



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche
Scientifique Université de Larbi Tébessi –Tébessa-
Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la
Vie Département : Biologie Appliquée



MEMOIRE

Présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master

Domaine : Sciences de la nature et de la vie

Filière : Sciences biologiques

Option : Microbiologie appliquée à la santé et à l'environnement.

Thème

**Etude de l'activité des extraits bioactifs sur des bactéries
responsables de l'infection des pieds diabétique**

Présentée par :

Ms. Aissaoui Tarek

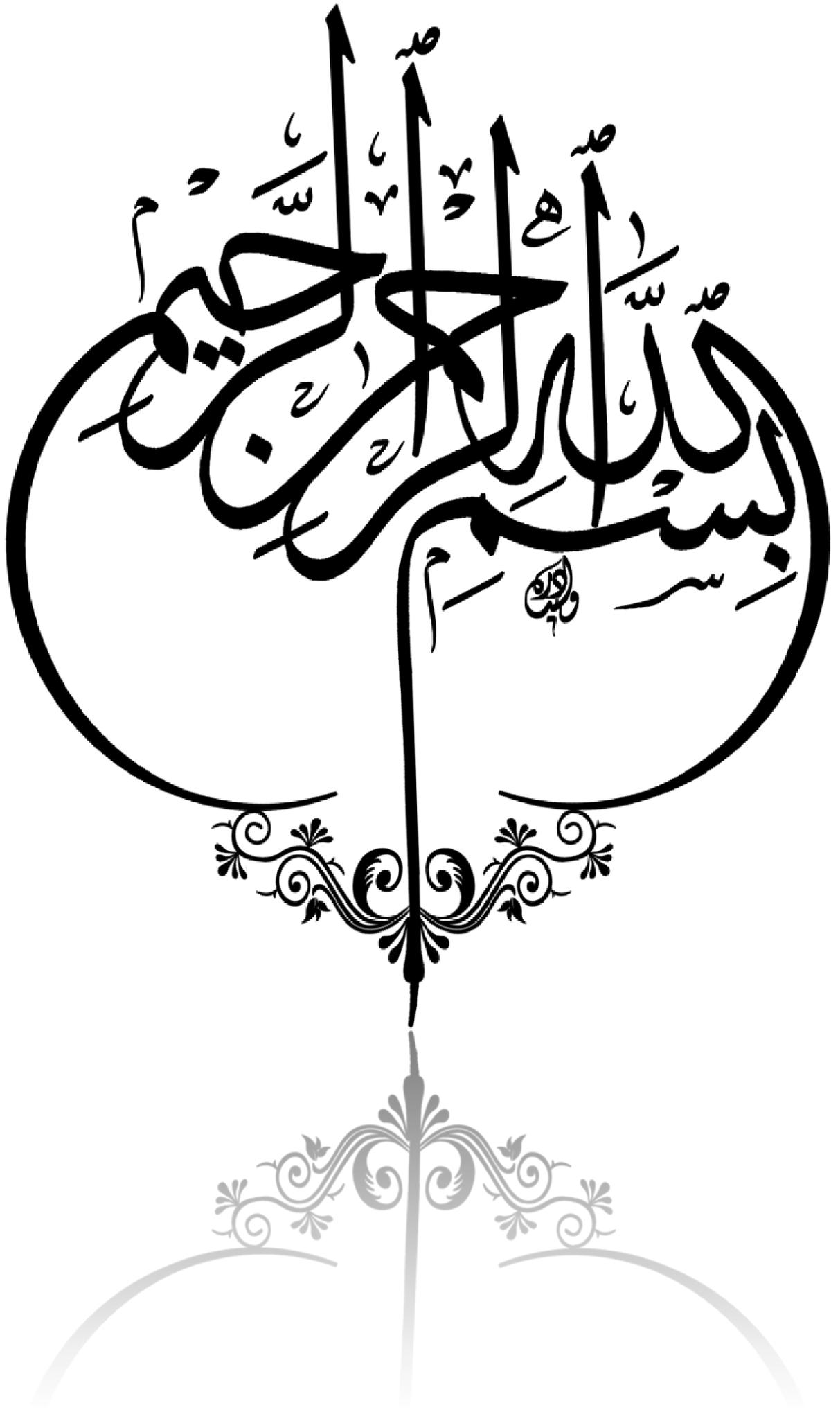
Melle. Lakehal Hanane

Soutenu le : 14/06/2022

Devant le jury

Dr. MENASRIA Tahaa	M.C.A	Université de Tébessa	Président
Dr. ZOUAOUI Nassim	M.C.B	Université de Tébessa	Examineur
Dr. BOUKOUCHA Mourad	M.C.A	Université de Tébessa	Rapporteur

Année universitaire : 2021/2022



Remerciement

Nous tenons à exprimer notre remerciement et notre profonde gratitude avant tout à " Dieu" le tout puissant de nous avoir guidé durant toutes les années et permis de réaliser ce mémoire en donnant la force, le courage et la volonté.

Nous exprimons nos remerciements à :

*Notre promoteur Dr. **BOUKOUCHA Mourad**. Maitre de conférences à la faculté De biologie, Université de Larbi Tébessi-Tébessa.*

Pour avoir encadré et dirigé notre travail

*Nous adressons nos sincères remerciements à Dr. **MENASRIA T.***

Maitre de conférence à la faculté De biologie, Université de Larbi Tébessi-Tébessa D'avoir accepté de présider le jury.

*Nous exprimons nos vifs remerciements à Mr. **ZOUAOUI N.***

Maitre de conférences à la faculté De biologie, Université de Larbi Tébessi-Tébessa L'honneur qu'il nous a fait en acceptant d'examiner ce mémoire

A tous les enseignants et enseignantes... Sans exceptions

Sans oublier tout personnel de laboratoire et de service médecine interne de l'établissement de santé publique BOUGUERA BOULARAAS

Nous leur exprimons notre respect et notre profonde sympathie

A toute personne qui a participé de près ou de loin, directement ou indirectement

À la réalisation de ce travail.

.Dédicace.

Je dédie ce travail,

*À mes chers parents, à ma mère et mon père .pour leur
patience leur amour. Leur soutien et leur encouragement*

tout au long de ma vie.

A mon épouse qui ma courage et mes enfants.

A tous mes frères

A mon binôme pour son soutien, sa présence et son écoute.

À mes chères amies Et tous ceux que j'aime Et qui m'aime.

Tarek

Dédicace

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

Je dédie ce mémoire à : A ma mère

Ma chère mère, qui a oeuvré 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, reçois à travers ce travail aussi modeste soit-il, l'expression de mes sentiments et de mon éternelle gratitude.

A mon mari, pour son affection, les sacrifices consentis tout au long de ce travail et pour son soutien sans faille. Je prie Dieu le tout puissant de préserver d'exaucer tous nos rêves.

A mes chères sœurs Amel, lilia , hela ; meriem pour leur support continuel et leur amour. Pour leurs encouragements permanents. Que dieu vous assiste et vous réserve une vie pleine de succès et de bonheur.

Aux enfants de mes sœurs Amna et Taha.

A mes frères qui sont les maris de mes sœurs Mounir, Samir

Qui lui donne le courage la force et tout ce que je veux, Dieu tu protège mon cher amis Khadija ; Samia, et sur tout Fatma qui ma soutien au cours de ce travail et

à mon binôme Tarek

*Enfin Je tiens à remercier mes tous les amis Et tous ceux que j'aime
Et qui m'aime, toute ma famille*

Hanane

الملخص

داء السكري، المعروف أيضاً باسم مرض السكري، هو اضطراب استقلابي معقد يتميز بفرط سكر الدم الذي يظهر بطرق مزمنة. تقدر منظمة الصحة العالمية أن مرض السكري سيكون السبب الرئيسي السابع للوفاة بحلول عام 2030. من المضاعفات الرئيسية لمرض السكري تقرح القدم (DFU) الذي يسهل غزو وتكاثر الكائنات الحية الدقيقة التي تؤدي إلى التهابات القدم السكري (DFI) والتي يمكن تعريفها على أنها عدوى تشمل إما الأنسجة الرخوة أو العظام. يمكن أن يصبح (DFI) مرضاً مزمنًا، وغالبًا ما يؤدي إلى مضاعفات تزيد من خطر بتر الأطراف والوفاة. على مر السنين، مع تزايد تواتر مسببات الأمراض المقاومة للمضادات الحيوية، والجانب متعدد الميكروبات من IFD، تم اقتراح استراتيجيات بديلة لحل مشكلة فشل العلاج، مع أخذ ذلك في الاعتبار، قمنا بدراسة فعالية ثلاثة مستخلصات تم الحصول عليها عن طريق النقع (الإيثانول، الميثانول، الأسيتونيك) لثلاثة أنواع من البروبوليس: نوع طبيعي يتم جمعه من منطقة تبسة واثان يتم تسويقهما (على شكل مسحوق بني وأصفر). أجريت الدراسة على طريقة الآبار المتوسطة الصلبة. أظهرت النتائج نشاطًا ملحوظًا ضد المكورات العنقودية من المستخلصات المختلفة المقابلة للعكبر الطبيعي والذي تم تسويقه باللون البني. تم تسجيل عدم وجود نشاط ضد اونتيروبيكتريا، بسودوموناس سب مع الأنواع الثلاثة من البروبوليس. هذه النتائج تجعل هذا المصدر الحيواني الطبيعي بديلاً محتملاً ضد عدوى المكورات العنقودية في التهابات القدم السكرية

الكلمات المفتاحية: تقرح القدم لمرض السكري، التهابات القدم السكري، بروبوليس، مستخلص البروبوليس.

Abstract:

Diabetes mellitus, also known as diabetes, is a complex metabolic disorder characterized by hyperglycemia that manifests itself in chronic ways. The WHO estimates that diabetes will be the 7th leading cause of death by 2030. A major complication of diabetes mellitus is foot ulceration (DFU) facilitating the invasion and multiplication of microorganisms resulting in diabetic foot infections (DFI). Which can be defined as an infection involving either soft tissue or bone. DFID can become a chronic disease, often resulting in complications that increase the risk of limb amputation and mortality. Over the years, with an increasing frequency of antibiotic resistant pathogens, and a polymicrobial aspect of IFD, alternative strategies have been proposed, to solve the problem of therapeutic failure, In this perspective we studied the effectiveness of three extracts obtained by maceration (Ethanolic, Methanolic, Acetonic) of three types of propolis: one natural collected from the region of Tebessa and two commercialized (in the form of brown and yellow powder). The study was carried out on solid medium well method.

The results revealed a remarkable antiStaphylococcal activity of the different extracts corresponding to the natural propolis and the brown commercialized one. An absence of activity against enterobacteria and pseudomonas Sp was recorded with the three types of propolis. These results make this natural animal source a probable alternative against staphylococcal infections in diabetic foot infections.

Key words: DFI, DFU, propolis, propolis extract.

Résumé

Le diabète sucré, également connu sous le nom de diabète, est un trouble métabolique complexe caractérisé par une hyperglycémie qui se manifeste de manière chronique. L'OMS estime que le diabète sera la 7ème cause de décès d'ici 2030. Une complication majeure du diabète sucré est l'ulcération du pied (DFU) facilitant l'invasion et la multiplication des micro-organismes. Cela entraîne des infections du pied diabétique (DFI) qui peut être défini comme une infection, impliquant soit des tissus mous, soit les os. Les (DFI) peuvent devenir une maladie chronique, entraînant souvent des complications qui augmentent le risque d'amputation d'un membre et la mortalité. Au fil des Années, avec une fréquence croissante d'agents pathogènes résistants aux antibiotiques, et un aspect polymicrobien des IFD, des stratégies alternatives ont été proposées, pour résoudre le problème d'échec thérapeutique.

Dans cette optique on a étudié l'efficacité de Trois Extraits, obtenus par macération (Methanolique ; Ethanolique, Acetonique) de Trois Propolis : une naturelle (collecté de la région de Tébessa) et deux commercialisées (sous forme de poudre marron et jaune).

L'étude a été effectuée sur milieu solide méthode des puits. Les résultats ont révélés une activité antiStaphylococciques remarquable des différents extraits correspondant au Propolis naturelle et celui commercialisé marron. Une absence d'activité vis avis des entérobactéries et de Pseudomonas Sp a été enregistrée avec les trois propolis. Ces résultats rend cette source animale naturelle un probable alternatif contre les infections Staphylococciques dans les infections de pied diabétique.

Mots clé : DFI, DFU , propolis, extraits de propolis.

Liste Des Tableaux

Tableau N°	Titre	pages
01	La classification des infections du pied diabétique par les deux comités internationaux IWGDF et IDSA selon le système PEDIS	11
02	Les activités antibactériennes de divers types de propolis	17
03	Catégorie de l'activité antibactérienne observée avec l'extrait Ethanolique de propolis naturelle vis-à-vis de différentes souches bactériennes testés.	33
04	Catégorie de l'activité antibactérienne observée avec l'extrait Methanolique de propolis naturelle vis-à-vis de différentes souches bactériennes testés.	33
05	Catégorie de l'activité antibactérienne observée avec l'extrait Acetonique de propolis naturelle vis-à-vis de différentes souches bactériennes testés	34
06	Catégorie de l'activité antibactérienne observée avec l'extrait Ethanolique de la propolis poudre marron vis-à-vis de différentes souches bactériennes testés.	35
07	Catégorie de l'activité antibactérienne observée avec l'extrait Methanolique de propolis en poudre marron vis-à-vis de différentes souches bactériennes testés.	35
08	Catégorie de l'activité antibactérienne observée avec l'extrait Acetonique de propolis en poudre marron vis-à-vis de différentes souches bactériennes testés.	35
09	Catégorie de l'activité antibactérienne observée avec l'extrait Ethanolique de propolis en poudre jaune vis-à-vis de différentes souches bactériennes testés	36
10	Catégorie de l'activité antibactérienne observée avec l'extrait Methanolique de propolis en poudre jaune vis-à-vis de différentes souches bactériennes testés	37
11	Catégorie de l'activité antibactérienne observée avec l'extrait Methanolique de propolis en poudre jaune vis-à-vis de différentes souches bactériennes testés	37

Liste Des Figures

figures:	Titres	Page
01	Les quatre types de diabète sucré	03
02	Quelques-uns des principaux facteurs de risque du diabète sucré de type 2	05
03	Types de diabète de maturité chez les jeunes et leurs noms alternatifs basés sur les gènes impliqués	07
04	Proportion de la composition chimique de la propolis	16
05	Pied diabétique infecté	18
06	Localisation de la Daïra de Ouenza wilaya de Tébessa	19
07	Propolis naturelle collecté par un apiculteur région Ouenza Tébessa	20
08	Aspect externe de l'abeille au niveau de la ruche source de la propolis	20
09	Propolis commercialisée sous forme de poudre marron	21
10	Propolis commercialisée sous forme de poudre jaune.	21
11	Milieus de cultures liquides et solide utilisées	22
12	évaporateur rotatif annoté	23
13	Plateau technique pour nettoyage de la plaie.	25
14	Nettoyage de la plaie par l'eau physiologique	25
15	Technique d'écouvillonnage pour prélèvement du pied diabétique infecté	26
16	Pesé de propolis naturel	27
17	Incubation des boites de pétri à l'étuve pendant 24H	28
18	Différentes culture fraîches des isolats bactériens,	29
19	Fréquence de l'infection mixte et mono bactérienne chez les malades prélevés	30
20	Aspect de L'extrait de propolis après l'extraction et l'ajout de DMSO	30
21	l'activité antibactérienne de la propolis naturelle et propolis commercialisé en poudre marron sur <i>S.aureus</i>	34
22	activité antibactérienne de la propolis naturelle et propolis commercialisé en poudre marron sur <i>les entérobactéries</i>	36
23	l'activité antibactérienne de la propolis naturelle et propolis commercialisé en poudre marron sur <i>les Pseudomonas</i> (photo personnel, 2022).	37

Table des matières

Remerciement	
Dédicace	
ملخص	
Abstract	
Résumé	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des abréviations	
Table de matières	
Introduction.....	01
Partie Bibliographique	
<i>I. Chapitre : diabète sucrée et complications.</i>	03
I.1. Définition du diabète sucré et facteur de risque	03
I. 2. Classification et physiopathologie du diabète sucré	03
I.2.1. diabète sucrée type 1	04
I.2.2.diabète sucrée type 2	04
1.2.3. diabète sucrée gestationnel	05
I.2.4. Autre types de diabète sucrée	05
I.2.4.1. Diabète causé par les défauts mono géniques de la fonction des cellules β	06
I.2.4.2. le diabète de la maturité chez les jeunes	06
I.2.4.3. Le diabète sucré néonatal	07
I.2.4.4.diabète causé par des anomalies génétiques dans l'action de l'insuline....	08
I.3. Complications du diabète sucré	08
<i>II. Chapitre : Infection du pied diabétique</i>	09
II.1. définition.....	09
II.2. facteurs de risques et signes cliniques.....	09
II.3. Classification de l'infection du pied diabétique	10
II.4. Caractéristique bactériologique de l'infection du pied diabétique	12
II.5. Prévention de l'infection	12
<i>III. Chapitre : Antibiothérapie et alternatifs naturelles ...</i>	14
III .1. Antibiothérapie de l'infection du pied diabétique	14

III.2. Thérapie naturelle alternatif à l’antibiothérapie	14
III.3. Propriété et nature de propolis.....	15
III.3.1. Composition de propolis	15

III.3.2. Efficacité antibactérienne de la propolis	16
---	-----------

Partie Expérimentale

II. LES MATERIELS ET METHODES.....	18
II.1. Cadre et objectifs de l’étude.....	18
II. 1.1. Cadre de l'étude	18
II. 1.2. objectifs de l’étude	18
II.2. Matériel	19
II.2.1. Matériel biologique	19
A. Les pieds des malades des pieds diabétiques	19
B. Source de substances bioactives	19
B.1.Propolis collecté par un apiculteur	19
B.2. Propolis commercialisée	20
B.3. Réactifs et autre substance	22
B.4.Milieus de culture solide et liquide	22
B.5. Appareillages	23
B.6. Verrerie et petit consommable	24
II.3. Méthodes	24
II.3.1. Modalités de recueil des données	24
II.3.2. prélèvement des échantillons	24
A. Technique de prélèvement	24
B. Phase d’analyse microbiologique au niveau de laboratoire	26
C. Extraction de propolis	27

III. Résultats

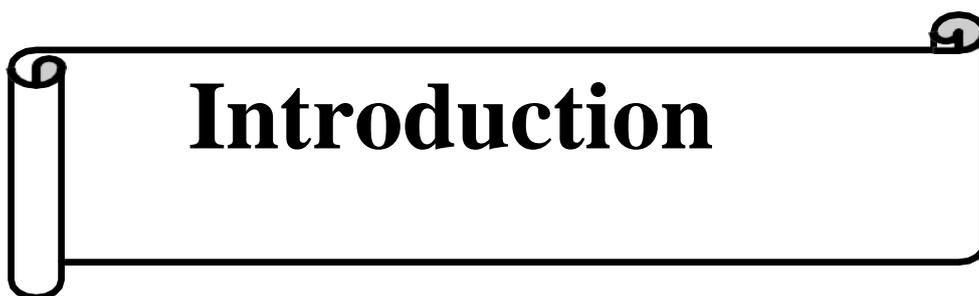
III.1. Isolement et purification des différentes souches bactériennes à des prelevement	29
III.2. Fréquence de l'infection mixtes et mono bactériennes chez les malades prélevés.....	29
III.3. Extraction de propolis.....	30
III.4. Rendement de l'extraction de la propolis avec les différents solvants	30
III.5. Différents Catégories de l'activité antibactérienne observée avec trois types d'extrait de propolis (Ethanolique ; Methanolique ; Acetonique	32
III.5.1. Différents Catégories de l'activité antibactérienne observée avec trois types d'extrait de propolis naturelle	33
III.5.2. Différents Catégories de l'activité antibactérienne observée avec trois types d'extrait de la propolis poudre marron commercialisée	34
III.5.3. Différents Catégories de l'activité antibactérienne observée avec trois types d'extrait de la propolis poudre Jaune commercialisée	36

II.3. Discussion

II.3. Discussion.....	38
Conclusion et perspectives	41
Références bibliographiques.....	
Annexes.....	

Liste des abréviations

DS	Diabète sucré
MODY	Maturity Diabetes of the Young
IPD	Infection du pied diabétique
ATCC	American type culture collection
IWGDF	International Working Group on the Diabetic Foot
PEDIS	système de classification des ulcères du pied diabétique
IDSA	Industrial Designers Society of America
UPD	Ulcération du pied diabétique
DMSO	diméthylsulfoxyde
E,coli	Escherichie coli
g	Gramme
GN	gélose nutritive
P.N	Propolis naturel
P.J	Propolis en poudre jaune
HK	Hektoen
Mc	Mac farland
MH	milieu de mueller Hinton
P.M	Propolis en poudre marron
mm	Millemètre
BGP	Bacilles Gram positif
OMS	organisation mondiale de la santé
P. aeruginosa	Pseudomonas aeruginosa
E. fécalis	Enterococcus fécalis
S. aureus	Staphylococcus aureus
UFC	Unité fonctionnelle de colonies



Introduction

Le diabète sucré, également connu sous le nom de diabète, est un trouble métabolique complexe caractérisé par une hyperglycémie qui se manifeste de manière chronique. L'hyperglycémie résulte d'une anomalie de la sécrétion ou de l'action de l'insuline ou les deux à la fois (**ADA ,2018**).L'hyperglycémie affecte plusieurs organes et perturbe leur fonctionnement normal. Les perturbations aboutissent finalement à une défaillance essentiellement des yeux, des reins, du cœur et des nerfs (**Banday et al ; 2020**).Au cours de l'année 2019, le nombre d'adultes âgés de 20 à 79 ans atteints de diabète a été estimé à environ 463 millions, ce qui représente 9,3 % de la population adulte mondiale totale. Dans la même année, environ 4,2 millions de personnes adultes âgés de 20 à 99 ans sont décédés suite au diabète et ces complications (**Saeedi et al ; 2019**).L'OMS estime que le diabète sera la 7ème cause de décès d'ici 2030 (**Mathers et Loncar, 2006**).

Une complication majeure du diabète sucré est l'ulcération du pied (DFU). La neuropathie périphérique (NP) et l'atteinte des artères périphériques (MAP) seule ou en combinaison associés à un traumatisme est la principale cause de (DFU), facilitant l'invasion et la multiplication des micro-organismes (**Nikoloudi et al ; 2018**).Cela entraîne des infections du pied diabétique (DFI), qui peut être défini comme une infection, impliquant soit des tissus mous, soit les os. La présence d'une(DFI) est confirmée avec de multiples signes d'inflammation, y compris la formation d'abcès, la cellulite, la myosite, la fasciite nécrosante, l'arthrite septique, la tendinite et l'ostéomyélite en se propageant à l'os après l'établissement de l'infection(**Raspovic et al ;2014**).Étant donné que les ulcères du pied diabétique sont généralement des plaies chroniques, les (DFI) peuvent devenir une maladie chronique, entraînant souvent des complications qui augmentent le risque d'amputation d'un membre et la mortalité. La principale préoccupation aujourd'hui est la reconnaissance rapide des symptômes en relation avec l'IFD et la prise en charge précoce des patients diabétiques, pour la préservation des membres (**Schape et al ; 2016**).

Les infections du pied diabétique sont considérées comme étant de nature polymicrobienne. Les bactéries aérobies à Gram positif prédominent généralement, le *Staphylococcus aureus* étant le plus fréquent .Autres espèces à Gram positif fréquemment isolés l'*Enterococcus faecalis*, *Streptococcus agalactiae* et *S. epidermidis*, tandis que *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* et *Proteus mirabilis* étaient les espèces gram-négatives les plus courantes (**Lipsky et al ; 2016**). Bien qu'il existe des études microbiologiques sur les ulcères du pied diabétique infectés où les bactéries gram-négatives dominant et *S. aureus* est moins répandu (**Ramakant et al ; 2011 ; Hatipoglu et al ; 2014**)

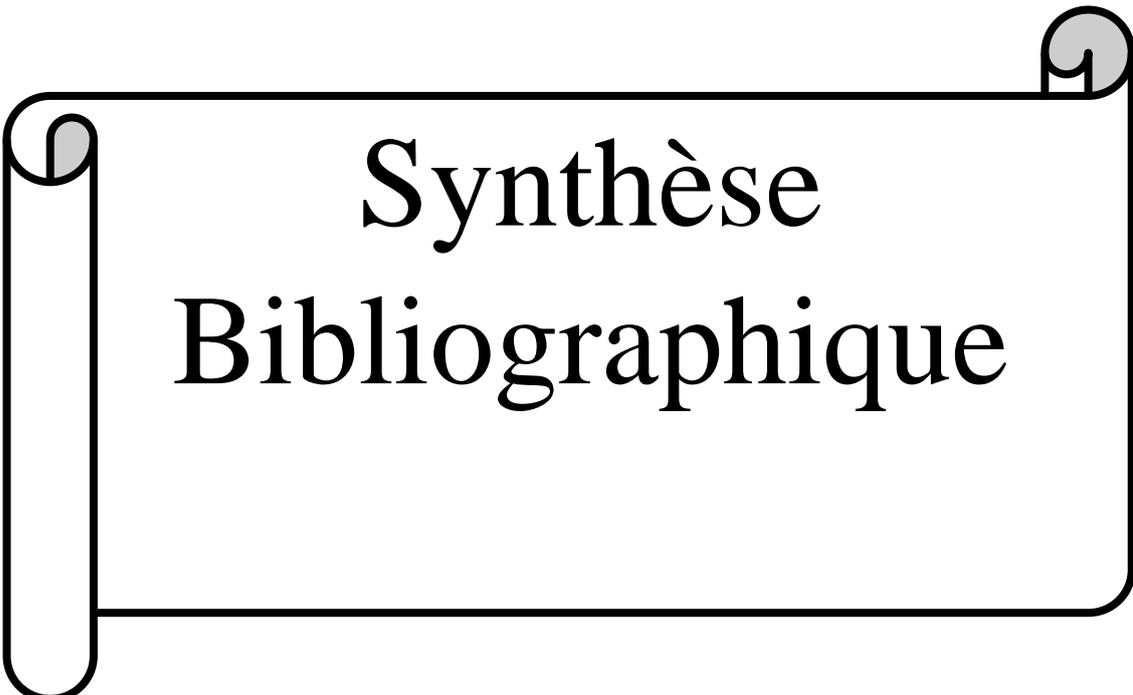
.La hausse alarmante des IFD causées par des bactéries résistants aux antibiotiques principalement suite à une hospitalisation antérieure pour prise en charge de la même plaie constitue un handicap pour la prise en charge sur le plan antibiothérapie (**Hartemann-Heurtier et al ; 2018**). Le caractère polymicrobien et la multirésistance aux antibiotiques rend indispensable le recours à la mise en culture, l'identification des pathogènes responsables et l'étude de la sensibilité aux antibiotiques obligatoire pour guider l'antibiothérapie, entraînant finalement une augmentation des coûts de la mortalité et de la morbidité (**Pellizzer et al ; 2000 ; Slater et al ; 2004**).

Au fil des Années, avec une fréquence croissante d'agents pathogènes résistants aux antibiotiques, et un aspect polymicrobien des IFD, des stratégies alternatives ont été proposées, seuls ou en association avec les antibiotiques pour résoudre le problème d'échec thérapeutique observés avec les molécules conventionnelles (**Lipsky et al ; 2016**). L'importance des substances bioactifs extraites des plantes et d'origine animale et leur efficacité contre diverses maladies ont attiré l'attention en tant qu'alternatives plus sûres dans la gestion de diverses infections, y compris les infections de pied diabétique ainsi que pour la cicatrisation de la plaie (**Choudhury et al ; 2018**).

La propolis produit d'origine animale utilisée par les abeilles comme matériau de construction dans la ruche et qui protège cette dernière contre les infections bactériennes et fongiques (**Yaghoubi et Satari, 2015**), a prouvé son efficacité dans plusieurs processus infectieux y compris l'infection de pied diabétique. La propolis est utilisée dans la médecine traditionnelle depuis des milliers d'années (**Gavanji et Larki,2015**). Son activité antibactérienne et antifongique. (**Bosio et al ; 2000 ; Bezerra et al ;2015**) en plus de son rôle dans l'inhibition de la formation de biofilm ont été suggérés comme étant les propriétés biologiques les plus importantes, ce qui la rend capable de lutter avec succès contre différentes bactéries telles que *Staphylococcus aureus*, *streptocoques*, *Moraxella catarrhalis* et certaines souches de *tuberculose mycobactéries* résistantes à la plupart des antibiotiques (**Jastrzębska-Stojko et al ;2013**).

Dans cette optique notre thème a été proposé et qui a eu pour objectifs :

- ❖ Etude bactériologique de l'infection de pied diabétique en déterminant le profil bactérien et la fréquence de l'infection mixte et isolé monobactérienne.
- ❖ étude de l'activité antibactérienne des différents Extraits d'une propolis de la région de Tébessa.



Synthèse
Bibliographique



Chapitre I

I.1. Définition du diabète sucré et facteurs de risque

Le diabète sucré est un trouble endocrinologique et/ou métabolique caractérisé par une hyperglycémie une condition physiologiquement anormale représentée par maintien d'une glycémie élevée (ADA, 2014).

Hyperglycémie résulte d'anomalies dans la sécrétion d'insuline ou son action. Le diabète suit un schéma progressif avec pathogenèse complexe et présentation variée. L'hyperglycémie résulte des dommages et dysfonctionnement aux organes, qui sont des complications oculaires entraînent une rétinopathie. Complications rénales conduire à une néphropathie et à une insuffisance rénale potentielle. Les complications associées aux nerfs entraînent neuropathie (ADA, 2018).

I.2. Classification et physiopathologie du diabète sucré

La DS est caractérisé par une pathogenèse complexe et des manifestations diverses ; ainsi toute classification de la maladie est arbitraire, mais toujours utile, ils sont souvent influencée par les conditions physiologiques qui existent au moment de son apparition

La classification actuellement utilisée est basée sur l'étiologie et la pathogenèse de la maladie et peut être utilisée pour l'évaluation clinique de la maladie et la détermination du traitement requis. Selon cette classification, le diabète peut être divisé en quatre types : le diabète sucré de type 1 (DT1), le diabète sucré de type 2 (DT2), le diabète sucré gestationnel (DSG), diabète sucré secondaire (DSS), (ADA, 2018). [fig.01]

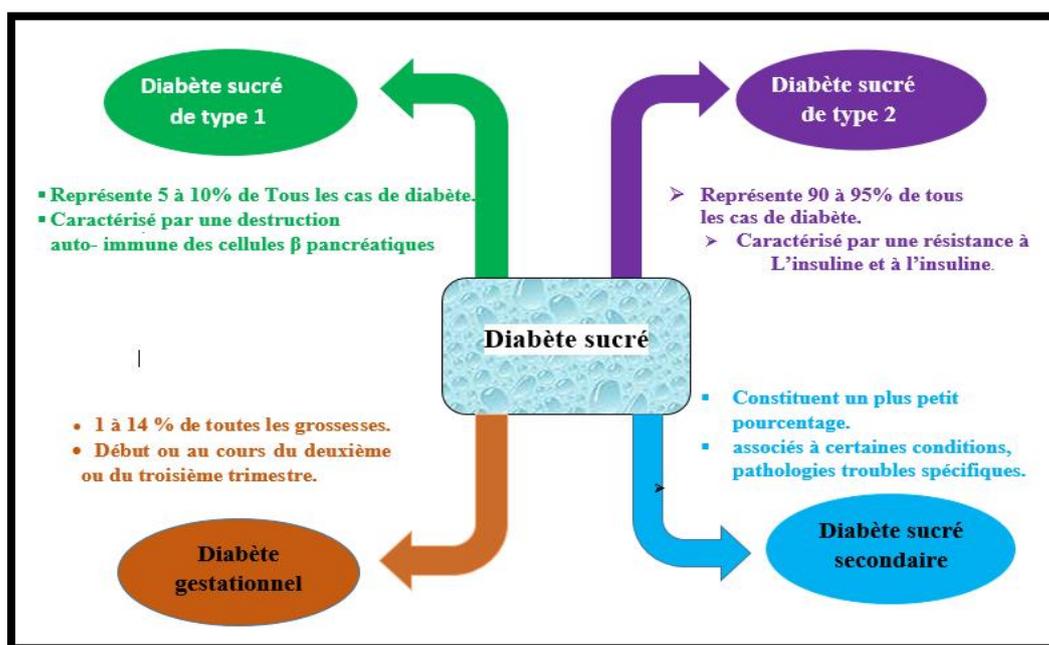


Figure 01. Les quatre types de diabète sucré (Banday et al., 2020).

I.2.1. Diabète sucré Type 1

DT1, également connu sous le nom de diabète de type A1 ou selon la nomenclature précédente sous le nom de diabète sucré insulino-dépendant ou diabète juvénile. Il s'agit d'une maladie auto-immune caractérisée par la destruction des cellules β pancréatiques par les lymphocytes T, ce qui entraîne une carence en insuline et, finalement, une hyperglycémie (**Knip et Siljander, 2008**) Le DT1 est une maladie auto-immune caractérisée par plusieurs marqueurs immunitaires, notamment des auto-anticorps. Généralement plusieurs marqueurs immunitaires ont été observés dans 85 à 90 % des patients atteints de DT1 d'apparition récente (**Kahaly et Hansen, 2016**). Ce type de diabète est connu comme un «diabète auto-immun latent chez l'adulte », également connu sous le nom de «diabète insulino-dépendant à progression lente» (**Zimmet et al, 1994**), Les personnes atteintes de ce type de diabète peuvent être obèses au moment de l'examen et de l'évaluation, mais elles sont rarement obèses (**ADA, 2014 ; Knip et al., 2008**).

I.2.2. Diabète sucré Type 2

La DT2, également appelé diabète non insulino-dépendant (DNID) ou diabète de l'adulte. Ce type de diabète est caractérisé par deux principales anomalies liées à l'insuline : la résistance à l'insuline et le dysfonctionnement des cellules β (**Muoio et al., 2008 ; Leahy, 2005 ; DeFronzo, 2004**).

La résistance à l'insuline est causée par la perturbation de diverses voies cellulaires, ce qui entraîne une diminution de la réactivité ou de la sensibilité des cellules dans les tissus périphériques, en particulier les muscles, le foie et le tissu adipeux, à l'insuline. (**Muoio et al., 2008**).

Le DT2 évolue très lentement et de manière asymptomatique, avec même une légère hyperglycémie pendant de nombreuses années. En conséquence, il reste largement non diagnostiqué jusqu'à ce que les symptômes typiques associés à une hyperglycémie sévère, tels qu'une perte de poids, une croissance altérée, une vision floue, une polyurie et une polydipsie, apparaissent dans les derniers stades de la maladie. (**Frayling, 2007 ; Zeggini et al., 2008**). Le DT2, en particulier aux stades moyen et tardif, est fréquemment associé au développement de diverses complications micro vasculaires et macro vasculaires. (**fig.02**).

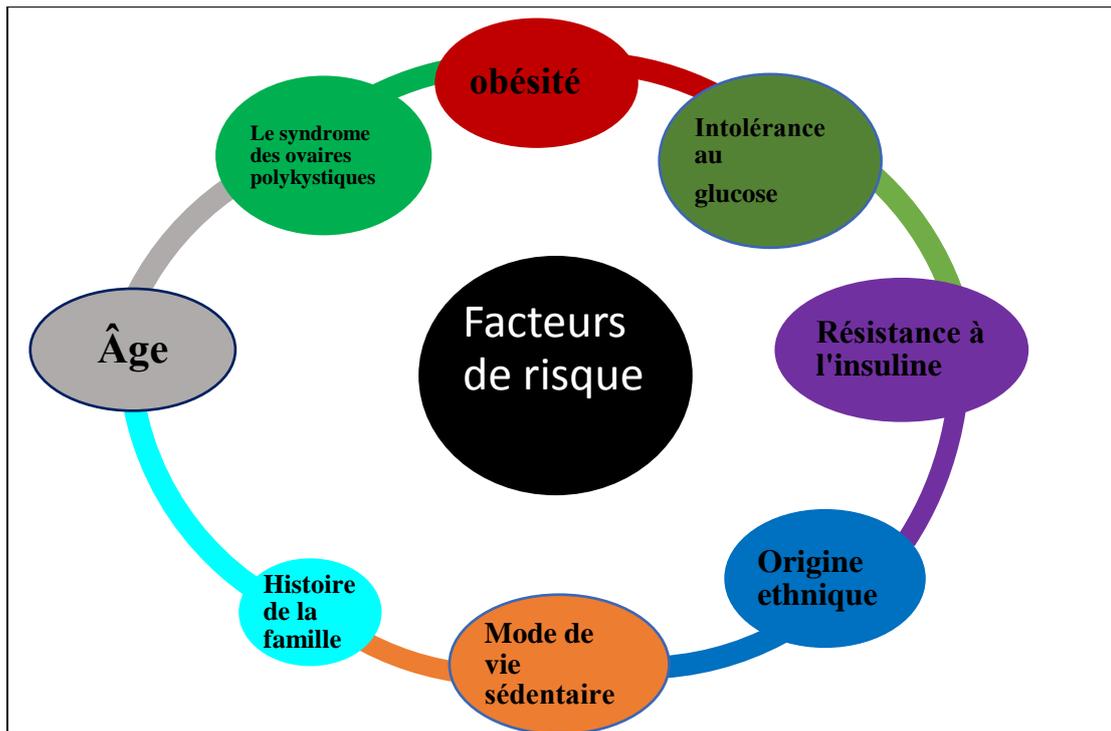


Figure 02. Quelques-uns des principaux facteurs de risque du diabète sucré de type 2 (Banday et al., 2020).

I.2.3. Diabète sucré gestationnel

La DG est un diabète diagnostiqué au cours de la grossesse, généralement pendant la deuxième ou le troisième trimestre de la grossesse (ADA, 2014).

Cependant, les recommandations récentes de l'Association internationale pour l'étude du diabète et de la grossesse excluent le diabète diagnostiqué au cours du premier ou du troisième trimestre chez les femmes à haut risque, telles que les femmes obèses, où l'intolérance au glucose, quel que soit son degré, est décrit comme un diabète manifeste non diagnostiqué auparavant et non DG. La DG, contrairement à tout diabète préexistant chez les femmes enceintes, disparaît généralement peu de temps après l'accouchement ou l'interruption de la grossesse. (Lawrence et al., 2008).

I.2.4. Autres types de diabète sucré

Outre le DT1, le DT2 et le DG, d'autres formes de diabète, bien qu'elles représentent des pourcentages plus faibles par rapport à l'incidence globale du diabète, sont associées à des conditions spécifiques comprenant diverses pathologies et/ou plusieurs troubles. Les plus importants de ces types de diabète sont ceux résultant de défauts monogéniques de la fonction des cellules β et ceux dus à des anomalies génétiques de l'action de l'insuline, les

endocrinopathies, les pathologies du pancréas exocrine et plusieurs autres conditions spécifiques.

I.2.4.1. Diabète causé par les défauts mono géniques de la fonction des cellules β

La diabète résultant de défauts monogéniques de la fonction des cellules β ne constitue que 0,6 à 2 % de tous les cas de diabète et comprend principalement le diabète de la maturité chez les jeunes et le diabète néonatal, ainsi que d'autres types rares de diabète (**ADA, 2014**).

I.2.4.2. Le diabète de la maturité chez les jeunes

le diabète de type MODY est une forme particulière de diabète , c'est un groupe génétiquement, métaboliquement et cliniquement hétérogène de diabètes principalement non insulino-dépendants, résultant de mutations dans plusieurs gènes spécifiques impliqués dans la fonction des cellules β du pancréas, qui affectent la détection du glucose et la sécrétion ultérieure d'insuline, sans défaut ou avec des défauts minimes, le cas échéant, dans l'action de l'insuline (**Gardner, 2012 ; Shields et al., 2010**).

Le MODY représente moins de 2% de tous les cas de diabète (Kim ,2015) et 1 à 6 % de tous les cas de diabète pédiatrique (**Hattersley et al., 2018**). Le MODY suit un modèle d'héritage autosomique dominant et implique généralement la transmission verticale de la maladie sur au moins trois générations par tous les membres de la famille atteints de diabète. (**Vaxillaire et al., 2008**).

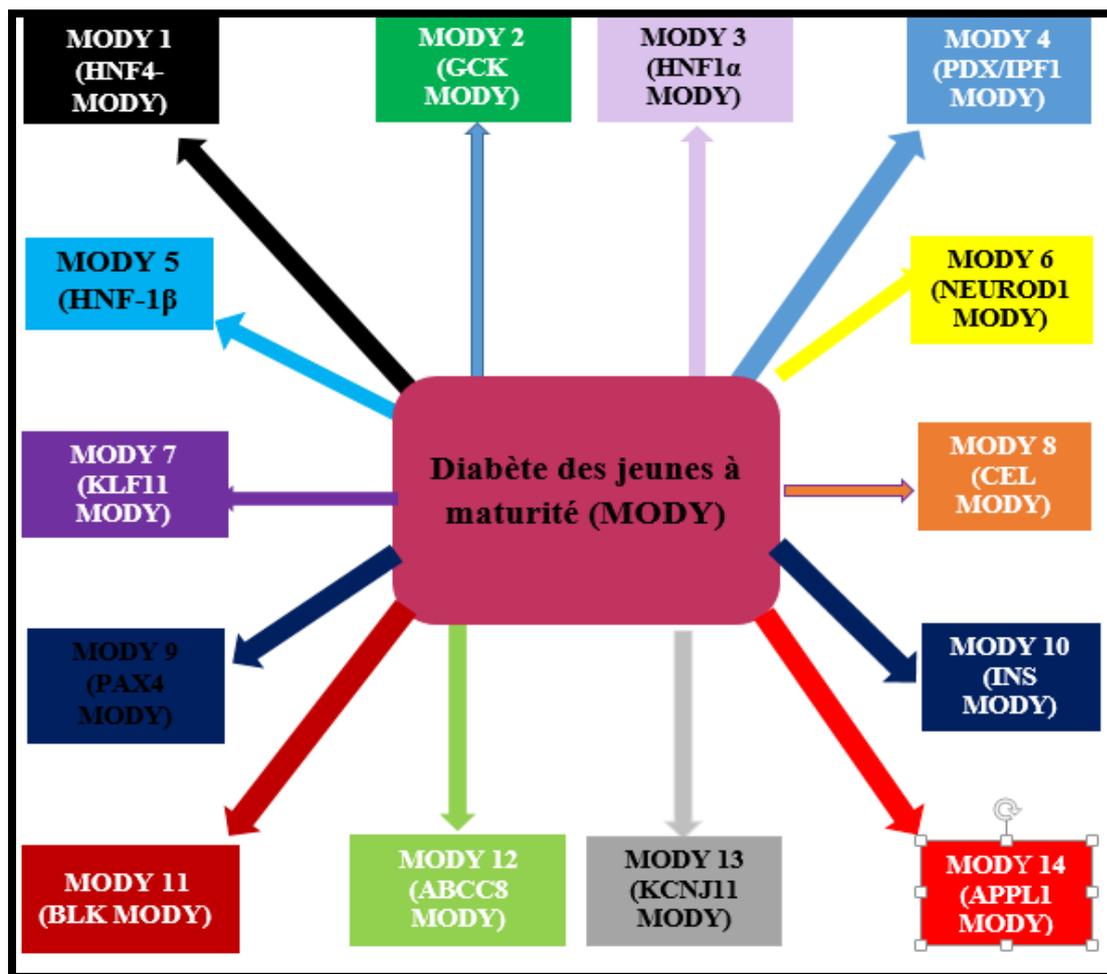


Figure 03. Types de diabète de maturité chez les jeunes et leurs noms alternatifs basés sur les gènes impliqués (Banday et al., 2020).

I.2.4.3. Le diabète sucré néonatal

Le diabète sucré néonatal, également appelé diabète précoce ou congénital, est le diabète diagnostiqué au cours des 6 premiers mois de vie (Polak et Cavé, 2007 ; Iafusco et al., 2012). Ces anomalies entraînent également des anomalies du développement du pancréas et/ou de ses îlots pancréatiques ou, dans très rares cas, leur absence totale, ce qui entraîne une diminution de la production et de la sécrétion d'insuline ou une hypo insulinémie, dans ce dernier cas, une carence absolue en insuline (Aguilar et Bryan, 2008).

Le diabète néonatal est très distinct du DT1 précoce et diffère de celui-ci à la fois par l'origine et le mode de trouble pancréatique inné et se produit principalement au cours des 6 premiers mois de vie, alors que le DT1 se développe principalement après 6 mois de vie. (Polak et Cavé, 2007 ; Aguilar et al., 2008).

I.2.4.4. Diabète causé par des anomalies génétiques dans l'action de l'insuline

Plusieurs anomalies génétiques de l'action de l'insuline résultant soit d'une altération fonctionnelle du récepteur de l'insuline, soit d'une diminution du nombre de récepteurs de l'insuline, provoquées principalement par les mutations du gène du récepteur de l'insuline situé sur le chromosome 19 (**Diamanti et Dunaif, 2012**).

I.3. Complication du diabète sucré

Les complications chroniques attribuables au DS sont nombreuses, locales ou régionales, insidieuses et souvent graves ; puisque elles altèrent la qualité de vie et les capacités fonctionnelles et réduisent l'espérance de vie. Elles sont secondaires à une hyperglycémie chronique durant des années (5 à 10 ans) (**ADA, 2018**). On distingue les complications liées à :

- ✓ **La Microangiopathie** : intéressant les vaisseaux de petits calibres et les capillaires : la rétinopathie, la néphropathie et la neuropathie.
- ✓ **La Macroangiopathie** : intéressant les vaisseaux de moyens et gros calibres : l'atteinte cardio-vasculaire.
- ✓ **Le dysfonctionnement immunitaire** : est une autre complication majeure qui se développe sous l'effet direct de l'hyperglycémie sur l'immunité cellulaire. Les diabétiques sont particulièrement sensibles aux infections bactériennes et fongiques. (**Powers et al., 2015**).



Chapitre II

II.1. Définition

La principale complication du diabète est l'ulcération du pied. La neuropathie périphérique (NP) et la maladie artérielle périphérique (MAP), seules ou associées à un traumatisme, sont des causes majeures d'IPD, favorisant l'invasion et la prolifération microbiennes. une infection du pied diabétique (IPD), qui peut être définie comme une infection sous l'articulation de la cheville impliquant des tissus mous ou des os. Sa présence est confirmée par de multiples signes d'inflammation, notamment la formation d'abcès, la cellulite, la myosite, la paronychie, la fasciite nécrosante, l'arthrite septique, la tendinite et l'ostéomyélite qui se propage à l'os après l'infection. Étant donné que les ulcères du pied diabétique sont souvent chroniques, l'IPD peut devenir une maladie chronique qui entraîne souvent des complications plus graves qui augmentent le risque d'amputation et de décès. Même des niveaux modérés d'IPD peuvent avoir un impact négatif profond sur la santé physique et mentale des patients (Raspovic et al., 2014), et les systèmes de santé sont confrontés à des coûts administratifs importants (Prompers et al., 2008). De toute évidence, l'accent est mis sur la reconnaissance rapide et la prise en charge précoce des symptômes chez les patients diabétiques, car le sauvetage de membre est désormais possible chez les patients à haut risque, bien que la survie à long terme reste médiocre en raison de comorbidités (Morbach et al., 2012).

II.2. Facteurs de risque et signes cliniques

Le diagnostic d'IPD repose sur une évaluation clinique. La première approche consiste donc à obtenir une anamnèse détaillée. Cependant, les signes locaux d'infection du pied diabétique peuvent ne pas être présents en raison d'une MAP et/ou d'une neuropathie périphérique et souvent d'une perte concomitante de sensation protectrice (Lipsky et al., 2012 ; Tesfaye et Selvarajah, 2012). L'évaluation vasculaire comprend les pouls pédiens et les mesures de l'index cheville-bras (ADA, 2017 ; Pop-Busui et al., 2017) et à effectuer un examen clinique. L'histoire suggère la présence de facteurs de risque majeurs pour le développement d'infections du pied, tels que des ulcères du pied antérieurs ou récurrents, des ulcères durant plus de 30 jours, une amputation antérieure d'un membre inférieur, la présence d'une MAP, NP, insuffisance rénale ou d'une transplantation et la marche pieds nus (Lavery et al., 2006 ; Peters et Lipsky, 2013). Lors de l'examen clinique, le bilan initial doit évaluer la blessure, le pied et l'état général du patient. Les signes d'infection locale sont une température corporelle élevée, un érythème, une douleur, un dysfonctionnement et un œdème. Un diamètre et une profondeur accrus, un écoulement purulent, une odeur, une nécrose et la présence de bordures mal saines

peuvent également être présents. Des symptômes systémiques apparaissent dans les infections sévères et comprennent de la fièvre, des frissons, une instabilité hémodynamique (tachycardie, hypotension, augmentation de la fréquence respiratoire), de la fatigue, des nausées, de l'anorexie, une altération du niveau de conscience et des troubles métaboliques (**Peters et Lipsky, 2013 ; Lipsky et al., 2016**).

II.3. Classification de l'infection du pied diabétique

Il existe au moins 11 systèmes de classification utilisés pour évaluer les infections du pied diabétique, tels que la classification de Wagner, le S/SAD, le système de l'Université du Texas, l'indice de gravité de l'ulcère, le score de gravité de l'ulcère diabétique et le DFIs Wound Score. Le choix du système de notation peut être influencé par la population étudiée et par le contexte pour lequel il est nécessaire, allant de la pratique clinique à la recherche (**Karthikesalingam et al., 2010**). Le groupe de travail international sur le pied diabétique et la Société des maladies infectieuses d'Amérique ont proposé deux schémas presque identiques, qui décrivent comment définir à la fois la présence et la gravité de l'infection (**Lipsky et al., 2016**). Le système de classification développé par l'IWGDF nommé PEDIS lors de la classification des infections a un score allant du grade 1 au grade 4 (**Tableau 1**) (**Schaper, 2004**). De même, le système de notation ISDA divise les plaies en infectées et non infectées ; si la plaie est infectée, elle est classée comme légère, modérée ou grave (**Tableau 1**) (**Lipsky et al., 2012**). Le principal avantage du système de classification IWGDF/IDSA est très simple avec des définitions claires et de petites catégories et s'est avéré prédire les résultats cliniques des IPD (**Lavery et al., 2007**).

Tableau 01. Classification des infections du pied diabétique par les deux comités internationaux IWGDF et IDSA selon le système PEDIS (Lipsky et al., 2012)

Description clinique de l'infection	Classe PEDIS	Gravité de l'infection IDSA
<ul style="list-style-type: none"> ✚ Absence de symptômes locaux ou de signes d'infection 	01	Non infecté
<ul style="list-style-type: none"> ✚ Aucune implication d'infection des tissus plus profonds. Au moins 2 des éléments suivants sont présents. (Exclure les autres causes de réponses inflammatoires cutanées, telles que les traumatismes, la goutte, la neuro-ostéoarthropathie aiguë de Charcot, les fractures, les thromboses et la stase veineuse) • Gonflement ou induration locale • Érythème > 0,5 à 2 cm autour de l'ulcère • Sensibilité ou douleur locale • Chaleur locale • Écoulement purulent (sécrétion épaisse, opaque à blanche ou sanguine) 	02	Bénigne
<ul style="list-style-type: none"> ✚ Atteinte d'une infection plus profonde que la peau et des tissus sous-cutanés (abcès, ostéomyélite, arthrite septique, fasciite) ou érythème > 2 cm plus un des éléments décrits dans la classification légère (grade 2). 	03	Modérée
<ul style="list-style-type: none"> ✚ Signes du syndrome de réponse inflammatoire systémique. Au moins 2 des éléments suivants sont présents. 4 Sévère • Température > 38 °C ou < 36 °C • Fréquence cardiaque > 90 battements/min • Fréquence respiratoire > 20 respirations/min ou PaCO₂ < 32 mm Hg • Nombre de globules blancs > 12 000 ou < 4 000/cellules/μL ou 10 % de formes immatures (bande) 	04	Grave

II.4. Caractéristique bactériologique de l'infection du pied diabétique

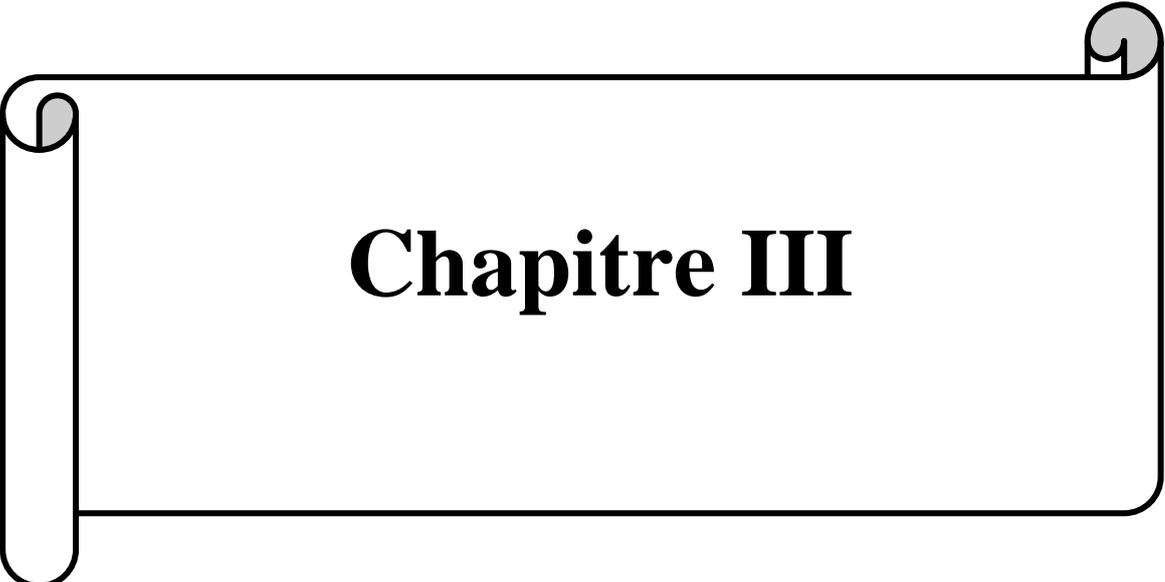
L'avènement des méthodes d'analyses la mise en culture a permis de reconnaître plusieurs maladies à une véritables infections polymicrobiennes, et que la composition des populations microbiennes peut prédire la gravité et l'issue de la maladie (Peters et al., 2012). L'infection du pied diabétique est également considérée comme étant de nature polymicrobienne (Sapico et al., 1984). En particulier les infections chroniques ou les infections précédemment traitées avec des antibiotiques, alors que la plupart des infections aiguës chez les patients qui n'ont pas récemment reçu d'antibiotiques sont mono-microbiennes (Charles et al., 2015). Les bactéries aérobies à Gram positif prédominent généralement, *Staphylococcus* (principalement *Staphylococcus aureus*) étant le genre le plus courant (Tentolouris et al., 1999). D'autres bactéries Gram-positives couramment trouvées dans les ulcères du pied diabétique infectés légers à modérés comprenaient *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus agalactiae* et *Staphylococcus epidermidis*, tandis que *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* et *Proteus mirabilis* étaient les espèces gram-négatives les plus courantes (Ge et al., 2002). Il convient de noter cependant qu'il existe des études microbiologiques sur les ulcères du pied diabétique infectés où les bactéries gram-négatif dominant et *S. aureus* est moins répandu (Ramakant et al., 2011). Les cliniciens doivent également suspecter la présence de bactéries anaérobies obligatoires, en particulier dans les cas où le pied présente des tissus nécrotiques ou ischémiques ou une odeur fétide. Les deux principales espèces signalées sont *Bacteroides* et *Peptostreptococcus*, mais on ne sait toujours pas si elles sont des agents pathogènes ou représentent des colonisateurs associés à une ischémie ou une nécrose tissulaire (Uckay et al., 2015). Les Organismes multi-résistants aux médicaments (MDRO) le plus fréquemment isolé est *S. aureus* résistant à la méthicilline (SARM). Sa prévalence dans les ulcères du pied infectés est de 15 à 30 %, de nouvelles souches étant reconnues ; dans des études portant sur la prévalence d'organismes pathogènes dans les ulcères du pied chez les patients diabétiques, jusqu'à 40 à 50 % des isolats de *S. aureus* se sont révélés être des SARM (Tentolouris et al., 1999 ; Tentolouris et al., 2006).

II.5. Prévention de l'infection du pied diabétique

S'il y a des signes de pré-ulcération, un spécialiste du pied qualifié doit traiter le pied en enlevant les callosités lourdes, en protégeant et en drainant les cloques et en traitant les ongles incarnés ou épaissis (Schaper et al., 2016). La stimulation des facteurs de croissance est essentielle pour améliorer le potentiel de cicatrisation (Garwood et Steinberg, 2016). Pour guérir les ulcères du pied liés au diabète causés en partie par une pression anormale sur la plante

des pieds, des interventions de soulagement de la pression telles que des plâtres, des chaussures thérapeutiques ou des coussinets sont largement utilisées (**Lewis et Lipp, 2013**). La prévention est essentielle pour éviter de futures complications. Principalement on base sur des signes ou symptômes de MAP et de neuropathie périphérique. La fréquence des dépistages varie de tous les 1 à 3 mois à annuelle selon le statut de risque du patient (**Schaper et al., 2016**). Un aspect important est l'éducation des patients diabétiques et des pieds à haut risque d'UPD. Les patients doivent être conscients de l'importance des soins et de la surveillance des pieds de routine et doivent être éduqués sur les comportements d'autoprotection, y compris le choix de chaussures appropriées. La motivation à adhérer à ces pratiques peut être une question complexe, et les cliniciens doivent utiliser des messages clairs et simples basés sur le mode de vie du patient (**Price, 2016**).

Les soignants doivent également s'assurer que si le patient a des limitations physiques, de l'immobilité ou des problèmes cognitifs, d'autres personnes (par exemple, des membres de la famille) peuvent effectuer des tâches de routine telles que des examens quotidiens des pieds et la coupe des ongles (**ADA, 2014**).



Chapitre III

III.1. Antibiothérapie de l'infection du pied diabétique

Le traitement des infections du pied diabétique avec des antibiotiques oraux ou parentéraux a réduit la mortalité et le nombre élevé d'amputations de jambes. Les antibiotiques oraux sont préférés en raison de leur gamme d'avantages. L'administration est plus facile, avec moins d'effets secondaires et des coûts nettement inférieurs. La sélection des antibiotiques appropriés est basée sur les caractéristiques de la plaie du patient (**Kalish et Hamdan, 2010**). Les infections bénignes sont généralement traitées avec un seul agent antibactérien ayant une bonne efficacité, tolérabilité et biodisponibilité, comme la clindamycine (**large couverture Gram positive**) ou l'amoxicilline/acide clavulanique. Chez les patients préalablement traités par antibiotiques, les fluoroquinolones (**ciprofloxacine, ofloxacine, lévofloxacine**) peuvent être utilisées pour étendre le traitement aux bactéries à Gram négatif (**Jude et Unsworth, 2004 ; Grigoropoulou et al., 2017**).

Selon la réévaluation du patient, les résultats de laboratoire et de culture, le traitement peut être modifié. Une fois que la réponse clinique du patient s'améliore le traitement doit être désamorcé en utilisant des agents à spectre plus étroit pour prévenir le développement d'une résistance aux antibiotiques et une surutilisation inutile d'antibiotiques. Si l'infection s'aggrave, une réévaluation clinique donc le traitement doit changer, en ajoutant une couverture antibiotique pour tous les pathogènes isolés, MDRO, anaérobies, organismes exigeants (**Grigoropoulou et al., 2017**). Si les résultats de laboratoire suggèrent la présence de micro-organismes non couverts par l'agent antibiotique que le patient reçoit, mais que l'amélioration clinique est évidente (**Lipsky, 2016**). Il n'est pas nécessaire de changer les agents utilisés (**Olid et al, 2015**).

III.2. Thérapie naturelle alternatif à l'antibiothérapie

Les substances bioactives sont des molécules issues d'une source naturelle biologique (animale ou végétale ou antimicrobienne), Qui peuvent être classées d'un point de vue clinique, pharmacologique ou botanique (**Suleria et al., 2019**). Qui ayant des propriétés bénéfiques (anti-tumorales, antivirales, antifongiques, antimicrobiennes, antioxydantes, analgésiques, anti-diarrhéiques cicatrisantes...) comme **L'ail, Gingembre, l'origan, miel ; propolis (Brandt et al. 2004 ; Yeh et al. 2003)**.

Parmi toutes les alternatives naturelles qui ont une efficacité sur l'infection du pied diabétique on sélectionne dans notre travaille la propolis pour voir leur efficacité sur les Bactéries pathogènes isolée à partir d'un pied diabétique infecté.

III.3. Propriété et nature de propolis

Propolis est une matière résineuse collante libérée des sécrétions de diverses sources végétales telles que les boutons floraux, les fleurs et les feuilles après modification avec les sécrétions et les cires d'abeilles (**Simone-Finstrom et al., 2017**). Propolis fabriquée par les abeilles, à partir d'aiguilles ou de sève d'arbres à feuilles persistantes (**Martinotti et Ranzato., 2015**). La propolis est utilisée comme aliment et traitement utile pour les problèmes de santé généraux (**Wagh, 2013**). La propolis est connue comme un agent cicatrisant, seul ou en combinaison avec d'autres substances (**Martinotti et Ranzato., 2015**). Diverses propriétés naturelles de la propolis ont été prises en compte, la cytotoxicité et l'activité antimicrobienne (**Pasupuleti et al. 2017**), propriétés antivirales, anti-inflammatoires, antibactériennes, antifongiques, anti-protozoaires, anti-hépatotoxiques, antimutagènes, anti-cancéreuses (**Sforcin et al., 2017 ; Toreti et al. 2013 ; Sforcin., 2016**).

III.3.1. Composition de propolis

Les usages bénéfiques de la propolis ont suscité l'engouement pour la recherche sur sa composition chimique en relation avec son origine botanique. On retrouve donc des composés polyphénoliques dans la propolis produite par les abeilles. Les flavonoïdes sont les polyphénols de base de la propolis, qui sont affectés par la source et l'environnement végétal écologique où vivent les abeilles (**Toreti et al. 2013 ; Becerra et al., 2019**) Les matières premières utilisées par les abeilles pour produire la propolis sont principalement des substances émises par les plantes (**Ristivojevic et al. 2015**). La propolis est un complexe de substance résineuse composée des éléments suivants : gommés et résines ambrées (**50% à 70%**), huiles et cires (**30% à 50%**), pollen (**5% à 10%**). En plus, il existe d'autres substances telles que les vitamines **B, C** et **E** et les composés aromatiques (**Fig. 04**) (**Ahangari et al., 2018**). De plus, la propolis contient également des huiles instables, des terpènes, ces mélanges auraient un effet synergique sur l'efficacité de la propolis cires, 30 % d'huiles essentielles, 10 % de polyènes, 5 % d'autres substances organiques, résines végétales, 50 % de 3 composés (**Simone et Spivak. ? 2010**).

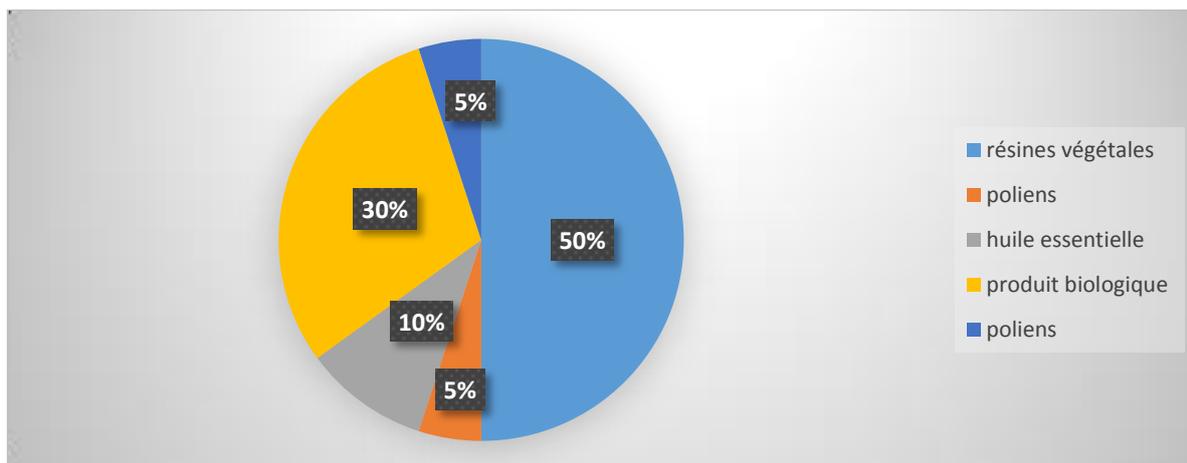


Fig.4. Proportion de la composition chimique de la propolis. (Przybyłek et Karpin, 2019).

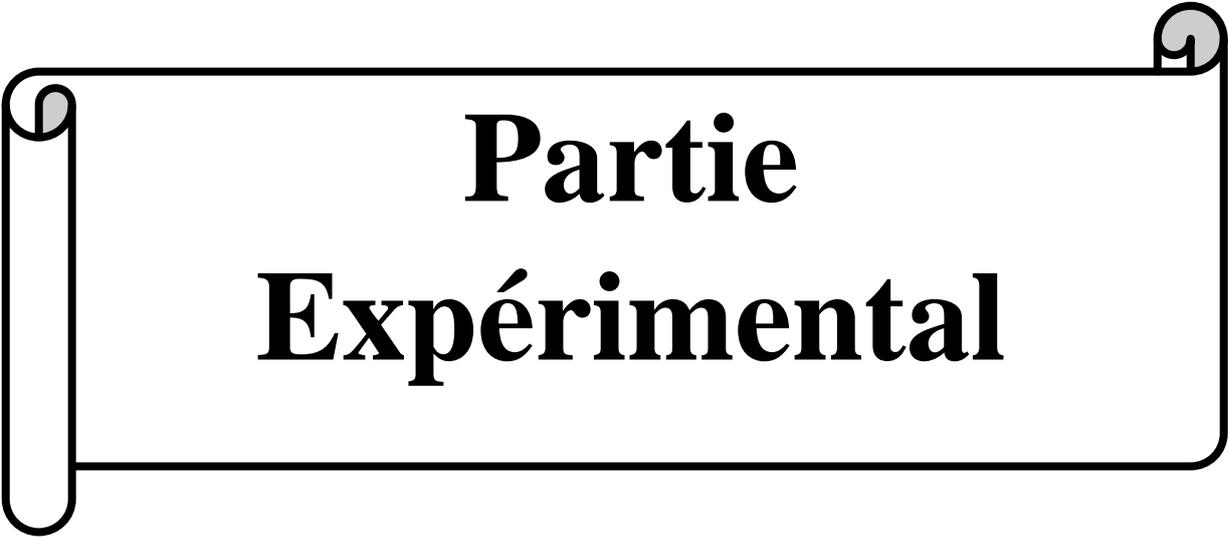
III.3.2. Efficacité antibactérienne de la propolis

Les effets antibactériens de la propolis et certains de ses composants sont utilisés pour lutter contre les infections causées par les bactéries, les virus, les champignons et les protozoaires (Bezerra et al., 2015 ; Mokhtar et al., 2016 ; Yildirim et al., 2016 ; Oryan et al., 2018 ; Alotaibi et al., 2019 ; Przybyłek et Karpin'ski, 2019). Diverses études ont montrés que la propolis est plus efficace contre les bactéries gram-positives que les bactéries gram-négatives (tableau 02). La meilleure activité de la propolis est avec la propolis du Moyen-Orient, qui est extrêmement efficace contre les bactéries Gram-positives (*Staphylococcus aureus*) et les bactéries Gram-négatif (*E. coli*). On pense que la propolis exerce son activité antibactérienne en renforçant l'immunité de l'organisme ou en agissant directement sur les micro-organismes (Sforcin et Bankova., 2011). Fondamentalement, l'effet antibactérien supérieur de la propolis contre les bactéries Gram-positif c'est dû à l'adhérence de la propolis à la membrane externe de ces bactéries (Kedzia, 2013). L'Artepillin c'est l'un des nombreux mélanges phénoliques trouvés dans la propolis, ont montré une puissante activité antibactérienne contre le SARM.

En effet, un extrait éthanolique de propolis connu sous le nom de kaempféride, est utilisé dans le traitement des infections cutanées à *S. aureus*. De plus, le kaempféride était très efficace contre *Enterococcus Faecalis*, *Listeria monocytogenes* et *Staphylococcus Saprophyticus* (Hernández Tasco et al., 2018 ; Kharsany et al., 2019). De plus, on suppose que la propolis peut provoquer une lyse bactérienne fractionnée et peut affecter les protéines bactériennes. De nombreuses recherches ont confirmé leur action synergique entre les agents anti-infectieux (Dantas Silva et al. 2017).

Tableau 02 Les activités antibactériennes de divers types de propolis.

Types de propolis	Souches bactériennes	Effets	Références
Propolis Iranien	<i>P. aeruginosa</i> (PTCC 1707) et <i>S. aureus</i> (PTCC 1431)	Effet inhibiteur significativement plus élevé sur la bactérie Gram positive <i>S. aureus</i> par rapport à <i>P. aeruginosa</i> Extrait éthanoloïque de propolis (EEP) efficace contre	(Aryaei, 2018).
Propolis Tribal	<i>Lactobacillus acidophilus</i> et <i>Streptococcus mutans</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i> et <i>Streptococcus mutans</i> Aucun effet n'a été observé sur l'extrait aqueux indiquant que les principes actifs de la propolis ne sont pas solubles dans l'eau .	(Airen et al., 2018).
Propolis Mexicain	<i>Salmonella typhimurium</i> (ATCC-13311), <i>Escherichia coli</i> (ATCC-10536), <i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC-11632) et <i>Listeria monocytogenes</i> (ATCC-19115)	L'extrait d'éthanol a été observé une activité antimicrobienne contre <i>S. aureus</i> et <i>L. monocytogenes</i> mais aucun effet contre <i>E. coli</i> et <i>S. typhimurium</i> .	(Bucio, 2017).
Propolis Péruvien	<i>Streptococcus Mutans</i> ATCC 250,175	La propolis collectée en automne a une croissance plus élevée de <i>S. mutans</i> que la croissance enregistrée dans les extraits collectés pendant l'été.	(Becerra, 2019).
Propolis Brasilia	<i>Escherichia coli</i> et <i>Staphylococcus aureus</i>	Les extraits éthanoloïque de propolis (EEP) ont inhibé la croissance de <i>Staphylococcus aureus</i> mais pas d' <i>Escherichia coli</i> .	(Gonzales, 2006).
Propolis de Saudia et Égypt.	<i>Escherichia Coli</i> and Multirésistant aux médicaments et <i>Staphylococcus Aureus</i> .	L'extraction à l'alcool éthylique de la propolis collectée en Arabie saoudite (EEPS) et en Égypte (EEPE) a inhibé <i>E. coli</i> et <i>S. aureus</i> résistants aux antibiotiques.	(Al-Waili et al., 2012).
Propolis Kenyan	<i>Staphylococcus aureus</i> et <i>Bacillus subtilis</i> ,	Les deux souches étaient très sensibles à 70 % d'éthanol extraits de propolis (EEP)	(Muli, 2007).



**Partie
Expérimental**

II.MATERIEL ET METHODES

II-1.Cadre et objectifs de l'étude

II.1.1.Cadre de l'étude

Notre étude s'est déroulée en une période de cinq mois du décembre 2021 jusqu'au Mai 2022, au niveau de l'établissement hospitalière public (EPH Bouguerra Boulaaras Bekkaria) sur les patients admis pour infection du pied diabétique et hospitalisé au service médecine interne homme et femme, et au niveau de laboratoire microbiologie appliquée de l'université (Larbi -Tébessi), Faculté des sciences exactes de la nature et de la vie.

II.1.2.Objectifs de l'étude

- ❖ Prélèvement et isolement des bactéries à partir du pied diabétique infecté.
- ❖ Déterminer l'infection mixte ou monomicrobienne dans cette pathologie.
- ❖ Extraction de trois types propolis avec utilisation de trois types de solvant (Ethanol, Méthanol, Acétone)
- ❖ Etude de l'activité antibactérienne de trois extraits de propolis sur des souches bactériennes isolées à partir de l'infection du pied diabétique par méthode des puits sur milieu solide.



Fig.05. Pied diabétique infecté (Photo personnel

II.2. Matériel

II.2.1. Matériel biologique

A. Les pieds des malades diabétiques infectés

Les souches bactériennes ont été prélevées à partir du pied des malades diabétiques infectés au niveau de L'EPH de Bekkaria Wilaya Tébessa.

B. Source de substances bioactives

B.1. Propolis collecté par un apiculteur

La propolis produit secrété par l'abeille (nom de l'abeille) qui a comme nourriture récolté La plante *Rosmarinus officinalis* de la région Ouenza Wilaya de Tébessa.

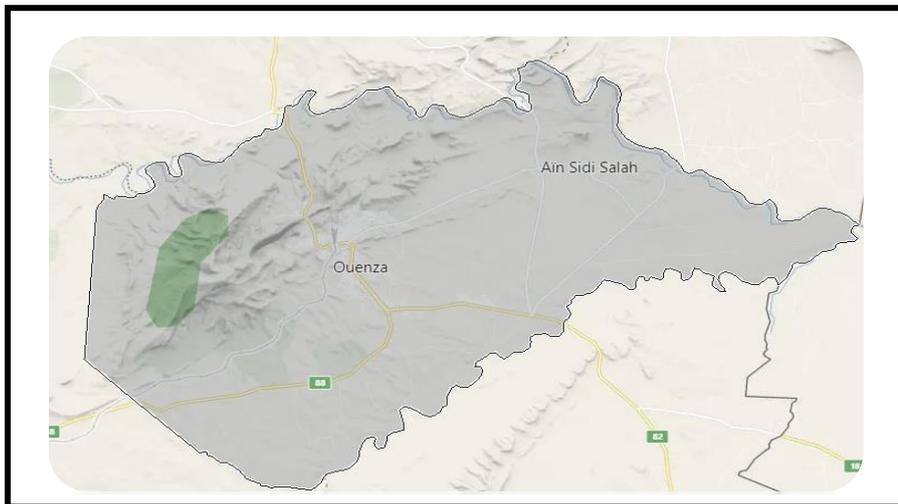


Fig.06. Localisation de la Daira de Ouenza wilaya de Tébessa. (Google maps)



Figure 07. Propolis naturelle collecté par un apiculteur région Ouenza Tébessa (**photo personnel**)



Figure.08. Aspect externe de l'abeille au niveau de la ruche source de la propolis (**photo personnel**)

B.2. Propolis commercialisée

Deux types de propolis commercialisée acheté à partir de des herboristes de la Wilaya de Tébessa sous forme lyophilisée conservé dans un flacon de couleur marron et de couleur jaune.



Fig.09. Propolis commercialisée sous forme de poudre marron (photo personnel, 2022)



Fig.10. Propolis commercialisée sous forme de poudre jaune. (Photo personnel, 2022)

B.3.Réactifs et autres substances

- ❖ Colorants de Gram (Violet de Gentiane, Lugol, Fuschine) ;
- ❖ Bleu de méthylène ;
- ❖ Ethanol 70% ;
- ❖ Eau physiologique stérile ;
- ❖ Huile à immersion.

B.4.Milieus de culture solide et liquide

- ✓ **Milieu Hektoen** : Milieu sélectif pour entérobactéries.
- ✓ **Milieu Chapman** : Milieu sélectif pour *Staphylococcus* sp.
- ✓ **Milieu Muller Hinton** : Milieu pour étude de la sensibilité des bactéries aux antibiotiques.
- ✓ **Milieu saboraud** : Milieu d'isolement pour les champignons.
- ✓ **Bouillon nutritif** : Milieu liquide sans agent de solidification.

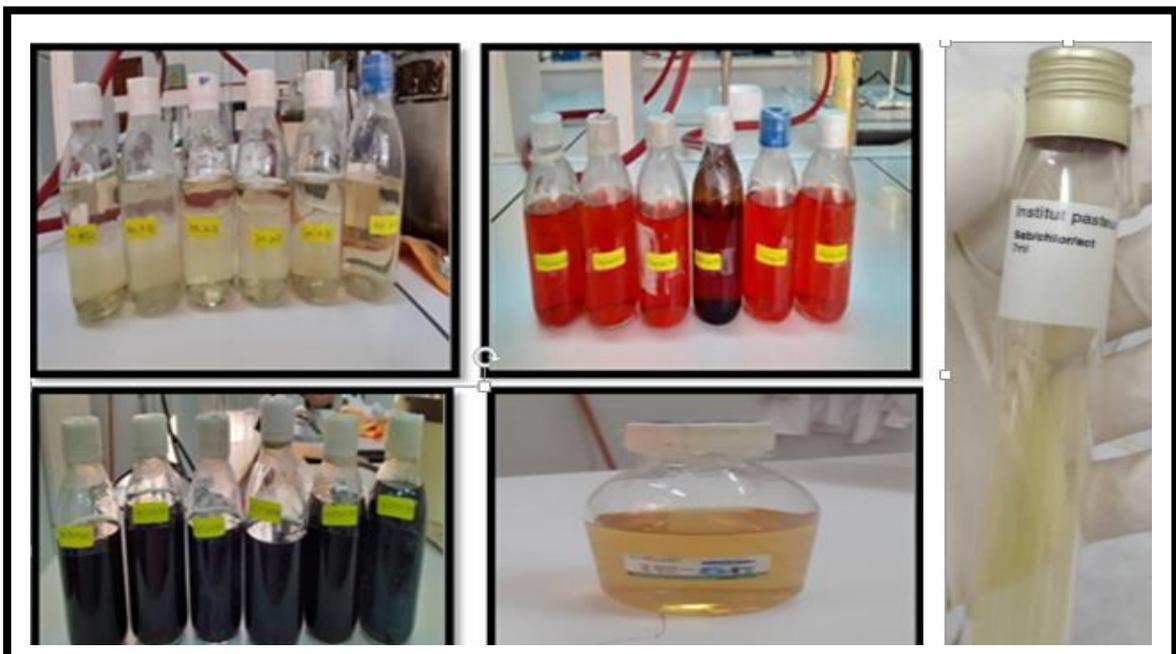


Fig.11. Milieus de cultures liquides et solide utilisées(**photo personnel, 2022**)

B.5. Appareillages

- ✓ **Evaporateur rotatif (Rota- vap) :** Le principe de cet appareil est basé sur la distillation simple sous vide, qui permet d'éliminer rapidement de grandes quantités de solvant, bien que partiellement. La solution est mise en rotation dans un ballon adapté pour éviter des bulles d'ébullition trop grosses ou mousseuses, pour augmenter la surface en contact avec l'air ainsi que pour éviter l'aspiration de la solution lors de la baisse de pression.

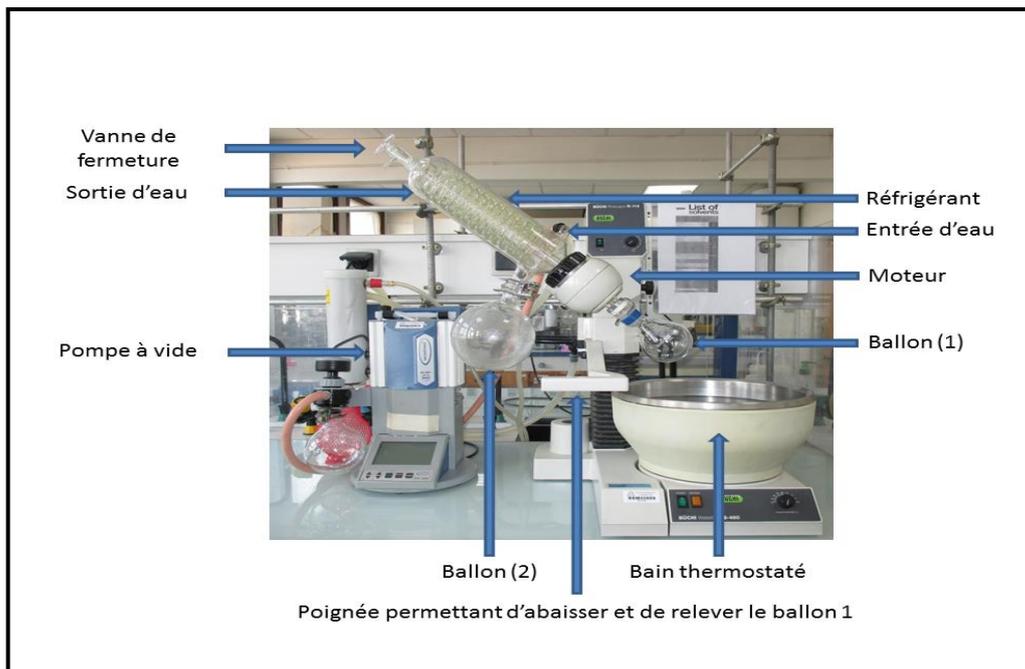


Fig.12. évaporateur rotatif annoté (photo personnel ,2022)

- ✓ **Etuve Bactériologique :** incubation des bactéries.
- ✓ **Réfrigérateur :** pour conserve les souches bactériennes et les extraits.
- ✓ **Balance :** pour la mesure des poids.
- ✓ **Agitateur magnétique :** utilise dans le cas de préparation des extraits.
- ✓ **Autoclave :** pour autoclave les milieux de culture, l'eau distillé.
- ✓ **Stérilisateur (four pasteur) :** pour stériliser les matériaux (en métallique ou en verre) généralement demi- heure à 100°.

B.6. Verrerie et petit consommable

- Ecouvillons bactériologique.
- Pipettes pasteurs.
- Boites de pétris plastique.
- Papier wattman.

II.3. METHODES

II.3.1. Modalités de recueil des données

Nous avons effectué notre travail grâce à des fiches de renseignement préalablement établies, comportant pour chaque malade les renseignements nécessaires pour notre étude :

- ❖ Sexe (femme ou masculin)
- ❖ Age
- ❖ Type de diabète et la durée de diabète.
- ❖ Gravité de l'Infection du pied diabétique superficielle diagnostiquée cliniquement
- ❖ Complications
- ❖ Antibiothérapie

II.3.2. Prélèvement des échantillons

Les Prélèvements ont été effectués à partir du pied diabétique infecté des malades hospitalisé au niveau de l'EPH Bekkaria Tébessa par écouvillonnage après un débridement local par l'eau physiologique.



Fig.13. Plateau technique pour nettoyage de la plaie. (Photo personnel)



Fig.14. Nettoyage de la plaie par l'eau physiologique (Photo personnel, 2022)

A. Technique de prélèvement

Frotter la lésion infectée par un écouvillon de coton avec un mouvement de zigzag combiné à une rotation. On utilise deux écouvillons pour chaque patient (1 pour confectionner un frottis pour examen microscopique et l'autre pour la mise en culture (écouvillon qui contient le bouillon nutritif). Les prélèvements microbiologiques sont ensuite immédiatement acheminés au laboratoire de microbiologie.



Fig.15. Technique d'écouvillonnage pour prélèvement du pied diabétique infecté (Photo personnel, 2022)

B. Phase d'analyse microbiologique au niveau de laboratoire

Les prélèvements sont acheminés au de laboratoire, dans les meilleurs délais une série d'analyses Bactériologique sont effectués

B.1. Examen direct après coloration

B.1.1. Préparation du frottis

La confection du frottis sur une lame neuve, en frottant l'écouvillon porteur de prélèvement, Pour réaliser un frottis mince. Ce dernier est fixé par passage rapide à travers la flamme du bec bunsen sans trop le chauffer.

B.1.2. Coloration au bleu de Méthylène

Coloration simple, Frottis fin est traité par un seul colorant basique pendant 2 à 3 Minutes puis rincé et sécher pour apprécier les bactéries, colorés en bleu sur fond blanc au microscope optique. Cette coloration permet de distinguer à la fois la morphologie et la disposition des bactéries et d'apprécier la qualité et la quantité de la réaction immunitaire cellulaire.

B.1.3. Coloration de Gram

La coloration de Gram permet de distinguer à la fois la morphologie des bactéries (cocci ou bacilles) et de les classer en deux groupes celui des Gram positifs et des Gram négatifs. Celles qui retiennent le violet de Gentiane après l'action de l'alcool sont des Gram positives, Celles qui sont décolorées et prennent la couleur d'un second colorant sont dites

Gram négatif (**annexe**).

B.2. Mise en culture

Consiste àensemencer des milieux de culture à partir des écouvillons qui ont servi au prélèvement. On dépose l'inoculum, on réalise des stries à l'aide d'une pipette Pasteur. Ces milieux ont été incubés à 37 °C pendant 24 à 48 heures.

C. Extraction de propolis

Les extraits de propolis ont été obtenus avec les différents solvants (méthanol, éthanol, acétone) par procédé d'extraction à évaporateur rotatif. Ces extraits ont été manipulés selon le protocole opératoire suivant, une masse de propolis (**10g**) a été écrasée dans un mortier ; après on ajoute (**40ml**) du solvant, incubés sous agitation thermique pendant 24 heures (**phase de macération**).L'élimination des différents solvants grâce à un évaporateur rotatif .Les Extraits récupérer, et remis en solution dans le Diméthylsulfoxyde (DMSO).



Fig.16. Pesé de propolis naturel (photo personnel ; 2022)

D. Etude de l'activité antibactérienne par la technique des puits

L'activité antibactérienne a été étudiée par la technique des puits. Des suspensions bactériennes ont été préparées et ajustées à une densité optique de 0,5 Mac Farland qui correspond à ce à un inoculum d'environ $1 \text{ à } 2 \times 10^8 \text{ UFC/MI}$. Plonger un écouvillon en coton stérile dans la suspension bactérienne et éliminer l'excès de liquide en tournant l'écouvillon sur les parois du tube, pour éviter une sur-inoculation des boîtes. Ecouvillonner sur la totalité

de la surface de la gélose Mueller-Hinton (MH) dans trois directions. Des puits de diamètre $6\mu\text{l}$ ont été créés pour recevoir les différents extraits à raison de trois puits par boîte. On dépose aseptiquement au centre de puits environ de $200\mu\text{l}$ par la micropipette gradué, Les boîtes ont été laissées pendant 15 min à température ambiante. Puis incubées à 37°C pendant 24h. Les zones d'inhibition ont été mesurées en millimètre au l'utilisation de pied à coulisse.



Fig.17. Incubation des boîtes de pétri à l'étuve pendant 24H (Photo personnel, 2022)



Résultats

III.1. Isolement et purification des différentes souches bactériennes à partir des prélèvements

Différentes souches bactériennes ont été isolées sur différents milieux de cultures utilisés sélectifs et enrichis (**Figure**).

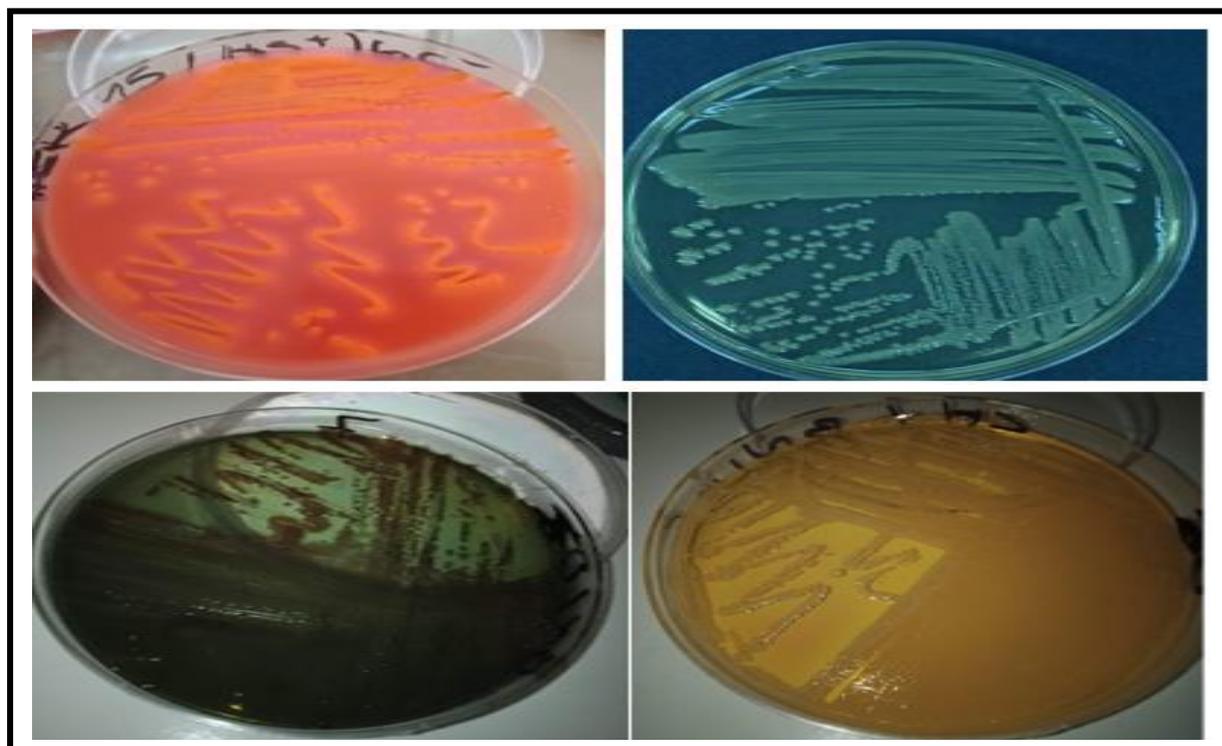


Fig.18. Différentes culture fraîches des isolats bactériens, (Photos personnel, 2022).

III.2. Fréquence de l'infection mixte et mono bactériennes chez les malades prélevés

Parmi les vingt-trois malade qui ont été prélevé trois malades (13%) uniquement ont développés une infection monobactérienne et 20 malades (87 %) ont exprimés une infection mixte : Deux Entérobactéries (**05 malades**) ; 01 *Staphylococcus* Sp et 01 Enterobacterie (**06 malades**), 02 Entérobactéries et 01 *Staphylococcus* Sp (**03 malades**) ; 3 à 4 Enterobacteries et un à deux *Staphylococcus* Sp (**04 malades**), le *Pseudomonas* sp a été associée toujours à une 01 Enterobacterie et à 01 *Staphylococcus* Sp (**03 malades**) .

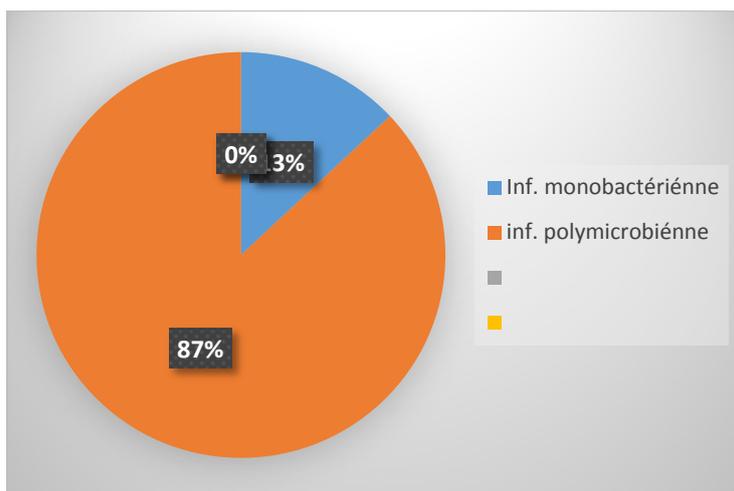


Fig.19.Fréquence de l'infection mixte et monobactérienne chez les malades prélevés

III.3. Extraction de propolis

L'extraction de trois types de propolis avec trois types de solvants (Méthanol ; Ethanol ; Acétone) a permis l'obtention après évaporation rotatif des extraits avec des différents rendements.



Fig.20. Aspect de L'extrait de propolis après l'extraction et l'ajout de DMSO (photo personnel, 2022)

III.4. Rendement de l'extraction de la propolis avec les différents solvants

Le rendement désigne la masse de l'extrait déterminé après évaporation de solvant ; il est exprimé en pourcentage (%) par rapport à la masse initiale de la plante soumise à l'extraction.

Le rendement d'extraction est calculé par la formule suivante :

$$R(\%)=M/M_0*100$$

- ✓ **R(%)** : Rendement exprimé en %
- ✓ **M** : Masse en gramme de l'extrait sec résultant
- ✓ **M0** : Masse en gramme du matériel végétal à traiter
- ✚ **Rendement de l'extraction de propolis naturel (Extraction Ethanolique)**

$$R = \frac{124.01}{160.49} \times 100$$

R = 77%

- ✚ **Rendement de l'extraction de propolis naturel (Extraction Methanolique)**

$$R = \frac{115.61}{160.49} \times 100$$

R = 72 %

- ✚ **Rendement de l'extraction de propolis naturel (Extraction Acetonique)**

$$R = \frac{114.16}{160.49} \times 100$$

R = 0.71 %

- ✚ **Rendement de l'extraction de propolis (poudre marron commercialisé)**
(Extraction Ethanolique)

$$R = \frac{101.61}{163.25} \times 100$$

R = 62 %

- ✚ **Rendement de l'extraction de propolis (poudre marron commercialisé)**
(Extraction Methanolique)

$$R = \frac{101.61}{163.25} \times 100$$

R = 61 %

- ✚ Rendement de l'extraction de propolis (poudre marron commercialisé)
(Extraction Acetonique)

$$R = \frac{98.77}{163.25} \times 100$$

R = 60 %

- ✚ Rendement de l'extraction de propolis (poudre jaune commercialisé) (Extraction
Ethanolique)

$$R = \frac{85.77}{160.71} \times 100$$

R = 53 %

- ✚ Rendement de l'extraction de propolis (poudre jaune commercialisé) (Extraction
Methanolique)

$$R = \frac{80.77}{160.71} \times 100$$

R = 50 %

- ✚ Rendement de l'extraction de propolis (poudre marron commercialisé)
(Extraction Methanolique)

$$R = \frac{77.27}{160.71} \times 100$$

R = 48%

III.5. Différents Catégories de l'activité antibactérienne observée avec trois types d'extrait de propolis (Ethanolique ; Methanolique ; Acetonique)

L'évaluation de l'activité antibactérienne de différents extraits de propolis a permis de révéler une activité antibactérienne antiStaphylococcique avec les deux propolis naturelle et (Poudre marron) commercialisé et une absence d'activité vis-à-vis des Enterobacteries et de *Pseudomonas* Sp. Par contre la propolis (Poudre jaune) n'a montré aucune activité vis-à-vis des toutes les souches bactériennes testés..

III.5.1. Différents Catégories de l'activité antibactérienne observée avec trois types d'extrait de propolis naturelle

L'évaluation de l'activité antibactérienne de différents extraits de propolis a permis de révéler une activité antibactérienne antiStaphylococcique et presque comparable avec des diamètres généralement ($> 15 - \leq 20\text{mm}$) et qui peuvent atteindre des diamètres ($\geq 20\text{mm}$) avec quelques souches testés de *Staphylococcus* SP (Tableau 03/04/05) (Figure 21).

Tableau 03. Catégorie de l'activité antibactérienne observée avec l'extrait Ethanolique de propolis naturelle vis-à-vis de différentes souches bactériennes testés.

Catégorie (mm)	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Pseudomonas</i>	<i>Enterobactéries</i>
$\leq 06 \text{ mm}$	00 / 06	02 / 02	03 / 03
$> 06 - \leq 10 \text{ mm}$	00 / 06	00 / 02	00 / 03
$> 10 - \leq 15 \text{ mm}$	00 / 06	00 / 02	00 / 03
$> 15 - \leq 20\text{mm}$	05 / 06	00 / 02	00 / 03
$\geq 20\text{mm}$	01 / 06	00 / 02	00 / 03

Tableau 04. Catégorie de l'activité antibactérienne observée avec l'extrait Methanolique de propolis naturelle vis-à-vis de différentes souches bactériennes testés.

Catégorie (mm)	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Pseudomonas</i>	<i>Enterobactéries</i>
$\leq 06 \text{ mm}$	00 / 06	02 / 02	03 / 03
$\geq 06 - \leq 10 \text{ mm}$	00 / 06	00 / 02	00 / 03
$\geq 10 - \leq 15 \text{ mm}$	00 / 06	00 / 02	00 / 03
$> 15 - \leq 20\text{mm}$	05 / 06	00 / 02	00 / 03
$\geq 20\text{mm}$	01 / 06	00 / 02	00 / 03

Tableau 05. Catégorie de l'activité antibactérienne observée avec l'extrait Acetonique de propolis naturelle vis-à-vis de différentes souches bactériennes testés

Catégorie (mm)	<i>Staphylococcus Sp</i>	<i>PseudomonasSp</i>	<i>Enterobactéries</i>
≤ 06 mm	00 / 06	02 / 02	03 / 03
≥ 06 - ≤10 mm	00 / 06	00 / 02	00 / 03
≥ 10 - ≤15 mm	01 / 06	00 / 02	00 / 03
> 15 - ≤20mm	03 / 06	00 / 02	00 / 03
≥20mm	02 / 06	00 / 02	00 / 03

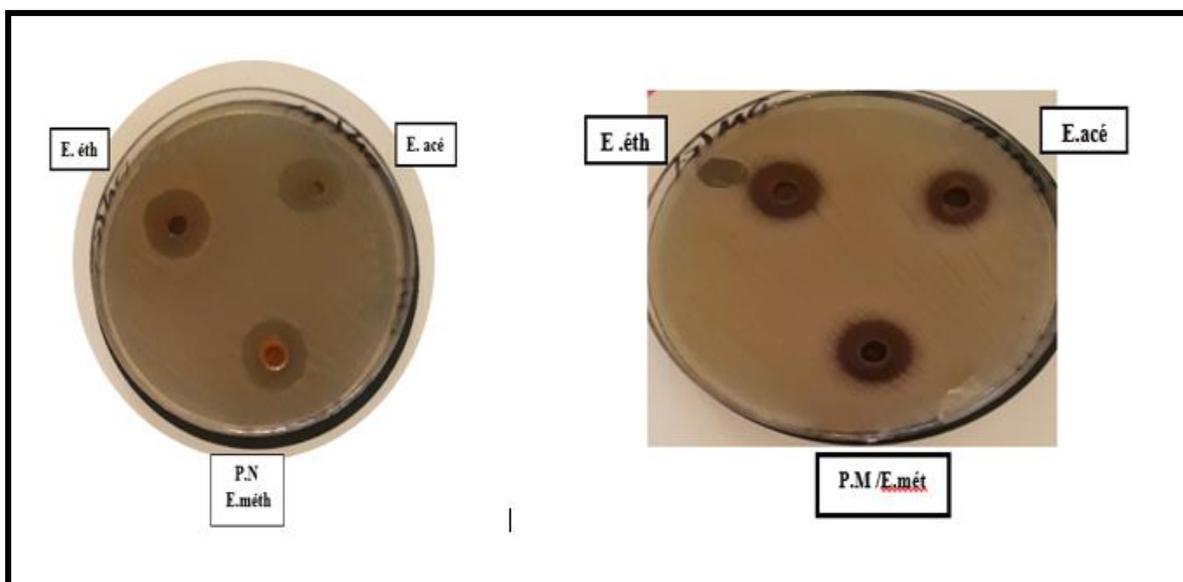


Fig.21. l'activité antibactérienne de la propolis naturelle et propolis commercialisé en poudre marron sur *S.aureus* (photo personnel, 2022)

III.5.2. Différents Catégories de l'activité antibactérienne observée avec trois types d'extrait de la propolis poudre marron commercialisée

Les trois extraits ont montrés une activité contre *Staphylococcus SP* avec des diamètres compris entre ($\geq 10 - \leq 15$ mm) pour presque la totalité des souches de *Staphylococcus SP* testés (5/6) souches .une activité qui reste inferieure relativement à celle de différents extraits de la propolis naturelle collecté de notre région Tébessa (**Tableau 06/07/08**)(figure 22).

Tableau 06. Catégorie de l'activité antibactérienne observée avec l'extrait Ethanolique de la propolis poudre marron vis-à-vis de différentes souches bactériennes testés.

Catégorie (mm)	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Pseudomonas</i>	<i>Enterobactéries</i>
≤ 06 mm	00 / 06	02 / 02	03 / 03
≥ 06 - ≤10 mm	00 / 06	00 / 02	00 / 03
≥ 10 - ≤15 mm	05 / 06	00 / 02	00 / 03
> 15 - ≤20mm	01 / 06	00 / 02	00 / 03
≥20mm	00 / 06	00 / 02	00 / 03

Tableau 07. Catégorie de l'activité antibactérienne observée avec l'extrait Methanolique de propolis en poudre marron vis-à-vis de différentes souches bactériennes testés.

Catégorie (mm)	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Pseudomonas</i>	<i>Enterobactéries</i>
≤ 06 mm	00 / 06	02 / 02	03 / 03
≥ 06 - ≤10 mm	00 / 06	00 / 02	00 / 03
≥ 10 - ≤15 mm	05 / 06	00 / 02	00 / 03
> 15 - ≤20mm	01 / 06	00 / 02	00 / 03
≥20mm	00 / 06	00 / 02	00 / 03

Tableau 08. Catégorie de l'activité antibactérienne observée avec l'extrait Acetonique de propolis en poudre marron vis-à-vis de différentes souches bactériennes testés.

Catégorie (mm)	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Pseudomonas</i>	<i>Enterobactéries</i>
≤ 06 mm	00 / 06	02 / 02	03 / 03
≥ 06 - ≤10 mm	00 / 06	00 / 02	00 / 03
≥ 10 - ≤15 mm	06 / 06	00 / 02	00 / 03
> 15 - ≤20mm	00 / 06	00 / 02	00 / 03
≥20mm	00 / 06	00 / 02	00 / 03

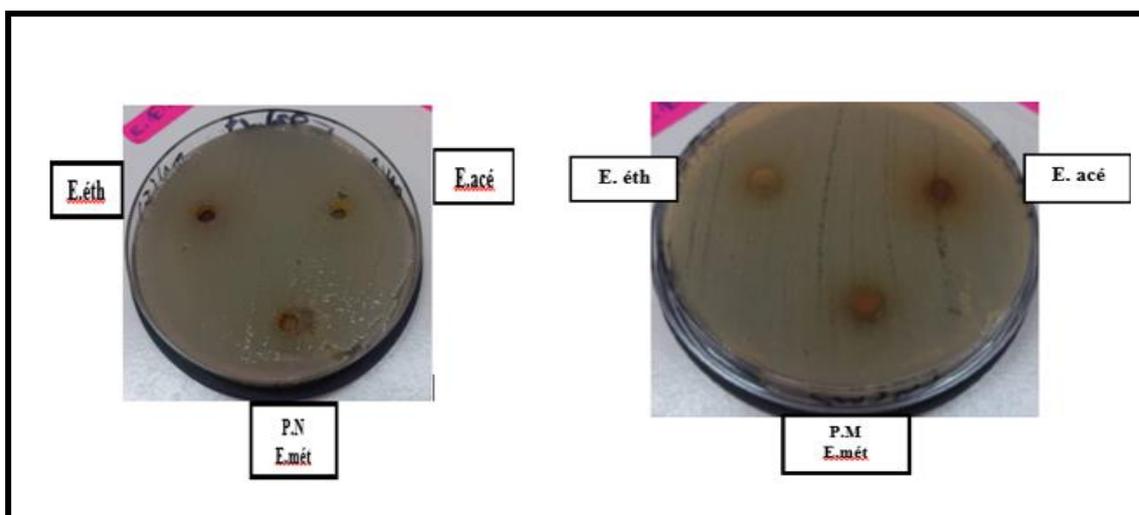


Fig.22. activité antibactérienne de la propolis naturelle et propolis commercialisé en poudre marron sur *les entérobactéries* (photo personnel, 2022).

III.5.3. Différents Catégories de l'activité antibactérienne observée avec trois types d'extrait de la propolis poudre Jaune commercialisée

Contrairement aux différents extraits de la propolis naturelle et commercialisé marron. Les différents extrait de la propolis poudre Jaune n'ont pas montré une activité vis à vis des différentes souches bactériennes (**Tableau09/10/11**) (**Figure 23**).

Tableau 09. Catégorie de l'activité antibactérienne observée avec l'extrait Ethanolique de propolis en poudre jaune vis-à-vis de différentes souches bactériennes testés

Catégorie (mm)	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Pseudomonas</i>	<i>Enterobactéries</i>
≤ 06 mm	06 / 06	02 / 02	03 / 03
≥ 06 - ≤10 mm	00 / 06	00 / 02	00 / 03
≥ 10 - ≤15 mm	00 / 06	00 / 02	00 / 03
> 15 - ≤20mm	00 / 06	00 / 02	00 / 03
≥20mm	00 / 06	00 / 02	00 / 03

Tableau 10. Catégorie de l'activité antibactérienne observée avec l'extrait Methanolique de propolis en poudre jaune vis-à-vis de différentes souches bactériennes testés

Catégorie (mm)	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Pseudomonas</i>	<i>Enterobactéries</i>
≤ 06 mm	06 / 06	02 / 02	03 / 03
≥ 06 - ≤10 mm	00 / 06	00 / 02	00 / 03
≥ 10 - ≤15 mm	00 / 06	00 / 02	00 / 03
> 15 - ≤20mm	00 / 06	00 / 02	00 / 03
≥20mm	00 / 06	00 / 02	00 / 03

Tableau 11. Catégorie de l'activité antibactérienne observée avec l'extrait Methanolique de propolis en poudre jaune vis-à-vis de différentes souches bactériennes testés

Catégorie (mm)	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Pseudomonas</i>	<i>Entérobactéries</i>
≤ 06 mm	06 / 06	02 / 02	03 / 03
≥ 06 - ≤10 mm	00 / 06	00 / 02	00 / 03
≥ 10 - ≤15 mm	00 / 06	00 / 02	00 / 03
> 15 - ≤20mm	00 / 06	00 / 02	00 / 03
≥20mm	00 / 06	00 / 02	00 / 03

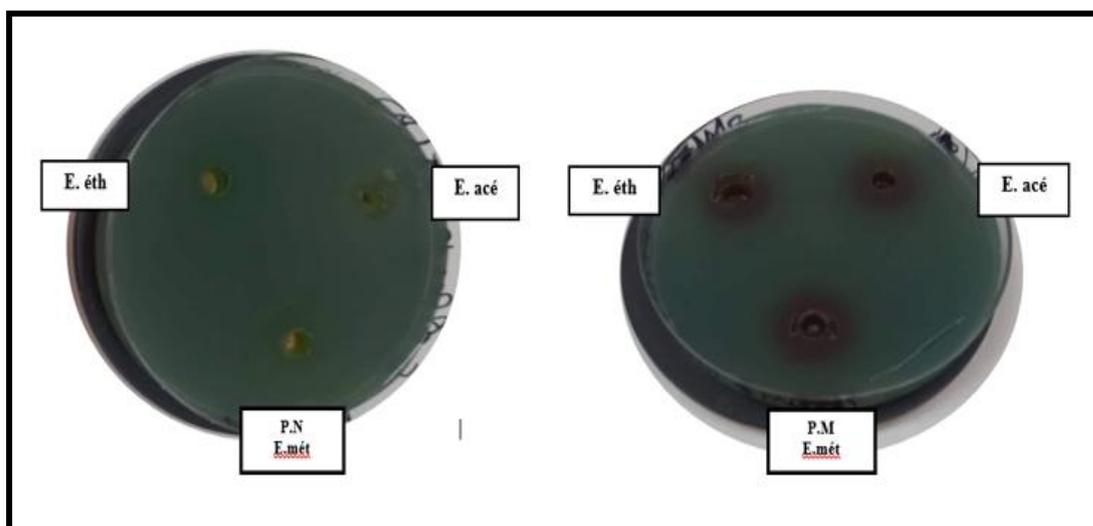
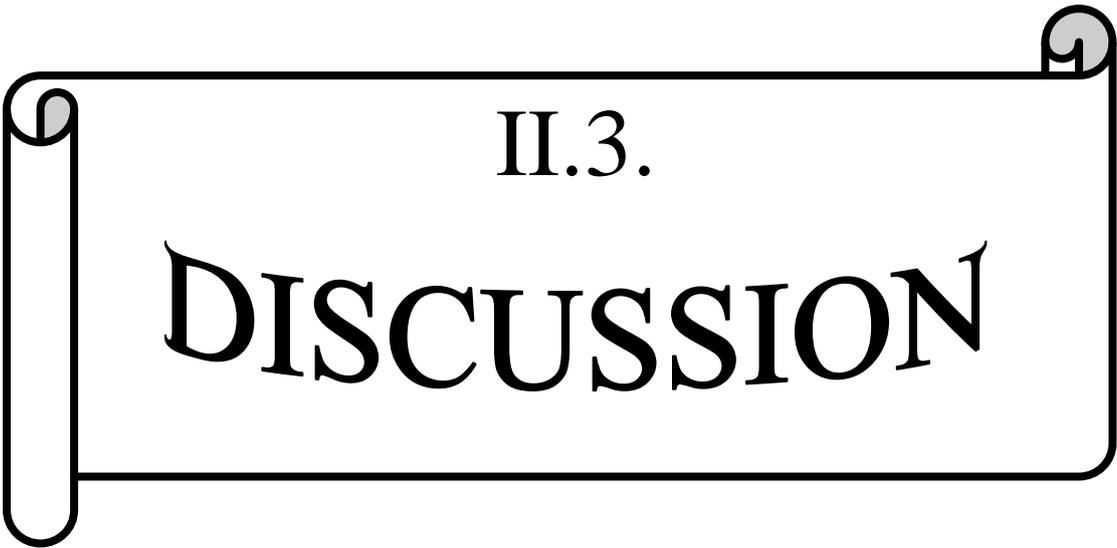


Fig.23. l'activité antibactérienne de la propolis naturelle et propolis commercialisé en poudre marron sur *les Pseudomonas* (photo personnel, 2022).



II.3.

DISCUSSION

II.3. Discussion

L'activité biologique et la composition chimique de la propolis sont étroitement liées à la race des abeilles, au sol, au climat, aux types de végétation, au mécanisme de piégeage et à l'altitude. Le criblage phytochimique de la propolis analysée dans la zone d'étude a révélé la présence de saponines, tanins, flavonoïdes, stéroïdes, triterpènes et glycosides. La présence ou l'absence de ces classes de composés a été considérée comme une bonne indication de la qualité de l'échantillon (**Sawaya et al., 2011**). Cependant, l'étude menée en Éthiopie a révélé que la propolis collectée à Holeta manque de flavonoïdes (**Sime, 2007**). D'autre part, les principaux composants de la propolis en Zambie, Tanzanie, Hongrie, Iran, Brésil et Jordanie ont des terpénoïdes, des flavonoïdes et de l'acide phénolique (**Alenezi et al., 2020 ; Bouchelaghem et al., 2022 ; de Carvalho et al., 2020 ; Asgharpour et al., 2020 ; Naik et al., 2021**). La variabilité des constituants de la propolis repose principalement sur les types de fleurs, les conditions environnementales, l'emplacement géographique et la race d'abeille ajoutée à d'autres matériaux pendant la production, ce qui donne lieu à différents composés.

une étude de la Chine et du Canada a révélé que les extraits de propolis ont montré une activité antimicrobienne élevée contre *Staphylococcus aureus* mais aucun effet sur *E. coli* (**Ding et al., 2021 ; Rahman et al., 2010**). Au Brésil, les extraits de propolis par les méthodes éthanolique et supercritique ont les plus hauts niveaux d'activité antimicrobienne contre plusieurs bactéries (**Dantas Silva et al., 2017**).

Au Vietnam, l'extrait brut de propolis présente une activité significative observée contre *S. aureus* et inhibe les *E. coli* à des concentrations plus faibles (**Georgieva et al., 2019**) Cela est dû aux flavones et flavonols extraits de la propolis (**Jug et al., 2017**) et à des quantités significatives d'esters terphényliques et d'acide hydroxybenzoïque affichant une activité contre les bactéries et les champignons (**Popova et al., 2011**).

Notre étude a permis à évaluer l'activité antibactérienne des trois extraits bioactives (Methanolique, Ethanolique et Acetonique) de différents type d'extraits de propolis (naturel et commercialisé en poudre marron) in vitro vis à vis des souches cliniques isolée à partir des infections du pied diabétique des hommes et des femmes. Les résultats obtenus montrent une inhibition du deux extraits naturel et commercialisé en poudre marron avec les 06 souches testé Gramme positifs et négatifs (Entérobactéries ; *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas*). des diamètres d'inhibition ≤ 06 mm avec les entérobactéries et les *pseudomonas*, des diamètre d'inhibition qui dépasse 15mm jusqu'à 22 mm avec les *Staphylococcus aureus*, qui

sont des diamètres remarquables avec les trois extraits (Ethanolique ; Methanolique ; Acetonique). Les résultats indiquent que *Staphylococcus aureus* est très sensible vis-à-vis des différents extraits de propolis (naturel et commercialisé).

Le rendement obtenu pour les différents extraits résulte que le rendement de l'extrait Ethanolique est élevé que les autres extraits avec un pourcentage de 77%, Methanolique 72 % et l'Acetonique 60 % avec propolis naturel. On constate le rendement d'extrait de propolis commercialisé est varié entre 62 % pour l'extrait éthanolique ; 61 % d'extrait Methanolique et 60 % pour l'extrait Acetonique.

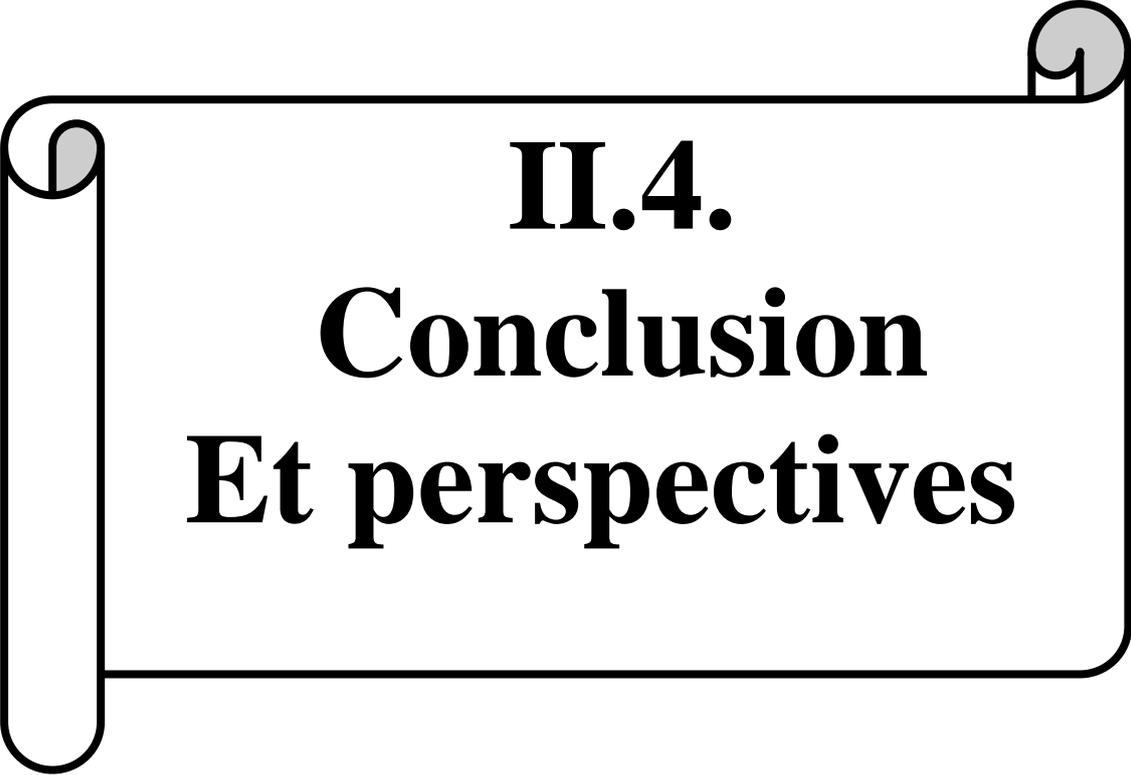
La propolis a été extraite à 70% d'éthanol. La concentration de l'extrait s'est avérée être de $4,56 \pm 0,8$ g. L'éthanol a été utilisé comme solvant pour l'extraction de la propolis parce qu'un grand nombre de composés peuvent être extraits à l'aide de ce solvant et qu'un rendement plus élevé en propolis a été obtenu dans des études antérieures en utilisant de l'éthanol. De plus, un pourcentage plus élevé d'activité antibactérienne a été obtenu en utilisant l'extraction éthanolique par rapport à d'autres solvants (**Da Silva et coll., 2006; Baltrušaityte et al., 2007**).

Ceci peut s'expliquer simplement par le fait que certains facteurs peuvent influencer la variation du rendement de l'extraction que ce soit la variabilité des constituants de la propolis, types de fleurs, les conditions environnementales, l'emplacement géographique et la race d'abeille ajoutée à d'autres matériaux pendant la production.

Cela peut être dû aux différences dans la composition chimique de la propolis qui est influencée par différentes régions et zones de température d'où la propolis est collectée (**Alencar et al., 2007**). Cela peut être dû aux différences dans la composition chimique de la propolis qui est influencée par différentes régions et zones de température d'où la propolis est collectée (**Alencar et al., 2007**). Ces différences peuvent également être dues à la nature saisonnière et à la nature saisonnière comme discuté dans une étude précédente par (**Bankova et al., 1998**). Un autre facteur important est que les constituants chimiques de la propolis augmentent la perméabilité de la membrane bactérienne et inhibent également la mobilité et la croissance des bactéries (Mirzoeva et al., 1997).

les deux bactéries différentes par rapport à diverses concentrations d'extrait de propolis, Cela peut être dû aux différences dans la composition chimique de la propolis qui est influencée par différentes régions et zones de température d'où la propolis est collectée (**Alencar et al.,**

2007). Ces différences peuvent également être dues à la nature saisonnière et à la nature saisonnière comme discuté dans une étude précédente par **(Bankova et al., 1998)**. Un autre facteur important est que les constituants chimiques de la propolis augmentent la perméabilité de la membrane bactérienne et inhibent également la mobilité et la croissance des bactéries **(Mirzoeva et al., 1997)**. Parmi les quatre micro-organismes testés, *Staphylococcus aureus* a montré une plus grande sensibilité à l'extrait de nanoparticules de propolis par rapport aux autres bactéries et champignons. La différence structurelle dans la paroi cellulaire des bactéries entraîne une plus grande sensibilité des bactéries Gram positives **(Popova et al., 2007)**. Outre ces facteurs, les méthodes d'extraction, l'effet osmotique et l'origine de la matrice sont également responsables des différences de zone d'inhibition. des différences dans la zone d'inhibition **(Machado et al., 2016)**.



II.4.
Conclusion
Et perspectives

II.4. Conclusion et perspectives

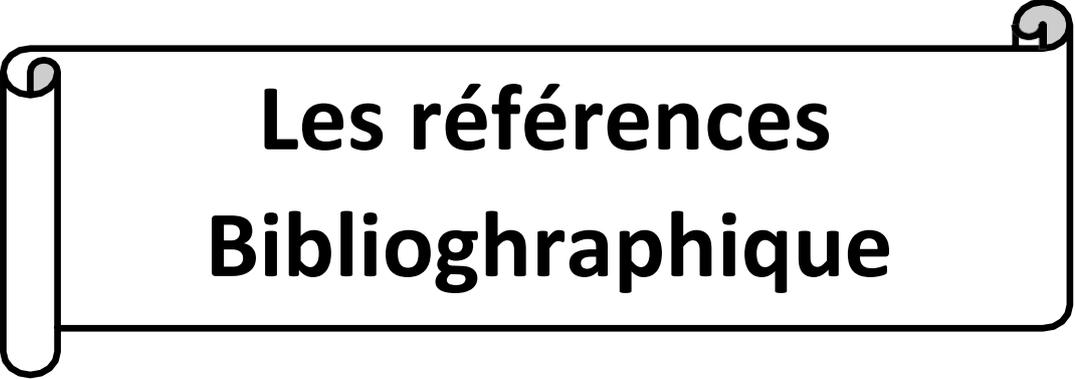
Le diabète sucré, également connu sous le nom de diabète, est un trouble métabolique complexe caractérisé par une hyperglycémie qui se manifeste de manière chronique. Une complication majeure du diabète sucré est l'ulcération du pied (DFU), facilitant l'invasion et la multiplication des micro-organismes. Cela entraîne des infections du pied diabétique (DFI), qui peut être défini comme une infection, impliquant soit des tissus mous, soit les os. Au fil des Années, avec une fréquence croissante d'agents pathogènes résistants aux antibiotiques, et un aspect polymicrobien des IFD, des stratégies alternatives ont été proposées, seuls ou en association avec les antibiotiques pour résoudre le problème d'échec thérapeutique observés avec les molécules conventionnelles.

Notre étude réalisée sur l'infection de pied diabétique dans notre région (Wilaya de Tébessa) à :

- ❖ confirmé le caractère polymicrobien de cette infection redoutable
- ❖ le *Staphylococcus* Sp et les Enterobacteries occupent une place importante dans cette pathologie suivie des *Pseudomonas* Sp
- ❖ Notre source naturelle collectée de notre région Wilaya de Tébessa a prouvé son efficacité vis-à-vis de l'infection Staphylococcique de cette pathologie infectieuse par rapport à celles commercialisées

On perspective, il serait intéressant de :

- ❖ Approfondir cette étude d'évaluation de l'activité antibactérienne par d'autre technique d'études de la sensibilité à cette substance naturelle.
- ❖ Caractériser notre extrait sur le plan chimique par différentes techniques



**Les références
Bibliographique**

Référence bibliographique

A

- Aguilar-Bryan, L., & Bryan, J.** (2008). Neonatal diabetes mellitus. *Endocrine reviews*, 29(3), 265-291.
- Ahangari, Z., Naseri, M., & Vatandoost, F.** (2018). Propolis: chemical composition and its applications in endodontics. *Iranian endodontic journal*, 13(3), 285.
- Airen, B., Sarkar, P. A., Tomar, U., & Bishen, K. A.** (2018). Effet antibactérien de la propolis dérivée de la région tribale sur *Streptococcus mutans* et *Lactobacillus acidophilus*: une étude in vitro. *Journal of Indian Society of Pedodontics and Preventive Dentistry*, 36(1), 48.
- Alencar, S. M. D., Oldoni, T. L. C., Castro, M. L., Cabral, I. S. R., Costa-Neto, C. M., Cury, J. A., ... & Ikegaki, M.** (2007). Chemical composition and biological activity of a new type of Brazilian propolis: red propolis. *Journal of ethnopharmacology*, 113(2), 278-283.
- Alenezi, S. S., Natto, M. J., Igoli, J. O., Gray, A. I., Fearnley, J., Fearnley, H., ... & Watson, D. G.** (2020). Novel flavanones with anti-trypanosomal activity isolated from Zambian and Tanzanian propolis samples. *International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance*, 14, 201-207.
- Alotaibi, A., Ebiloma, G. U., Williams, R., Alenezi, S., Donachie, A. M., Guillaume, S., ... & Watson, D. G.** (2019). European propolis is highly active against trypanosomatids including *Crithidia fasciculata*. *Scientific reports*, 9(1), 1-10.
- Al-Waili, N., Al-Ghamdi, A., Ansari, M. J., Al-Attal, Y., & Salom, K.** (2012). Synergistic effects of honey and propolis toward drug multi-resistant, and isolates in single and polymicrobial cultures. *Int J Med Sci*, 9, 793-800.
- American Diabetes Association.** (2020). 2. Classification and diagnosis of diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes—2020. *Diabetes care*, 43(Supplement_1), S14-S31..
- American Diabetes Association.** Introduction : Standards of medical care in diabetes 2018. *Diabetes Care* 2018 ; 41 :S1-2.
- American Diabetes Association.** Microvascular complications and foot Care, D. (2018). *Medical Care in Diabetes 2018*. *Diabetes Care*, 41(1), S105-S118.
- Aryaei, R., & Pakzad, P.** (2018). Evaluation of the antibacterial activity of iranian propolis on the strains of *pseudomonas aeruginosa* and *staphylococcus aureus*. *Amazonia Investiga*, 7(14), 5-10.
- Asgharpour, F., Moghadamnia, A.A., Kazemi, S., Nouri, H.R., Motallebnejad, M.,** 2020. Applying GC-MS analysis to identify chemical composition of Iranian propolis prepared with different solvent and evaluation of its biological activity. *Caspian J. Intern. Med.* 11, 191–198.

Association américaine du diabète. (2014). Diagnostic et classification du diabète sucré. Soins du diabète, 37(Supplement_1), S81-S90.

Association américaine du diabète. (2017). 10. Complications microvasculaires et soins des pieds. Soins du diabète, 40(Supplement_1), S88-S98.

B

Baltrušaitytė, V., Venskutonis, P. R., & Čeksterylė, V. (2007). Antibacterial Activity of Honey and Beebread of Different Origin Against *S. aureus* and *S. epidermidis*. *Food Technology & Biotechnology*, 45(2).

Banday, M. Z., Sameer, A. S., & Nissar, S. (2020). Pathophysiology of diabetes : An overview. *Avicenna Journal of Medicine*, 10(04), 174-188.

Bankova, V., Boudourova-Krasteva, G., Popov, S., Sforcin, J. M., & Funari, S. R. C. (1998). Seasonal variations of the chemical composition of Brazilian propolis. *Apidologie*, 29(4), 361-367.

Becerra, T. B., Calla-Poma, R. D., Requena-Mendizabal, M. F., & Millones-Gómez, P. A. (2019). Antibacterial Effect of Peruvian Propolis Collected During Different Seasons on the Growth of. *The Open Dentistry Journal*, 13(1).

Bezerra, A. M. F., Albuquerque, F. G. F., Casimiro, G. S., Nunes, E. M., Wilma, K. Ã., de Almeida, P. B., ... & da Silva, R. A. (2015). Red propolis antifungal action on species of *Candida* of the oral cavity. *International Archives of Medicine*, 8.

Bosio, K., Avanzini, C., D'avolio, A., Ozino, O., & Savoia, D. (2000). In vitro activity of propolis against *Streptococcus pyogenes*. *Letters in applied microbiology*, 31(2), 174-177.

Bouchelaghem, S., Das, S., Naorem, R. S., Czuni, L., Papp, G., & Kocsis, M. (2022). Evaluation of total phenolic and flavonoid contents, antibacterial and antibiofilm activities of Hungarian Propolis ethanolic extract against *Staphylococcus aureus*. *Molecules*, 27(2), 574.

Brandt, K., Christensen, L. P., Hansen-Møller, J., Hansen, S. L., Haraldsdottir, J., Jespersen, L., ... & Kobæk-Larsen, M. (2004). Health promoting compounds in vegetables and fruits: A systematic approach for identifying plant components with impact on human health. *Trends in Food Science & Technology*, 15(7-8), 384-393.

Bucio-Villalobos, C. M., & Martínez-Jaime, O. A. (2017). Actividad antibacteriana de un extracto acuoso de propóleo del municipio de Irapuato, Guanajuato, México. *Agronomía Mesoamericana*, 28(1), 223-227.

Bucio-Villalobos, C. M., & Martínez-Jaime, O. A. (2017). Actividad antibacteriana de un extracto acuoso de propóleo del municipio de Irapuato, Guanajuato, México. *Agronomía Mesoamericana*, 28(1), 223-227.

C

Charles, P. G., Uçkay, I., Kressmann, B., Emonet, S., & Lipsky, B. A. (2015). The role of anaerobes in diabetic foot infections. *Anaerobe*, 34, 8-13.

Choudhury, H., Pandey, M., Hua, C. K., Mun, C. S., Jing, J. K., Kong, L., ... Kesharwani, P. (2018). An update on natural compounds in the remedy of diabetes mellitus: A systematic review. *Journal of traditional and complementary medicine*, 8(3), 361-376.

D

Da Silva, J. F. M., de Souza, M. C., Matta, S. R., de Andrade, M. R., & Vidal, F. V. N. (2006). Analyse de corrélation entre les niveaux phénoliques d'extraits de propolis brésilienne et leurs activités antimicrobiennes et antioxydantes. *Food Chemistry*, 99(3), 431-435.

Dantas Silva, R. P., Machado, B. A. S., Barreto, G. D. A., Costa, S. S., Andrade, L. N., Amaral, R. G., ... & Umsza-Guez, M. A. (2017). Antioxidant, antimicrobial, antiparasitic, and cytotoxic properties of various Brazilian propolis extracts. *Plos one*, 12(3), e0172585.

Dantas Silva, R. P., Machado, B. A. S., Barreto, G. D. A., Costa, S. S., Andrade, L. N., Amaral, R. G., ... & Umsza-Guez, M. A. (2017). Antioxidant, antimicrobial, antiparasitic, and cytotoxic properties of various Brazilian propolis extracts. *Plos one*, 12(3), e0172585.

De Carvalho, F.M.A., Schneider, J.K., De Jesus, C.V.F., De Andrade, L.N., Amaral, R.G., David, J.M., Krause, L.C., Severino, P., Soares, C.M.F., Bastos, E.C., Padilha, F.F., Gomes, S.V.F., Capasso, R., Santini, A., Souto, E.B., De Albuquerque-Ju´nior, R.L.C., 2020. Brazilian Red Propolis: Extracts Production, Physicochemical Characterization, and Cytotoxicity Profile for Antitumor Activity. *Biomolecules* 10.

DeFronzo, R. A. (2018). Pathogenesis of type 2 diabetes mellitus.

Diamanti-Kandarakis, E., & Dunaif, A. (2012). Insulin resistance and the polycystic ovary syndrome revisited: an update on mechanisms and implications. *Endocrine reviews*, 33(6), 981-1030.

Ding, Q., Sheikh, A. R., Gu, X., Li, J., Xia, K., Sun, N., ... & Ma, H. (2021). Chinese Propolis: Ultrasound-assisted enhanced ethanolic extraction, volatile components analysis, antioxidant and antibacterial activity comparison. *Food Science & Nutrition*, 9(1), 313-330.

F

Frayling, T. M. (2007). Genome-wide association studies provide new insights into type 2 diabetes aetiology. *Nature Reviews Genetics*, 8(9), 657-662.

G

Gardner, D. S., & Tai, E. S. (2012). Caractéristiques cliniques et traitement du diabète de maturité des jeunes (MODY). *Diabète, syndrome métabolique et obésité : cibles et thérapie*, 5, 101.

Garwood, C. S., & Steinberg, J. S. (2016). What's new in wound treatment: a critical appraisal. *Diabetes/metabolism research and reviews*, 32, 268-274.

Gavanji, S., & Larki, B. (2017). Comparative effect of propolis of honey bee and some herbal extracts on *Candida albicans*. *Chinese journal of integrative medicine*, 23(3), 201-207.

Ge Y, MacDonald D, Hait H, Lipsky B, Zasloff M, Holroyd K. (2002). Microbiological profile of infected diabetic foot ulcers. *Diabetic Medicine*, 19(12), 1032-1034.

Georgieva, K., Popova, M., Dimitrova, L., Trusheva, B., Thanh, L. N., Phuong, D. T. L., ... & Bankova, V. (2019). Phytochemical analysis of Vietnamese propolis produced by the stingless bee *Lisotrigona cacciae*. *PloS one*, 14(4), e0216074.

Gonsales, G. Z., Orsi, R. O., Fernandes Júnior, A., Rodrigues, P., & Funari, S. R. C. (2006). Antibacterial activity of propolis collected in different regions of Brazil. *Journal of Venomous Animals and Toxins Including Tropical Diseases*, 12(2), 276-284.

Grigoropoulou, P., Eleftheriadou, I., Jude, E. B., & Tentolouris, N. (2017). Diabetic foot infections: an update in diagnosis and management. *Current diabetes reports*, 17(1), 1-12.

H

Hartemann-Heurtier, A., Robert, J., Jacqueminet, S., Ha Van, G., Golmard, J. L., Jarlier, V., & Grimaldi, A. (2004). Diabetic foot ulcer and multidrug-resistant organisms: risk factors and impact. *Diabetic Medicine*, 21(7), 710-715.

Hatipoglu, M., Mutluoglu, M., Uzun, G., Karabacak, E., Turhan, V., & Lipsky, B. A. (2014). Le profil microbiologique des infections du pied diabétique en Turquie: une revue systématique de 20 ans. *European journal of clinical microbiology & infectious diseases*, 33(6), 871-878

Hattersley, A. T., Greeley, S. A., Polak, M., Rubio-Cabezas, O., Njølstad, P. R., Mlynarski, W., ... & Craig, M. E. (2018). ISPAD Clinical Practice Consensus Guidelines 2018: The diagnosis and management of monogenic diabetes in children and adolescents.

Hernández Tasco, A. J., Ramírez Rueda, R. Y., Alvarez, C. J., Sartori, F. T., Sacilotto, A.C. B., Ito, I. Y., ... & Salvador, M. J. (2020). Antibacterial and antifungal properties of crude extracts and isolated compounds from *Lychnophora markgravii*. *Natural Product Research*, 34(6), 863-867

I

Iafusco, D., Massa, O., Pasquino, B., Colombo, C., Iughetti, L., Bizzarri, C., ... & Barbetti, F. (2012). Minimal incidence of neonatal/infancy onset diabetes in Italy is 1: 90,000 live births. *Acta diabetologica*, 49(5), 405-408.

J

Jastrzębska-Stojko, Ż., Stojko, R., Rzepecka-Stojko, A., Kabala-Dzik, A., & Stojko, J. (2013). Biological activity of propolis-honey balm in the treatment of experimentally-evoked burn wounds. *Molecules*, 18(11), 14397-14413.

Jude, E.B., & Unsworth, P. F. (2004). Traitement optimal des ulcères du pied diabétique infectés. *Drogues et vieillissement*, 21(13), 833-850.

Jug, M., Karas, O., & Kosalec, I. (2017). The influence of extraction parameters on antimicrobial activity of propolis extracts. *Natural Product Communications*, 12(1), 1934578X1701200113

K

Kahaly, G. J., & Hansen, M. P. (2016). Type 1 diabetes associated autoimmunity. *Autoimmunity reviews*, 15(7), 644-648.

Kalish, J., & Hamdan, A. (2010). Management of diabetic foot problems. *Journal of vascular surgery*, 51(2), 476-486.

Karthikesalingam, A., Holt, P. J. E., Moxey, P., Jones, K. G., Thompson, M.M., & Hinchliffe, R. J. (2010). Une revue systématique des systèmes de notation des ulcères du pied diabétique. *Médecine du diabète*, 27(5), 544-549.

Kharsany, K., Viljoen, A., Leonard, C., & Van Vuuren, S. (2019). The new buzz: Investigating the antimicrobial interactions between bioactive compounds found in South African propolis. *Journal of ethnopharmacology*, 238, 111867.

Kim, S. H. (2015). Maturity-onset diabetes of the young: what do clinicians need to know?. *Diabetes & metabolism journal*, 39(6), 468-477.

Knip, M., & Siljander, H. (2008). Autoimmune mechanisms in type 1 diabetes. *Autoimmunity reviews*, 7(7), 550-557.

L

Lavery, L. A., Armstrong, D. G., Wunderlich, R. P., Mohler, M. J., Wendel, C. S., & Lipsky, B. A. (2006). Risk factors for foot infections in individuals with diabetes. *Diabetes care*, 29(6), 1288-1293.

Lawrence, J.M., Contreras, R., Chen, W., & Sacks, D. A. (2008). Tendances de la prévalence du diabète préexistant et du diabète sucré gestationnel parmi une population de femmes enceintes racialement ou ethniquement diversifiée, 1999-2005. *Diabetes care*, 31(5), 899-904.

Leahy JL. Pathogenesis of type 2 diabetes mellitus. *Arch Med Res* 2005 ; 36:197-209.

Lewis, J., & Lipp, A. (2013). Pressure-relieving interventions for treating diabetic foot ulcers. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, (1).

Lipsky, B. A. (2016). Diabetic foot infections: Current treatment and delaying the ‘post-antibiotic era’. *Diabetes/metabolism research and reviews*, 32, 246-253.

Lipsky, B. A., Aragón-Sánchez, J., Diggle, M., Embil, J., Kono, S., Lavery, L., ... & International Working Group on the Diabetic Foot (IWGDF). (2016). IWGDF guidance on the diagnosis and management of foot infections in persons with diabetes. *Diabetes/metabolism research and reviews*, 32, 45-74.

Lipsky, B. A., Berendt, A. R., Cornia, P. B., Pile, J. C., Peters, E. J., Armstrong, D. G., ... & Senneville, E. (2012). 2012 Infectious Diseases Society of America clinical practice guideline for the diagnosis and treatment of diabetic foot infections. *Clinical infectious diseases*, 54(12), e132-e173.

M

Machado, C.S., Mokochinski, J.B., Lira, T.O.d., de Oliveira, F.d.C.E., Cardoso, M.V., Ferreira, R.G., Frankland Sawaya, A.C.H., Ferreira, A.G., Pessoa, C., Cuesta-Rubio, O., Monteiro, M.C., de Campos, M.S., Torres, Y.R., 2016. Comparative Study of Chemical Composition and Biological Activity of Yellow, Green, Brown, and Red Brazilian Propolis. *Evid.-Based Complementary Altern. Med.* 2016, 1–11.

Martinotti, S., & Ranzato, E. (2015). Propolis : a new frontier for wound healing?. *Burns & trauma*, 3(1), 1-7.

Mathers, C. D., & Loncar, D. (2006). Projections of global mortality and burden of disease from 2002 to 2030. *PLoS medicine*, 3(11), e442.

Mirzoeva, O. K., Grishanin, R. N., & Calder, P. C. (1997). Antimicrobial action of propolis and some of its components: the effects on growth, membrane potential and motility of bacteria. *Microbiological research*, 152(3), 239-246.

Mokhtar, A. B., El-Gayar, E. K., & Habib, E. S. (2016). In vitro anti-protozoal activity of propolis extract and cysteine proteases inhibitor (phenyl vinyl sulfone) on *Blastocystis* species. *Journal of the Egyptian Society of Parasitology*, 46(2), 261-272.

Morbach, S., Furchert, H., Gröblichhoff, U., Hoffmeier, H., Kersten, K., Klauke, G. T., ... & Armstrong, D. G. (2012). Long-term prognosis of diabetic foot patients and their limbs: amputation and death over the course of a decade. *Diabetes care*, 35(10), 2021-2027.

Muoio, D.M., & Newgard, C.B. (2008). Mécanismes moléculaires et métaboliques de la résistance à l'insuline et de l'insuffisance β cellules dans le diabète de type 2. *Nature reviews Molecular cell biology*, 9(3), 193-205

N

.Naik, R. R., Shakya, A. K., Oriquat, G. A., Katekhaye, S., Paradkar, A., Fearnley, H., & Fearnley, J. (2021). Fatty acid analysis, chemical constituents, biological activity and pesticide residues screening in Jordanian propolis. *Molecules*, 26(16), 5076.

Nikoloudi, M., Eleftheriadou, I., Tentolouris, A., Kosta, O. A., & Tentolouris, N. (2018). Diabetic foot infections: update on management. *Current infectious disease reports*, 20(10), 1-11.

O

Olid, A. S., Solà, I., Barajas-Nava, L. A., Gianneo, O. D., Cosp, X. B., & Lipsky, B. A. (2015). Systemic antibiotics for treating diabetic foot infections. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, (9).

Oryan, A., Alemzadeh, E., & Moshiri, A. (2018). Rôle potentiel de la propolis dans la cicatrisation des plaies: propriétés biologiques et activités thérapeutiques. *Biomédecine et pharmacothérapie*, 98, 469-483

P

Pasupuleti, V. R., Sammugam, L., Ramesh, N., & Gan, S. H. (2017). Miel, propolis et gelée royale: un examen complet de leurs actions biologiques et de leurs bienfaits pour la santé. *Médecine oxydative et longévité cellulaire*, 2017.

Pellizzer, G., Strazzabosco, M., Presi, S., Furlan, F., Lora, L., Benedetti, P., ... & De Lalla, F. (2001). Biopsie des tissus profonds vs surveillance superficielle par écouvillonnage dans l'évaluation microbiologique de l'infection du pied diabétique menaçant les membres. *Médecine du diabète*, 18(10), 822-827.

- Peters, B. M., Jabra-Rizk, M. A., O'May, G. A., Costerton, J. W., & Shirtliff, M. E.** (2012). Polymicrobial interactions: impact on pathogenesis and human disease. *Clinical microbiology reviews*, 25(1), 193-213.
- Peters, E. J., & Lipsky, B. A.** (2020). Diagnosis and management of infection in the diabetic foot. *The Foot in Diabetes*, 265-286.
- Polak, M., & Cavé, H.** (2007). Neonatal diabetes mellitus: a disease linked to multiple mechanisms. *Orphanet journal of rare diseases*, 2(1), 1-11.
- Pop-Busui, R., Boulton, A. J., Feldman, E. L., Bril, V., Freeman, R., Malik, R. A., ... & Ziegler, D.** (2017). Diabetic neuropathy: a position statement by the American Diabetes Association. *Diabetes care*, 40(1), 136-154.
- Popova, M. P., Bankova, V. S., Bogdanov, S., Tsvetkova, I., Naydenski, C., Marcazzan, G. L., & Sabatini, A. G.** (2007). Chemical characteristics of poplar type propolis of different geographic origin. *Apidologie*, 38(3), 306-311.
- Popova, M., Trusheva, B., Antonova, D., Cutajar, S., Mifsud, D., Farrugia, C., ... & Bankova, V.** (2011). The specific chemical profile of Mediterranean propolis from Malta. *Food Chemistry*, 126(3), 1431-1435.
- Powers, M. A., Bardsley, J., Cypress, M., Duker, P., Funnell, M. M., Hess Fischl, A., ... & Vivian, E.** (2015). Diabetes self-management education and support in type 2 diabetes: a joint position statement of the American Diabetes Association, the American Association of Diabetes Educators, and the Academy of Nutrition and Dietetics. *Diabetes care*, 38(7), 1372-1382.
- Price, P.** (2016). How can we improve adherence?. *Diabetes/metabolism research and reviews*, 32, 201-205.
- Prompers, L., Huijberts, M., Schaper, N., Apelqvist, J., Bakker, K., Edmonds, M., ... & Tennvall, G. R.** (2008). Resource utilisation and costs associated with the treatment of diabetic foot ulcers. Prospective data from the Eurodiale Study. *Diabetologia*, 51(10), 1826-1834.
- Przybyłek, I., & Karpiński, T. M.** (2019). Antibacterial properties of propolis. *Molecules*, 24(11), 2047.

R

- Rahman, M.M., Richardson, A., Sofian-Azirun, M.,** 2010. Antibacterial activity of propolis and honey against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. *Afric. J. Microbiol. Res.* 4, 1872–1878.

Ramakant, P., Verma, A. K., Misra, R., Prasad, K. N., Chand, G., Mishra, A., ... & Mishra, S. K. (2011). Changing microbiological profile of pathogenic bacteria in diabetic foot infections: time for a rethink on which empirical therapy to choose?. *Diabetologia*, 54(1), 58-64.

Raspovic, K. M., & Wukich, D. K. (2014). Self-reported quality of life and diabetic foot infections. *The Journal of Foot and Ankle Surgery*, 53(6), 716-719.

Ristivojević, P., Trifković, J., Andrić, F., & Milojković-Opsenica, D. (2015). Poplar-type propolis: chemical composition, botanical origin and biological activity. *Natural product communications*, 10(11), 1934578X1501001117

S

Saeedi, P., Petersohn, I., Salpea, P., Malanda, B., Karuranga, S., Unwin, N., ... & IDF Diabetes Atlas Committee. (2019). Global and regional diabetes prevalence estimates for 2019 and projections for 2030 and 2045: Results from the International Diabetes Federation Diabetes Atlas. *Diabetes research and clinical practice*, 157, 107843.

Sapico, F. L., Witte, J. L., Canawati, H. N., Montgomerie, J. Z., & Bessman, A. N. (1984). The infected foot of the diabetic patient: quantitative microbiology and analysis of clinical features. *Reviews of infectious diseases*, 6(Supplement_1), S171-S176.

Sawaya, A. C. H. F., Barbosa da Silva Cunha, I., & Marcucci, M. C. (2011). Analytical methods applied to diverse types of Brazilian propolis. *Chemistry Central Journal*, 5(1), 1-10.

Schaper, N.C. (2004). Système de classification des ulcères du pied diabétique à des fins de recherche : un rapport d'étape sur les critères d'inclusion des patients dans les études de recherche. *Diabetes/Metabolism Research and Reviews*, 20(S1), S90-S95.

Schaper, N.C., Van Netten, J. J., Apelqvist, J., Lipsky, B. A., Bakker, K., & International Working Group on the Diabetic Foot (IWGDF). (2016). Prevention and management of foot problems in diabetes: a Summary Guidance for Daily Practice 2015, basé sur les documents d'orientation de l'IWGDF. *Recherche et examens sur le diabète et le métabolisme*, 32, 7-15.

Sforcin, J. M. (2016). Biological properties and therapeutic applications of propolis. *Phytotherapy research*, 30(6), 894-905.

Sforcin, J. M., & Bankova, V. (2011). Propolis : is there a potential for the development of new drugs?. *Journal of ethnopharmacology*, 133(2), 253-260.

Sforcin, J.M., Bankova, V., & Kuropatnicki, A. K. (2017). Avantages médicaux des produits à base d'abeilles. *Médecine complémentaire et alternative fondée sur des données probantes*, 2017.

Shields, B. M., Hicks, S., Shepherd, M. H., Colclough, K., Hattersley, A. T., Ellard, S. (2010). Maturity-onset diabetes of the young (MODY): how many cases are we missing?. *Diabetologia*, 53(12), 2504-2508.

Sime, D. (2007). *Gastroprotective Effect of Crude Ethanol Extract of Ethiopian Propolis against Chemical Induced Gastric Mucosal Lesions in Mice* (Doctoral dissertation, Addis Ababa University).

Simone-Finstrom, M., & Spivak, M. (2010). Propolis and bee health: the natural history and significance of resin use by honey bees. *Apidologie*, 41(3), 295-311.

Slater, R. A., Lazarovitch, T., Boldur, I., Ramot, Y., Buchs, A., Weiss, M., ... & Rapoport, M. J. (2004). Swab cultures accurately identify bacterial pathogens in diabetic foot wounds not involving bone. *Diabetic medicine*, 21(7), 705-709.

Suleria, H. A. R., & Barrow, C. (Eds.). (2019). *Bioactive Compounds*

T

Tentolouris, N., Jude, E.B., Smirnof, I., Knowles, E. A., & Boulton, A. J.M. (1999). Staphylococcus aureus résistant à la méthicilline: un problème croissant dans une clinique du pied diabétique. *Médecine du diabète*, 16(9), 767-771.

Tentolouris, N., Petrikos, G., Vallianou, N., Zachos, C., Daikos, G. L., Tsapogas, P., ... & Katsilambros, N. (2006). Prevalence of methicillin-resistant Staphylococcus aureus in infected and uninfected diabetic foot ulcers. *Clinical microbiology and infection*, 12(2), 186-189.

Tesfaye, S., & Selvarajah, D. (2012). Advances in the epidemiology, pathogenesis and management of diabetic peripheral neuropathy. *Diabetes/metabolism research and reviews*, 28, 8-14.

Toreti, V.C., Sato, H. H., Pastore, G.M., & Park, Y. K. (2013). Progrès récents de la propolis pour ses compositions biologiques et chimiques et son origine botanique. *Médecine complémentaire et alternative fondée sur des données probantes*, 2013

U

Uçkay, I., Aragon-Sanchez, J., Lew, D., & Lipsky, B. A. (2015). Diabetic foot infections: what have we learned in the last 30 years?. *International Journal of Infectious Diseases*, 40, 81-91.

V

Vaxillaire, M., & Froguel, P. (2008). Monogenic diabetes in the young, pharmacogenetics and relevance to multifactorial forms of type 2 diabetes. *Endocrine reviews*, 29(3), 254-264

W

Wagh, V. D. (2013). La propolis : un produit miracle pour les abeilles et ses potentiels pharmacologiques. *Progrès des sciences pharmacologiques*, 2013.

Y

Yaghoubi, M. J., Gh, G., & Satari, R. (2007). Antimicrobial activity of Iranian propolis and its chemical composition. *DARU Journal of Pharmaceutical Sciences*, 15(1), 45-48.

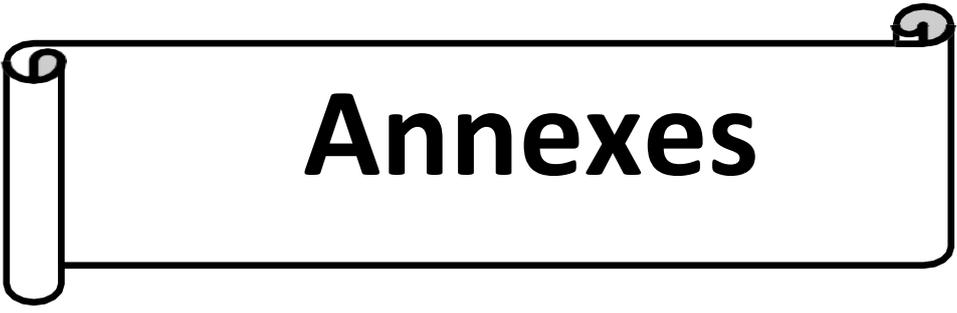
Yeh, G. Y., Eisenberg, D.M., Kaptchuk, T. J., & Phillips, R. S. (2003). Revue systématique des herbes et des compléments alimentaires pour le contrôle glycémique dans le diabète. *Soins du diabète*, 26(4), 1277-1294.

Yildirim, A., Duran, G. G., Duran, N., Jenedi, K., Bolgul, B. S., Miraloglu, M., & Muz, M. (2016). Antiviral activity of hatay propolis against replication of herpes simplex virus type 1 and type 2. *Medical science monitor: international medical journal of experimental and clinical research*, 22, 422.

Z

Zeggini, E., Scott, L. J., Saxena, R., Voight, B. F., Marchini, J. L., Hu, T., ... & Altshuler, D. (2008). Meta-analysis of genome-wide association data and large-scale replication identifies additional susceptibility loci for type 2 diabetes. *Nature genetics*, 40(5), 638-645.

Zimmet, P. Z., Tuomi, T., Mackay, I. R., Rowley, M. J., Knowles, W., Cohen, M., & Lang, D. A. (1994). Latent autoimmune diabetes mellitus in adults (LADA): the role of antibodies to glutamic acid decarboxylase in diagnosis and prediction of insulin dependency. *Diabetic medicine*, 11(3), 299-303.



Annexes

Annexes 01 : composition des milieux de culture utilisées

- **Gélose nutritive**

Formule en g/l d'eau distillée

Tryptone	5g
Extrait de viande	3g
Agar bactériologique 1	5g
pH	7.0 + 0.2

- **Gélose Héктоen**

Formule en g/l d'eau distillée

Digestif peptique de viande	12.0g
Extrait de levure	3.0g
Lactose	12.0g
Saccharose	12.0g
Salicin	2.0g
Sels biliaires	9.0g
Chlorure de sodium	5.0g
Thiosulfate de sodium	5.0g
Citrate d'ammonium ferrique	1.5g
Blue de bromothymol	0.065g
Fushin acide	0.10g
Agar bactériologique	15g
pH	7.5+0.2
150ML	2-8° C

- **Gélose de Chapman**

Formule en g/l d'eau distillée

Digestif pancréatique de caséine	5.0g
Extrait de viande	1.0g
Digestif protéique de tissu animale	5.0g
D-Mannitol	10.0g
Chlorure de sodium	75.0g
Rouge de phénol	0.025g
Agar bactériologique	15.0g
pH	7+0.2
180ML	2-8° C

- **Gélose Mueller Hinton**

Formule en g/l d'eau distillée

Acide caséine peptone	17.5g
Infusion de bœuf	2.0g
Amidon	1.5g
Agar bactériologique	17.0g
pH	7.3+0.2
180 ML	2-8°C

- **Bouillon nutritif:** est un milieu largement utilisé pour la culture des microorganismes peu exigeants. Il a la même formulation que l'agar nutritive, seule l'agar a été omis (pas de solidification)

Peptones	10.0g
Hydrolysant de caséine	5.0g
Chlorure de sodium	5.0g
180 ML	2-8°C

Fiche de renseignement du malade hospitalisé

La date **le service :** **numéro de patient :**
Age : **Sex :** **Résidence :**

Type de diabète :

- ID
- NID

Durée de diabète

- 01 – 10 ans
- 10 – 20 ans.
- > 20 ans

Traitement de diabète :

- Oui
- Non

Type de traitement

- Insuline novorapide.
- Insuline levemir.
- Glycophage 500mg

Régime alimentaire

- Oui
- Non
- parfois

Taux de l'HbA1C :

- 01 – 06 %
- 06 – 09 %
- > 09 %

Durée de l'hospitalisation

- < 01 mois
- 01-10 ans
- 10 -20 ans
- >20 ans

Infection récidivante

- Oui
- Non

Type de l'infection

- Nosocomiale
- Communautaire

Site de prélèvement

- Surface
- Tissu profond

Gravité de l'infection

- Légère
- Modérée
- Sévères

Traitement d'antibiotique

- Oui
- Non

Type de traitement

- Ciprolon
- FLagyl

Durée de traitement

- 01 mois

Autre complication

- Neuropathie
- Ischémie
- Néphropathie
- Autre

Type de culture

- Mono microbienne
- Poly microbienne

Type de microorganismes identifiés

- Bactéries **X**
- Champignon