Par conséquent, le venin d'abeille peut contenir des substances bioactives comme le mellitine qui inhibent la croissance des cristaux de CaOx. Cette propriété peut être important dans la prévention de la formation de calculs rénaux; Cristaux de CaOx induite par les macromolécules urinaires était moins étroitement liés aux surfaces des cellules épithéliales, qui sont ensuite excrétés avec l'urine (**Parmar, 2004**). Le venin d'abeille peut également contenir des substances qui inhibent l'agrégation de cristaux de CaOx ; l'agglomération des particules est une étape critique dans la formation de calculs urinaires, car des cristaux plus gros sont moins susceptibles de passer spontanément dans les voies urinaires (**Elghouizi et al., 2022**). Si le venin maintient les particules de CaOx dispersées dans la solution, elles deviennent plus facilement éliminées.

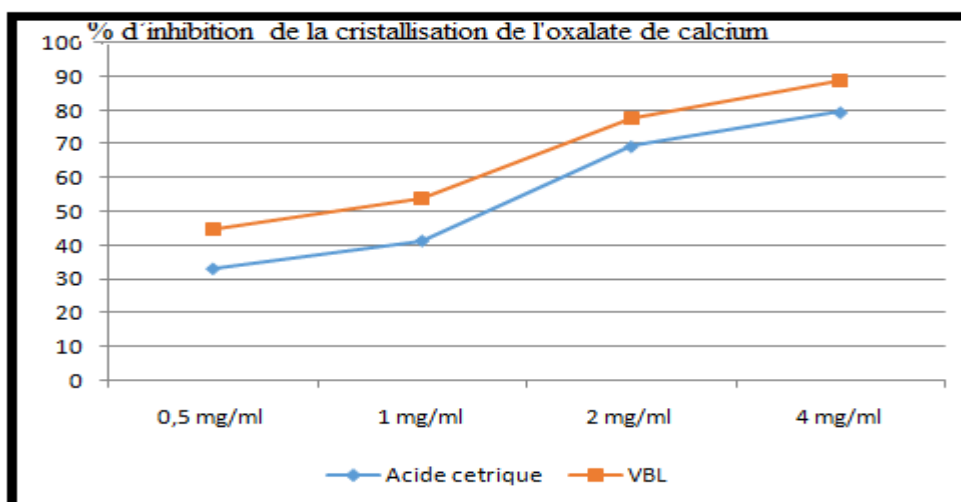


Figure 29. Pourcentage d’inhibition de la cristallisation de l’oxalate de calcium monohydraté par des différentes concentrations de venin d’abeille locale (VBL) et l’acide citrique (témoin positif). Test de nucléation.

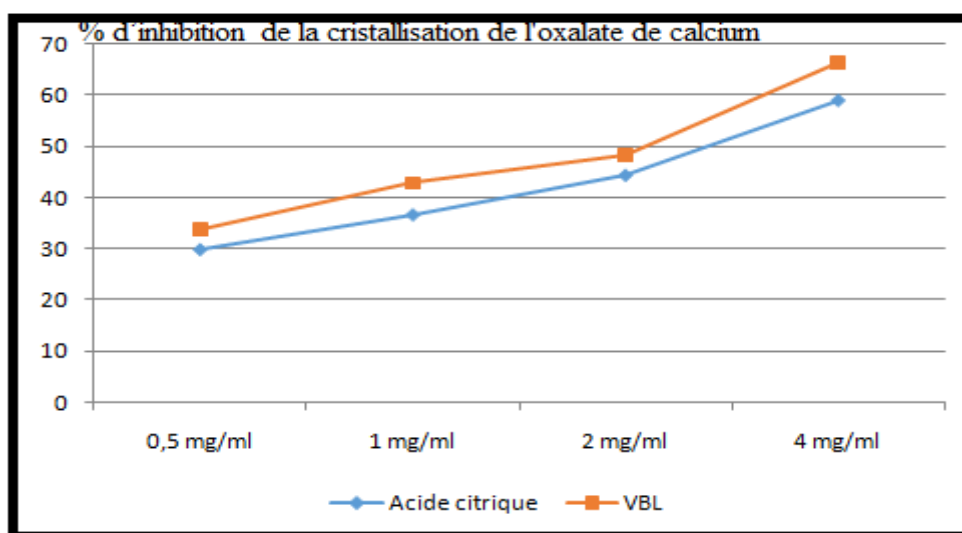
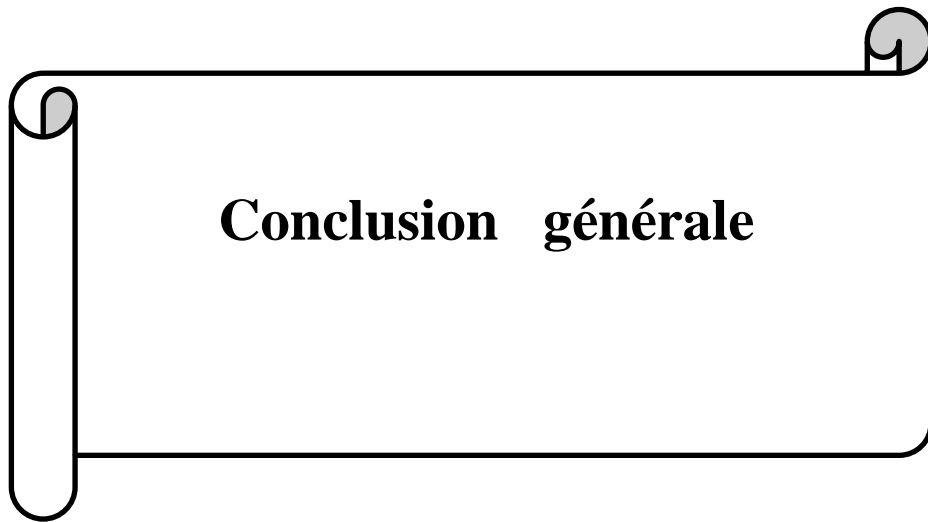


Figure 30. Pourcentage d’inhibition de la cristallisation de l’oxalate de calcium monohydraté par des différentes concentrations de venin d’abeille locale (VBL) et l’acide citrique (témoin positif). Test d’agrégation.



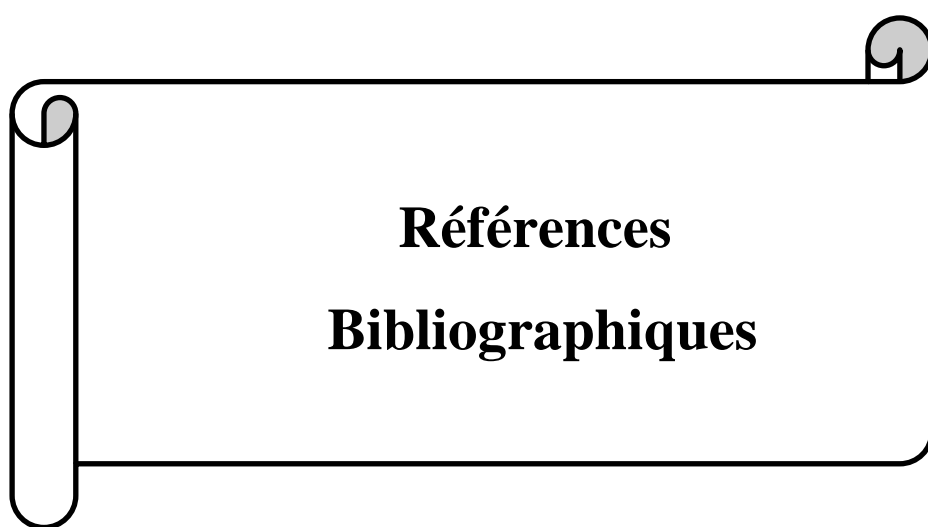
**Conclusion générale**

## Conclusion

---

### Conclusion générale

Le venin d'abeille de sous espèce Algérien, *Apis mellifera sahariensis*, a un effet antioxydant, anti-inflammatoire et un effet inhibiteur sur la cristallisation de CaOx. Donc, le venin d'abeille peut donc être bénéfique dans le traitement des maladies oxydatives, inflammatoires et d'urolithiase, mais il y a un besoin d'investigation détaillée supportés par des analyses physico-chimiques, et des expérimentations précliniques et cliniques pour établir l'utilisation de venin d'abeille locale comme un agent thérapeutiques efficaces.



**Références  
Bibliographiques**

### 2. Références bibliographiques

#### A

Abbasi, F., Shawrang, P., Motamedi-Sedeh, F., & Sadeghi, M. (2023). Effect of gamma-irradiated honey bee venom on gene expression of inflammatory and anti-inflammatory cytokines in mice. *International Immunopharmacology*, *118*, 110084.

Abd El-Wahed, A. A., Khalifa, S. A., Sheikh, B. Y., Farag, M. A., Saeed, A., Larik, F. A., ... & El-Seedi, H. R. (2019). Bee venom composition: From chemistry to biological activity. *Studies in Natural Products Chemistry*, *60*, 459-484.

Abdelmalek, F., Harrache, D., Addou, A., Taleb, S., & Semmoud, A. (2001). Étude par turbidimétrie de la cristallisation oxalocalcique en présence de quelques inhibiteurs. *Phys Chem*, *4*, 96-107.

Agudelo, J., Fedrigo, D., Faris, A., Wilkins, L., Monga, M., & Miller, A. W. (2022). Delineating the role of the urinary metabolome in the lithogenesis of calcium-based kidney stones. *Urology*, *167*, 49-55.

Alam, S., Malik, S., Tariq, K., Israr, M., & Iqbal, S. (2023). Major royal jelly proteins (MRJPs) of Honeybees, Functions, and Biological Activities. *Egyptian Journal of Agricultural Research*, *101*(2), 253-266.

Ali, E. M. (2014). Contributions of some biological activities of honey bee venom. *Journal of Apicultural Research*, *53*(4), 441-451.

Ali, M. A. A. S. M. (2012). Studies on bee venom and its medical uses. *Int J Adv Res Technol*, *1*(2), 69-83.

Aparna, N. (2020). Production technology of royal jelly and bee venom. *Economic Entomology*, 115-132.

Azizi, M. G., Priawandiputra, W., & Raffiudin, R. (2020). Morphological identification of stingless bees from Belitung. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* (Vol. 457, No. 1, p. 012011). IOP Publishing.

#### B

Baliyan, S., Mukherjee, R., Priyadarshini, A., Vibhuti, A., Gupta, A., Pandey, R. P., & Chang, C. M. (2022). Determination of antioxidants by DPPH radical scavenging activity and quantitative phytochemical analysis of *Ficus religiosa*. *Molecules*, *27*(4), 1326.

## Référence Bibliographique

---

Blanc M., 2010. Propriétés et usage médical des produits de la ruche. Thèse pour le diplôme de l'état du docteur en pharmacie. De l'université de Limoges. p 24.

### C

Chirsanova, A., Capcanari, T., Boiștean, A., & Khanchel, I. (2021). Bee honey: history, characteristics, properties, benefits and adulteration in the beekeeping sector. *Journal of Social Sciences*, 3(4), 98-114.

Chott I., (2018). La thérapie au venin d'abeille p34.

Clément H., (2011). Le Traité Rustica de l'Apiculture, 2<sup>o</sup> Edition, Paris, Editions

Clément H., (2011). Le traité rustica de l'apiculture. Editions Rustica. 528p.

Clemenzi, M. N., Wellhauser, L., Aljghami, M. E., & Belsham, D. D. (2019). Tumour necrosis factor  $\alpha$  induces neuroinflammation and insulin resistance in immortalised hypothalamic neurones through independent pathways. *Journal of Neuroendocrinology*, 31(1), e12678.

Collazo, N., Carpena, M., Nuñez-Estevez, B., Otero, P., Simal-Gandara, J., & Prieto, M. A. (2021). Health promoting properties of bee royal jelly: Food of the queens. *Nutrients*, 13(2), 543.

Collazo, N., Carpena, M., Nuñez-Estevez, B., Otero, P., Simal-Gandara, J., & Prieto, M. A. (2021). Health promoting properties of bee royal jelly: Food of the queens. *Nutrients*, 13(2), 543.

Congo M., (2012). Etude des propriétés antiradicalaire et antiproliferative d'extraits de feuilles et de rameaux de *Salvadora Persica L.* (Salvadoraceae). Thèse de pharmacie. Université d'Ouagadougou Burkina Faso : 42p.

Cushman, S. W., & Rizack, M. A. (1970). STRUCTURE-FUNCTION RELATIONSHIPS IN THE ADIPOSE CELL: III. Effects of Bovine Serum Albumin on the Metabolism of Glucose and the Release of Nonesterified Fatty Acids and Glycerol by the Isolated Adipose Cell. *The Journal of Cell Biology*, 46(2), 354-361.

Rustica.

### D

Demirkesen, I., & Mert, B. (2019). Utilization of beeswax oleogel-shortening mixtures in gluten-free bakery products. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 96(5), 545-554.

Diallo A., (2005). Etude de la phytochimie et des activités biologiques de *syzygium guineense WILLD(MYRTACEAE)*. Thèse de doctorat en pharmacie. Université de Bamako : 13-14.

## Référence Bibliographique

---

Dimple, C., & Archana, N. (2022). Standardization, Optimization of Formulation and In-vitro Evaluation of Anti-urolithiasis Activity of Citrus medica Extract. *Journal of Drug Design and Medicinal Chemistry*, 8(3), 34-40.

### E

El Mehdi, I., Falcão, S. I., Harandou, M., Boujraf, S., Calhelha, R. C., Ferreira, I. C., Vilas-Boas, M. (2021). Chemical, cytotoxic, and anti-inflammatory assessment of honey bee venom from *Apis mellifera intermissa*. *Antibiotics*, 10(12), 1514.

El Menyiy, N., Al Waili, N., Bakour, M., Al-Waili, H., & Lyoussi, B. (2016). Protective effect of propolis in proteinuria, crystaluria, nephrotoxicity and hepatotoxicity induced by ethylene glycol ingestion. *Archives of medical research*, 47(7), 526-534.

Elghouzi, A., Al-Waili, N., Elmenyiy, N., Elfetri, S., Aboulghazi, A., Al-Waili, A., & Lyoussi, B. (2022). Protective effect of bee pollen in acute kidney injury, proteinuria, and crystalluria induced by ethylene glycol ingestion in rats. *Scientific Reports*, 12(1), 1-11.

El-Seedi, H. R., El-Wahed, A. A. A., Zhao, C., Saeed, A., Zou, X., Guo, Z., ... & Wang, K. (2022). A Spotlight on the Egyptian Honeybee (*Apis mellifera lamarckii*). *Animals*, 12(20), 2749.

### F

Fridi, R., TABET AOUL, N., CATAYS, G., Basso, B., Bienefeld, K., Gregorc, A., ... & Canale-Tabet, K. (2022). Genetic diversity and population genetic structure analysis of *Apis mellifera* subspecies in Algeria and Europe based on complementary sex determiner (CSD) gene. *Apidologie*, 53(1), 4.

### G

Gokulakrishnaa, R., & Thirunavukkarasu, S. (2020). Apitherapy: A valuable gift from honey bee. *J. Entomol. Zool. Stud*, 8(5), 2317-2323.

Grüter, C (2020). Evolution and diversity of stingless bees. *Stingless Bees: Their Behaviour, Ecology and Evolution*, 43-86.

### H

Hartman, D. A., Tomchek, L. A., Lugay, J. R., Lewin, A. C., Chau, T. T., & Carlson, R. P. (1991). Comparison of antiinflammatory and antiallergic drugs in the melittin-and D49 PLA2-induced mouse paw edema models. *Agents and Actions*, 34(1-2), 84-88.

### K

## Référence Bibliographique

---

Kalaba, M. H., Sultan, M. H., Elbahnasawy, M. A., El-Didamony, S. E., El Bakary, N. M., & Sharaf, M. H. (2022). First report on isolation of *Mucor bainieri* from honeybees, *Apis mellifera*: Characterization and biological activities. *Biotechnology Reports*, 36, e00770.

Kandikattu, K., Kumar, P. B. R., Priya, R. V., Kumar, K. S., & Rathore, R. S. B. (2013). Evaluation of anti-inflammatory activity of *Canthium parviflorum* by in-vitro method. *Indian Journal of Research in Pharmacy and Biotechnology*, 1(5), 729-731.

Kekeçoğlu, M., Çaprazlı, T., Samancı, A. E. T., Samancı, T., & Önder, E. Y. (2022). Factors Affecting Quality of Honey Bee Venom. *Journal of Apicultural Science*, 66(1), 5-14.

Khalil, A., Elesawy, B. H., Ali, T. M., & Ahmed, O. M. (2021). Bee venom: From venom to drug. *Molecules*, 26(16), 4941.

Kim, C. M. (2013). Apitherapy–bee venom therapy. *Biotherapy-History, Principles and Practice: A Practical Guide to the Diagnosis and Treatment of Disease using Living Organisms*, 77-112.

Kintz, P., & Villain, M. (2011). Usage thérapeutique du venin d'abeille: science ou escroquerie?. In *Annales de toxicologie analytique* (Vol. 23, No. 1, pp. 37-39). EDP Sciences.

Kirkeskov, B., Christensen, R., Bügel, S., Bliddal, H., Danneskiold-Samsøe, B., Christensen, L. P., & Andersen, J. R. (2011). The effects of rose hip (*Rosa canina*) on plasma antioxidative activity and C-reactive protein in patients with rheumatoid arthritis and normal controls: a prospective cohort study. *Phytomedicine*, 18(11), 953-958.

## L

Lebel, A. (2021). *Caractérisation moléculaire des propriétés anticancéreuses du venin d'abeille et de ses composantes majeures chez les glioblastomes multifformes* (Doctoral dissertation, Université de Moncton (Canada)).

Lemaire, H., & Rassat, A. (1964). Structure hyperfine due à l'azote dans les radicaux nitroxydes. *Journal de Chimie Physique*, 61, 1580-1588.

Liu, J. Z., Zhang, C. C., Fu, Y. J., & Cui, Q. (2022). Comparative analysis of phytochemical profile, antioxidant and anti-inflammatory activity from *Hibiscus manihot* L. flower. *Arabian Journal of Chemistry*, 15(1), 103503.

Louveaux, J. (1958). Recherches sur la récolte du pollen par les abeilles (*Apis mellifica* L.). *Les Annales de l'Abeille*, 1(3), 113-188.

LUKOKI, H. N., ILUNGA, J. B., & LUKOKI, F. L. (2023). Dominance de *Dactylurina staudingeri*, *Apis mellifera* et *Meliponula* sp dans l'Apidofaune de la Réserve de Biosphère de Luki, RD Congo. *Revue Marocaine des Sciences Agronomiques et Vétérinaires*, 11(1), 54-58.

## Référence Bibliographique

---

Luo, J., & Wei, W. T. (2018). Recent advances in the construction of C–N bonds through coupling reactions between carbon radicals and nitrogen radicals. *Advanced Synthesis & Catalysis*, 360(11), 2076-2086.

### M

Mackler, B. F., Russell, A. S., & Kreil, G. (1972). Allergenic and biological activities of melittin from honey bee venom. *Clinical & Experimental Allergy*, 2(4), 317-323.

Mamillapalli, V., Khantamneni, P. L., Mohammad, Z., Mathangi, A., Nandigam, N., Namburi, S. M., & Katta, V. (2016). Phytochemical & in vitro antiurolithiatic studies on the leaf extracts of *Bauhinia variegata* linn. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 7(10), 4074.

Mechraoui, O., Imessaoudene, A., Maiz, M. Y., Banouh, H., Mouni, L., Rebiai, A., Seghir, B. B. (2021). In vitro Antiurolithiatic activity of the leaves and flowers extracts of *Paronychia argentea*, a plant used in traditional medicine in Algeria.

Mieriņa, I., Peipiņa, E., Aišpure, K., & Jure, M. (2022). 1st generation dendrimeric antioxidants containing Meldrum's acid moieties as surface groups. *New Journal of Chemistry*, 46(2), 607-620.

Migdal, C., & Serres, M. (2011). Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant. *médecine/sciences*, 27(4), 405-412.

Mrozovski, J. M. (2022). Pour une utilisation raisonnée des anti-inflammatoires non stéroïdiens. *Actualités Pharmaceutiques*, 61(615), 47-51.

### N

Nguemfo, E. L., Dimo, T., Azebaze, A. G. B., Asongalem, E. A., Alaoui, K., Dongmo, A. B., ... & Kamtchouing, P. (2007). Anti-inflammatory and anti-nociceptive activities of the stem bark extracts from *Allanblackia monticola* STANER LC (Guttiferae). *Journal of Ethnopharmacology*, 114(3), 417-424.

### O

Omar, E. M. (2020). Anticipated Factors Affecting Extraction of Venom from Honey Bees colonies by Electrical Impulses. *Egyptian Academic Journal of Biological Sciences. A, Entomology*, 13(4), 213-220.

### P

## Référence Bibliographique

---

Panarelli, M. (2020). La classification des abeilles, de l'Antiquité au début de l'ère moderne. *Anthropozoologica*, 55(13), 187-198.

Parmar, M. S. (2004). Kidney stones. *Bmj*, 328(7453), 1420-1424.

### R

Roubik, D. W. (2023). Stingless Bee (Apidae: Apinae: Meliponini) Ecology. *Annual Review of Entomology*, 68(1), 231-256.

### S

Santos, L. M., Fonseca, M. S., Sokolonski, A. R., Deegan, K. R., Araújo, R. P., Umsza-Guez, M. A., ... & Machado, B. A. (2020). Propolis: types, composition, biological activities, and veterinary product patent prospecting. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 100(4), 1369-1382.

Sasikala, V., Radha, S. R., & Vijayakumari, B. (2013). In vitro evaluation of *Rotula aquatica* Lour. for antiurolithiatic activity. *Journal of Pharmacy Research*, 6(3), 378-382.

Savadogo, B., Fahed, H., Mitrovic, S., Sellam, J., Lavalie, S. G., & Fautrel, B. (2022). Épidémiologie de l'amylose AA dans les rhumatismes inflammatoire chroniques: revue systématique de la littérature. *Revue du Rhumatisme*, 89, A248-A249.

ŞENGÜL, F., & VATANSEV, H. (2021). Overview of apitherapy products: anti-cancer effects of bee venom used in apitherapy. *International Journal of Traditional and Complementary Medicine Research*, 2(1), 36-48.

Sobral, F., Sampaio, A., Falcão, S., Queiroz, M. J. R., Calhelha, R. C., Vilas-Boas, M., & Ferreira, I. C. (2016). Chemical characterization, antioxidant, anti-inflammatory and cytotoxic properties of bee venom collected in Northeast Portugal. *Food and Chemical Toxicology*, 94, 172-177.

### V

Végh, R., Csóka, M., Sörös, C., & Sipos, L. (2021). Food safety hazards of bee pollen—A review. *Trends in Food Science & Technology*, 114, 490-509.

### W

Wang, M., Li, J., Rangarajan, M., Shao, Y., LaVoie, E. J., Huang, T. C., & Ho, C. T. (1998). Antioxidative phenolic compounds from sage (*Salvia officinalis*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(12), 4869-4873.

## Référence Bibliographique

---

Wu, H., Richards, M. P., & Undeland, I. (2022). Lipid oxidation and antioxidant delivery systems in muscle food. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 21(2), 1275-1299.

### X

Xagoraris, M., Revelou, P. K., Alissandrakis, E., Tarantilis, P. A., & Pappas, C. S. (2021). Greek honey authentication: botanical approach. *Encyclopedia*, 1(4), 1322-1333.

### Y

Yan, M., Zhu, Y., Zhang, H. J., Jiao, W. H., Han, B. N., Liu, Z. X., Lin, H. W. (2013). Anti-inflammatory secondary metabolites from the leaves of *Rosa laevigata*. *Bioorganic & medicinal chemistry*, 21(11), 3290-3297.

Yves Roberti L., 2011. Les sept produits de la ruche p8.