

République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة أبو بكر بلقايد- تلمسان
Université ABOUBEKR BELKAID – TLEMCEM
كلية علوم الطبيعة والحياة، وعلوم الأرض والكون
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, et Sciences de la Terre et de
l'Univers
Département de BIOLOGIE



MÉMOIRE

Présenté par

Mammar Belkais Nour el houda

En vue de l'obtention du

Diplôme de MASTER

En Science Biologie

Spécialité Biologie moléculaire et cellulaire

Thème

***Evaluation des activités biologiques du venin d'abeille brut
et leur synergie avec l'extrait des feuilles et fleurs du safran***

Soutenu le **27/09/2023**, devant le jury composé de :

Président	Mme. Belyagoubi Benhammou Nabila	Pr.	Université de Tlemcen
Encadrante	Mme. Loukidi Bouchra	Pr.	Université de Tlemcen
Examineur	Mr. Belyagoubi Larbi	MCA	Université de Tlemcen

Année universitaire 2022/2023

Remerciements

*Tout d'abord je remercie **le dieu** de m'avoir donné la force et la patience tout au long de la durée de travail sur ce thème.*

*Je désire remercier **Mme. Loukidi Bouchra**, Professeur à l'Université de Tlemcen pour son encadrement, pour ses orientations et sa patience.*

*Mes vifs remerciements à **Mr. Belyagoubi Larbi**, Maître de Conférences Classe A à l'Université de Tlemcen, pour son encouragement, ses précieux conseils, sa disponibilité, sa compétence et son engagement.*

*Mes plus sincères remerciements à **Mme. Belyagoubi-Benhammou Nabila**, Professeur à l'Université de Tlemcen, d'avoir accepté de présider le jury.*

*Je tiens également mes vifs remerciements au doctorant **Chouari Kamel** pour, ses conseils et son précieux aide.*

*Mes remerciements à la doctorante **Nouria Meliani** pour son aide précieuse.*

*Mes sincères remerciements au masterant **Abdellatif B** pour son aide.*

*Mes remerciements à tout **le staff technique** du laboratoire des Produits Naturels et les ingénieurs du laboratoire de Microbiologie 2.*

*Je tien encore de remercier **l'équipe du service de Physiopathologie** du laboratoire centrale pour leurs aides précieuses, et les informations qu'ils nous ont procurées.*

Dédicace

Je tiens à dédier cet humble travail à :

A ma très chère mère Fatima Zohra, Source inépuisable de patience et de sacrifice. Ta bénédiction et ton aide m'ont été d'un grand secours tout au long de ma vie. Puisse dieu tout puissant, te préserver et t'accorder santé, longue vie et bonheur.

A mon très cher père Bounouar, Tu as été et tu seras toujours un exemple pour moi par tes qualités humaines, ta persévérance et perfectionnisme. En ce jour, j'espère réaliser l'un de tes rêves. Aucune dédicace ne saurait exprimer mes respects, ma reconnaissance et mon profond amour. Puisse dieu vous préserver et vous procurer santé et bonheur.

A ma très chère sœur Nedjwa.

A mes très chères amies, Nourhene et Latifa.

A ma très chère professeure de français Fatima Zahra-G.

A mes collègues Manel, Khadidja, Zaki et aussi Chahinez.

A mon très cher oncle Yassin.

A ma très cher amour Lopoticha.

A tous mes amies.

A tous ceux qui ont laissé un bon impact dans ma vie.

A vous tous.

الملخص:

سم النحل من فصيلة *Api mellifera* والزعفران من نبات *Crocus sativus* مادتان طبيعيتان مختلفتان تماما، إحداهما سموم وذات طبيعة بروتينية، والأخرى ذات طبيعة نباتية، فضائل جزيئات منتجاتها وهي معروفة على نطاق واسع في العالم العلاجي والطب التقليدي، وذلك بفضل ثرائها بالمحتوى النشط بيولوجيا.

هدفنا من العمل يهدف إلى جزأين تجريبيين، لفهم أفضل للأنشطة البيولوجية الرئيسية لمنتجاتها الطبيعية. جزء مختبري لتقييم النشاط المضاد للميكروبات للمستخلصين المستخدمين، من ناحية السم وحده ومن ناحية أخرى خليط الزعفران (الأوراق والأزهار) والسموم بالإضافة إلى النشاط المضاد للأوكسدة للسم بواسطة اختبار DPPH لمسح الجذور الحرة. الجزء الثاني في الجسم الحي يتكون من تقييم سمية سم النحل في فئران ويستار.

ووفقا للنتائج التي تم الحصول عليها، أظهر سم النحل نشاطا مضادا للميكروبات مثيرا للاهتمام ضد جميع السلالات التي تم اختبارها. *Echerichia*، *Enterococcus faecalis*، *Klebsiella pneumoniae*، *Pseudomonas aeruginosa*، *Candida albicans*، *Staphylococcus aureus*، *Bacillus subtilis*، *coli*، ومن ناحية أخرى فإن الخليط يؤدي إلى انخفاض القوة المضادة للميكروبات وبالتالي تم تقدير التأزر السلبي لمستخلص السم و الزعفران (سلالتان فقط تم اختبارهما لمستخلص الخليط *C.albican* و *P.aeruginosa*)، فيما يتعلق بقوة مضادات الأوكسدة، لوحظ نشاط ضعيف مضاد للجذور (EC50=20.11±1.7mg/ml)، بالنسبة لاختبار السمية، تم تحديد المخاطر وتقدر الجرعة ابتداء من 3 ملغم/كغم.

لذلك استنتجنا أن سم النحل وأوراق وأزهار الزعفران المحصودة من غرب الجزائر لها مجموعة واسعة من الخصائص الطبية الحيوية والدوائية التي لا يزال يتعين استغلالها.

الكلمات المفتاحية:

Crocus sativus، *Api mellifera*، سم النحل، نشاط مضاد للميكروبات، النشاط المضاد للأوكسدة.

Résumé

Le Venin d'abeille de l'espèce *Apis mellifera* et le Safran issus de la plante *Crocus sativus*, se sont deux matières naturelles complètement différentes l'un contient des toxines et d'une nature protéique, et l'autre de nature végétale, les vertus des molécules de ses produits sont largement connues dans le monde thérapeutique et la médecine traditionnelle, grâce à leur richesse en composés bioactifs.

Notre but de travail a été concentré sur deux parties expérimentales, pour mieux comprendre les activités biologiques clés de ses produits naturels. Une partie *in vitro* pour l'évaluation de l'activité antimicrobienne des deux extraits utilisés, d'une part le venin seul et d'autre part le mélange Safran (feuille et fleurs)-Venin d'abeilles, plus l'activité antioxydante du Venin par le test de piégeage du radical libre DPPH. Une deuxième partie *in vivo* consiste à évaluer la toxicité du venin chez les rats *wistar*.

Selon les résultats obtenus, le venin d'abeille a montré une activité antimicrobienne intéressante contre toutes les souches testées. *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterococcus faecium*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, et *Candida albicans*, Par contre le mélange montre un faible pouvoir antimicrobien ont été estimés donc une synergie négative pour l'extrait venin-safran (juste deux souches testées pour l'extrait mélange *P.aeruginosa* et *C.albicans*), A propos du pouvoir antioxydant une faible activité antiradicalaire a été observée ($EC_{50}=20.11\pm 1.7\text{mg/ml}$), Pour le test de toxicité la dose à risque est estimée à partir de 3mg/kg.

Donc on a conclu que le Venin d'abeille et les feuilles et fleurs du Safran récoltées de l'ouest algérien ayant un large champ de propriétés bio-médicinales et pharmacologiques qui restent à être exploitées.

Mots clés : *Apis mellifera*, *Crocus sativus*, Venin d'abeilles, Activité antimicrobiennes, Activité antioxydante

Abstract :

Bee venom from the *Apis mellifera* species, and Saffron from the *Crocus sativus* plant. are two completely different natural materials, one of which is toxins and of a protein nature, and the other is of a plant nature, the virtues of the molecules of its products are widely known in the therapeutic world and traditional medicine, thanks to their richness in bioactive content.

Our goal of work is divided at two experimental parts, to better understand the key biological activities of its natural products. An *in vitro* part for the evaluation of the antimicrobial activity of the two extracts used, on the one hand the venom alone and on the other hand the Saffron (leaf and flowers)-Venom mixture, and the anti-oxidant activity of the Venom by the DPPH free radical scavenging test. A second *in vivo* part consists of evaluating the toxicity of the venom in wistar rats.

According to the results obtained, bee venom showed interesting antimicrobial activity against all the strains tested. *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterococcus faecium*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, and *Candida albicans*, On the other hand the mixture results in a low antimicrobial power were estimated therefore a negative synergy for the venom extract- saffron (just two strains tested for the *P.aeruginosa* and *C.albican* mixture extract), Regarding the antioxidant power, a weak anti-radical activity was observed ($EC_{50}=20.11\pm 1.7\text{mg/ml}$), For the toxicity test the Risk dose is estimated from 3 mg/kg.

Therefore, we concluded that bee venom and the leaves and flowers of Saffron harvested from western Algeria have a wide range of bio-medicinal and pharmacological properties, which remain to be exploited.

Keywords :

Apis mellifera, *Crocus sativus*, Bee venom, Antimicrobial activity, Anti-oxidant activity.

Table des matières :

Remerciements

Dédicace

Résumé

Liste des photos

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction générale

Matériel et Méthodes

1. Matériels et Produits d'étude	07
2. Récolte du venin locale	08
2.1 Procédure de récolte	08
I. Evaluation de l'activité Antimicrobienne des extraits	10
1. Diffusion sur gélose	10
1.1 Préparation des extraits	10
1.2 Repiquage des souches	10
1.3 Ensemencement et application des disques	11
2. Microdillution en milieu liquide	12
2.1 Concentration minimale inhibitrices CMI.....	12
2.2 Concentration minimale bactéricide CMB	14
II. Evaluation de l'activité Antioxydant de l'extrait du venin d'abeille	14
1. Test de piégeage du radicale libre DPPH	14
III. Evaluation de la toxicité du venin d'abeille <i>in vivo</i>	14
1. Test de toxicité	14
2. Technique de l'étude histologique	15

Résultat et Discussion

I. Estimation du pouvoir antimicrobienne	17
1. Résultat de la diffusion sur gélose	17
2. Résultat de la CMI/CMB	19
II. Estimation du pouvoir antioxydant	20
1. Résultat du test DPPH	20
1. Evaluation de la toxicité du venin	21

1.1 Résultat observé visuellement	21
1.2 Résultat hématologique	23
1.3 Résultat de l'étude hépato-histologique	24
1.4 Résultat de l'étude histologique du tissu rénal.....	27

Conclusion

Annexes

Liste des abréviations :

ATCC : American Type Culture Collection.

DMSO : Diméthyle sulfoxyde.

DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl.

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice.

CMB : Concentration Minimale bactéricide.

EC50 : Concentration Inhibitrice 50%.

V-A : Venin d'abeille.

AMP : Ampicilline.

HE : Hématoxyline-éosine

Listes des figures :

Figure 1 : Appareille collectrice a venin d'abeille	09
Figure 2 : Grattage du venin séché.....	09
Figure 3 : Conservation du venin sec dans des tubes.....	09
Figure 4 : Lot des <i>rats wistars</i> de sexe féminin pour le test de toxicité.....	15
Figure 5 : Diamètres des zones d'inhibition par (mm) pour les sept souches testées.	17
Figure 6 : Zones d'inhibitions de la souche <i>E. coli</i> pour l'extrait du venin d'abeille.	18
Figure 7 : Zones d'inhibitions des deux souches <i>P. aeruginosa</i> et <i>K. pneumoniae</i> pour l'extrait du venin d'abeilles.....	18
Figure 8 : Résultat de la CMI pour l'extrait du venin d'abeilles et l'apparition de trouble pour les deux souches <i>P. aeruginosa</i> et <i>C. albicans</i>	20
Figure 9 : Pourcentage d'inhibition et du piégeage du radicale libre DPPH.	21
Figure 10 : Poids des lots testés par les doses 1 et 2mg/kg.....	22
Figure 11 : Poids des lots testés par les doses 3 et 4mg/kg.....	23
Figure 12 : Coupe histologique de tissu hépatique du groupe témoin.	25
Figure 13 : Coupe histologique de tissu hépatique du groupe traités par l'extrait à venin 1mg/kg.....	26
Figure 14 : Coupe histologique de tissu hépatique du groupe traités par l'extrait à venin 2mg/kg.....	26
Figure 15 : Quelques coupes histologiques du tissu hépatique des lots traités par 3 et 4 mg/kg.	27
Figure 16 : Coupe histologique transversale du tissu rénal du groupe témoin.	28
Figure 17 : Coupe histologique transversale du tissu rénal des lots traités par l'extrait du venin.	29
Figure 18 : Coupe histologique du tissu rénal de la partie médulla externe d'un animal traité par l'extrait du venin.	29

Liste des tableaux :

Tableau 1 : Principaux composants du venin d'abeille.	03
Tableau 2 : Activités biologiques des composants majeurs du venin sec.	04
Tableau 3 : Les différentes souches microbiennes de références étudié.	07
Tableau 4 : Concentration de l'extrait à base de venin d'abeille contenu dans les puits. ...	13
Tableau 5 : Résultats du CMI/CMB sur les souches testées.....	19
Tableau 6 : Tableau des résultats hématologiques.	24



Introduction

Introduction générale

Cent millions d'années ! Les abeilles sont là depuis toujours et partout. "Si les abeilles devaient disparaître, l'humanité n'aurait plus que quatre années à vivre" dit **Albert Einstein**. Cette citation éclaire l'importance des abeilles, Elles font d'ailleurs à elles seules 80% de la pollinisation de la planète (**Théodore et Roch., 2001**)

Au cours de leur vie, les abeilles sont très actives et fabriquent ce qu'on appelle les produits de la ruche : miel, pollen, gelée royale, propolis, cire d'abeille et venin. Précieux, les produits de la ruche sont utilisés depuis des millénaires pour leurs bienfaits sur notre santé et notre bien-être (**Bacher., 2008**). C'est ce qu'on appelle "Api Thérapie", c'est une pseudo-médecine, créée par le médecin grec Hippocrate "Apis" veut dire abeilles et "Thérapie" signifie la cure, le soin... (**Scheau et Fuiorea., 1981**)

Depuis. Longtemps les traitements avec le venin d'abeilles sont pratiqués d'une manière traditionnelle. Elle consiste à déposer à l'aide d'une pince, une ou plusieurs abeilles vivantes sur la peau du sujet et sur les zones douloureuses ou encore sur des points d'acupuncture, ce sont des endroits particuliers de la peau, où il est possible d'accéder à l'énergie circulante du corps. Au niveau de ces points, l'énergie est plus concentrée et plus superficielle (**Lee et al., 2005**).

Grâce au développement scientifique les recherches sont menées à trouver différentes techniques pour l'utilisation du venin avec de nouvelles méthodes moins sacrificielle des abeilles et plus précise comme les injections mécaniques d'où Le venin est administré par injection d'une solution diluée par une seringue à dose connue, en sous-cutanée, intradermique, ou bien par mésothérapie sur des points bien déterminés dans le corps. L'administration de ce dernier peut se réaliser sous diverses formes : des crèmes, des baumes, lotions, comprimés, gouttes...

Le venin d'abeille est un liquide incolore et amer à l'odeur forte, il est produit uniquement par les femelles de ses insectes (les ouvrières et la reine), il est composé d'un mélange complexe, il contient une variété de composés toxiques biologiquement actifs, tels que les enzymes, les peptides et les amines biogènes (**Czarnetzki et al., 1990**). Chez les humains, une piqûre d'abeille peut entraîner une douleur aiguë, une inflammation et des réactions allergiques graves chez certaines personnes. Une réaction allergique qui peut provoquer des symptômes tels que des troubles respiratoires, des étourdissements, des vomissements et une perte de conscience (**Gilles et Paul., 2017**), Cependant, le venin d'abeille est également utilisé à des fins médicales dans la thérapie par venin grâce à ces vertus pharmacologiques. Des

Introduction générale

études ont montré que certains composés du venin, tels que la Melittine, ont des propriétés antimicrobiennes et anti tumorales potentielles et même antiinflammatoire et antioxydants **(Blanc., 2010)**., Il est classé comme un agent immunologique actif, il bloque le transfert de l'influx nerveux, stimule l'activité de l'axe hypophyse-surrénale et la production de cortisol principale glucocorticoïde naturelle, il normalise la tension artérielle et entraîne une vasodilatation notamment au niveau des capillaires cérébraux**(Théodore et Roch., 2001)**. Il inhibe la réaction inflammatoire et diminue la perception de la douleur pour certaines affections comme l'arthrite, la sclérose en plaque et la douleur chronique **(Song et al., 2020)**

La qualité du venin d'abeilles dépend de l'endroit de l'élevage que ce soit dans la nature ou d'autres endroits mellifères, grâce à leur récolte le venin est fortement exposée à la pollution aérienne et de nombreux polluants biologiques et physiques tels que les déchets des abeilles, la poussière ,des débris végétaux **(Santu et al., 2021)** Cette pollution peut affecter même les autres matières fraîches de la ruche. Tout cela dépend du producteur pour s'assurer de la pureté de son produit ou bien l'intervention des laboratoires biologiques.

Sans oublier, dans le monde végétal, il excite toujours des plantes qui ont des pouvoirs mystérieux sur l'organisme tel que le safran. C'est un épice originaire d'Asie, d'une plante nomme *Crocus Sativus*, en plus de ses épices leurs feuilles et fleurs possèdent également des bienfaits pour la santé, grâce à ces propriétés antimicrobiennes et antioxydants élevées **(Moshafi et al., 2011)**, et leur forte capacité de neutralisation des radicaux libres **(Bharti et al., 2021)**. Selon des études, les extraits des (fleurs, feuilles) du safran sont riches en composants tels que les polyphénols, les flavonoïdes, et les flavonols qui ont des propriétés antiinflammatoires qui peuvent aider à réduire l'inflammation **(Moshiri., 2015)**

Tout d'abord le safran feuilles et fleurs offre des bienfaits intéressants sur notre organisme notamment grâce à son large champ de propriétés biologiques et biomédicales qui peuvent aider à prévenir et à traiter certaines maladies.

Introduction générale

Tableau 1 : principaux composants du venin d'abeille (Nicolay-Jean., 2014)

Le venin d'abeille est un composé complexe formé de 85% d'eau et de 15% de matières sèches. Ces matières sèches sont résumées dans le tableau suivant :

Classe des molécules	Composant	% dans le venin sec
Enzymes	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Phospholipase A2 ▪ Phospholipase B ▪ Hyaluronidase ▪ Phosphatase 	<p>10–12</p> <p>1</p> <p>1,5-2</p> <p>1</p>
Protéines	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Mellitine ▪ Apamine ▪ peptide MCD ▪ Adolapine ▪ Inhibiteur de la protéase ▪ peptide cardioactif ▪ Petit peptides (moins de 5 AA) 	<p>40–50</p> <p>2–3</p> <p>2-3</p> <p>0,5-1</p> <p>0,1-0,8</p> <p>0,7</p> <p>13-15</p>
Phospholipides (Neurotransmetteurs)	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Histamine ▪ Dopamine ▪ Noradrénaline 	<p>0,5-2</p> <p>0,13-1</p> <p>0,1-0,7</p>
Composés phénoliques	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Acide caféique ▪ Chlorure de caféyle ▪ Acide gallique... 	/
Minéraux	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Potassium, Calcium, Magnésium, 	3-4

En plus de quelques substances volatiles nommées "phéromones" qui sont à l'origine du venin pur (Free., 1987 et Gary., 1963). D'après sa composition, le venin d'abeille présente une activité de type anti-inflammatoire non-stéroïdien (AINS) (Tableau 2).

Introduction générale

Tableau 2 : Activités biologiques des composants majeures du venin d'abeilles sec (Api toxine).

Composé	Activité biologique	Références
Méllitine	propriétés antibactérienne, antifongique, anti-inflammatoire et antioxydant	(Jangra et al., 2020)
Apamine	anti-inflammatoire et anti-arythmique	(Tewtrakul et al.,2016)
Peptide MCD	induit la libération d'histamine, Par dégranulation des mastocytes + l'effet anti-inflammatoire	(Deng et al., 2020)
Phospholipase A2	Enzyme qui agit en synergie la Méllitine, provoque la destruction des phospholipides membranaires, et l'activation de la régénération nerveuse.	(Francis et al., 2015)
Hyaluronidase	Induit la libération d'histamine, augmente la perméabilité du tissu conjonctif et permet la diffusion du venin	(Rilla et al., 2019)
Acide caféique	Activités antioxydant, antiinflammatoire	(Zaho et al., 2018)
Histamine	impliqué dans la réponse allergique	(Wallmark et al.,2018)

Notre travail est organisé dans le cadre d'une étude expérimentale pour mieux savoir les activités biologiques du venin d'abeille séché et le mélange d'extrait du safran fleurs et feuilles avec ce dernier afin de connaître l'effet synergique entre eux.

Introduction générale

Notre travail se compose en deux parties expérimentales principales :

- ❖ Une étude *in vitro* pour évaluer
 - ✓ l'estimation de l'activité antimicrobienne de l'Api-toxine local (venin d'abeille sec de l'espèce *Api Mellifera*) et du mélange Api toxine-Safran (Feuilles et Fleurs) en utilisant la méthode de diffusion sur gélose.
 - ✓ Une estimation de la concentration minimale inhibitrice (CMI), et La concentration minimale bactéricide (CMB) à l'aide des microplaques pour les deux extraits.
 - ✓ Une estimation de l'activité anti-oxydante de l'Api-toxine locale par le test de piégeage du radical libre DPPH.
- ❖ Une étude *in vivo* pour effectuer
 - ✓ L'évaluation d'un test de toxicité chez les rats *Wistars* de sexe féminin.



Matériel et Méthodes

Matériel et méthodes

Activités biologiques

1 Matériels et Produits d'étude

1-1 le Venin

Venin sec de l'espèce *Api-Mellifera* récolté de la région de 'Syphax ' la wilaya de Ain Témouchent et conserver dans un réfrigérateur à (-4C°)

1-2 le Safran

Les deux extraits des feuilles et des fleurs de safran sont reçus de la part du **Pr LOUKIDI B.**

1-3 les souches bactériennes

Dans cette étude on a utilisé sept différentes souches microbiennes de références.

Tableau 03 : Les différentes souches de références étudiées

Microorganismes	Gram	Code	Laboratoire de conservation
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Négatif	ATCC 27853	LVR
<i>Echerichia coli</i>		ATCC 25922	LVR
<i>Klebsiella pneumoniae</i>		ATCC 700603	LAMAABE
<i>Staphylococcus aureus</i>	Positif	ATCC 25923	LVR
<i>Bacillus subtilis</i>		ATCC 6633	LAMAABE
<i>Enterococcus faecalis</i>		ATCC 29212	LVR
<i>Candida albicans</i>	Levure	ATCC 10231	LAPSAB

LVR : Laboratoire vétérinaire régional de Tlemcen ; **LAMAABE** : Laboratoire de microbiologie Appliquée à l'agroalimentaire au biomédical et à l'environnement ; **LAPSAB** : Laboratoire antibiotiques antifongiques : Physico-chimie Synthèse et Activité Biologique. **ATCC** : American Type Culture Collection

Matériel et méthodes

2- Récolte du venin local

2-1 Procédure de récolte

Le venin est récolté grâce à une plaque de verre développée et spécifique. C'est un petit appareil dans lequel circule un courant électrique à très basse tension, généralement entre 10-12V (**Fayet., 2015**), est notamment utilisé pour provoquer les abeilles et faire fonctionner leur mécanisme de défense (**Figure 01**).

On le place à l'entrée de la ruche ou bien plus proche, car les gardiennes produisent plus de venin que leurs congénères (**Domerego et Blanchard., 2012**). Des Pheromones d'attaques diffusées par les premiers individus alertent très vite la colonie (**plettner et al., 1997**). Les abeilles vont injecter leur précieux venin sans que leur dard ne soit crocheté et vont continuer leur activité sans aucun mal. Elles déposent alors des gouttes de venin sur la plaque en verre qui sont récupérées qu'après 40 à 45 minutes. Avec une lame pour gratter le venin sec (**Figure 02**), perdant ainsi certains de ces composés volatiles (**Hider et al., 1983**), tout ça se fait par un spécialiste généralement un apiculteur professionnel.

Le venin d'abeille ne devrait pas être exposé au soleil donc plus tôt l'opération est effectuée, c'est mieux. On obtient ce dernier sous forme de poudre blanche et parfois marron cristallisées selon la nourriture de l'insecte et du nectar consommé (**Apimondia., 2001**). On le conserve dans du tube en verre ou bien des tubes spéciaux de laboratoire. (**Figure 03**)



Figure 01 : Appareil collectrice à venin d'abeilles.

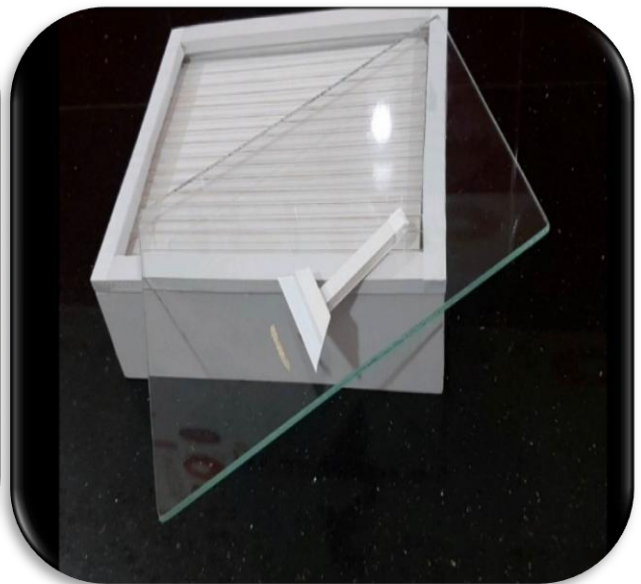


Figure 02 : Grattage du venin séché.



Figure 03 : Conservation du venin sec dans un tube.

I. Evaluation de l'activité Antimicrobienne de l'extrait du venin d'abeille et du mélange Safran-Venin

1 Méthode de diffusion sur gélose

➤ *Principe*

L'activité antimicrobienne du venin d'abeilles a été testée *in vitro* en utilisant la méthode de diffusion sur gélose, Cette méthode consiste à appliquer des disques qui contiennent du venin ou de l'extrait et les placer sur les boites géloséesensemencées par les microorganismes. Après incubation, on va remarquer l'apparition des zones d'inhibition (Kumar et al., 2011).

Les souches sont classifiées selon leurs résistances en trois classes : très sensible, sensible et résistante

➤ *Protocole*

1-1 Préparation des extraits

Extrait venin

Nous avons préparé la solution du venin à partir de la solubilisation de 30 mg de l'Api-toxine (poudre solide) dans un volume de (300µL 10%DMSO). Donc la concentration du venin égale 100mg/ml.

Mélange venin d'abeilles-Safran

Dans un but d'étudier la synergie, nous avons mélangé les trois extraits (feuille/fleurs/venin) dans un tube a une même concentration 200mg/ml pour chacun, la solubilisation a été effectuée par l'ajout de l'eau distillée.

1-2 Repiquages des souches

On utilise les bactéries de références. Par une anse de platine, on fait le prélèvement d'une colonie bactérienne/levure, on l'ensemence sur les bouillons (Muller-Hinton pour les bactéries, et Sabouraud pour la levure), on incube à 37°C pendant 18-24h pour les bactéries et 48h à 37°C pour la levure.

La turbidité des suspensions bactériennes est ajustée au standard Mc Farland 0.5 avec un colorimètre, ce qui correspond à $\approx 10^8$ UFC/mL pour les bactéries (D.O = 0.08 à 0.1 / λ 625 nm) et $\approx 10^6$ UFC /mL pour les levures (D.O = 0.08 à 0.1 / λ 625 nm).

Matériel et méthodes

L'inoculum peut être ajusté en ajoutant du milieu stérile (B.M.H ou B.S), si l'inoculum est trop chargé, si l'inoculum est trop faible on le rend dans l'étuve.

Juste après l'ajustement, on met la culture bactérienne déjà mesurer dans un bécher qui contient de l'eau glacée pour stoppée leur croissance.

1-3 Ensemencement et application des disques

L'ensemencement doit se faire dans les 15 mn qui suivent la préparation de l'inoculum (**Rahal et al., 2008 ; Vitali et al., 2016**).

A l'aide d'un écouvillon stérile trempée dans la suspension bactérienne, on le flotte sur toute la surface de la gélose sèche, formant des bandes serrées. A chaque fois on tourne la boîte de Pétri de 60°, il faut répéter encore trois fois, sans oublier de laisser l'écouvillon tourner de lui-même. A la fin on se fait passer l'écouvillon autour de la gélose.

Pour les disques on utilise le papier Wattman N°1, on le découpe en disque de 6mm de diamètre, puis on l'introduit dans un tube ou flacon en verre, après on va lancer une stérilisation on utilise l'autoclave.

On dépose les disques chargés d'antibiotique sur la gélose ensemencée par un pince bactériologique stérile pour assurer son application (**Ammari et al., 2005**), on prélève deux charges différents pour l'extrait du venin.

Pour la solution mélange ont été utilisés trois disques pour chaque boîte à une charge de (200/200/200 mg/mL pour les trois extraits venin/feuilles/fleurs du safran (5µL).

On met les boîtes dans le frigo pendant 1 à 2h à 4°C pour faciliter la diffusion des molécules bioactives contenues dans l'extrait et aussi ralentir la croissance microbienne (**Kitouni., 2007**), puis incubées dans une étuve. Le lendemain on va mesurer les diamètres des zones d'inhibition avec précision dans les deux directions perpendiculaires autour des disques par un pied de coulisse ou bien avec une règle graduée (**Ait baziz et Chemli., 2017**).

2- Méthode de micro-dilution en milieu liquide (concentrations *CMI* et *CMB*)

➤ *Principe*

La *CMI* est une méthode de dilution dans un milieu liquide, dans des microplaques stériles à fond en (U) pour déterminer la concentration minimale inhibitrice permettant de stopper la croissance des microorganismes par un ou des extraits qui contiennent des composants actifs. La *CMB* est définie comme la plus faible concentration d'extrait qui ne laisse aucune bactérie viable dans l'inoculum après incubation à 37°C pendant 18 à 24 heures (**Abedini., 2013**).

Tous les tests ont été effectués dans le B.M.H pour les bactéries et B.S pour la levure.

➤ *Protocole*

- *Concentration minimale inhibitrice (CMI)*

Tous les tests ont été effectués dans le B.M.H pour les bactéries et B.S pour la levure. Et les dilutions en série sont préparées dans une microplaque à fond en U (plaque à micro-titration) de 96 puits.

Nous mettons 100µL de bouillon B.M.H (ou B.S) dans les puits.

Ensuite, nous déposons 100µL de l'extrait utiliser (les gammes de concentration sont mentionnées dans le **Tableaux 4**) dans le puits 2, ensuite le puits 3, et puis effectuons les dilutions successives (100µL de puits 3 dans le puits 4 et ainsi de suite).

De plus, on met 100 µL de la suspension microbienne dans les puits 1 puis 3 à 18 pour obtenir un volume final de 200 µL avec une concentration finale de microorganismes de $\approx 5 \times 10^5$ UFC/mL. (**Lopez et al., 2018 ; Benmahieddine et al., 2021**). Le tableau ci-dessous explique les concentrations des extraits testés.

Matériel et méthodes

Tableau 04 : Concentration de l'extrait à base venin d'abeille contenant dans les puits.

Numéro du puit	Concentration du puits (µg/ml) du venin d'abeille	Concentration (µg/ml) de l'extrait (safran-venin)	Numéro du puits	Concentration du puits (µg/ml) de l'extrait
01	00 (T.S)	00 (T.S)	09	2343.75
02	100000 (T.E)	300000(T.E)	10	1171.875
03	50000	150000	11	585.9375
04	25000	75000	12	292.96875
05	12500	37500	13	146.4843
06	6250	18750	14	73.2421
07	3125	9375
08	1562.5	4687.5	24	0.071

T.S : Témoin des souches ; **T.E** : Témoin de l'extrait.

Il est important d'homogénéiser le tube contenant la souche en le passant au vortex avant de l'ajouter dans les puits (**Abedini., 2013**).

Les microplaques des bactéries et des *C. albicans* ont été incubées respectivement pendant 24 h à 37°C Pendant 48 à 37°C.

La lecture est faite visuellement, où l'on observe des troubles dans les puits.

Matériel et méthodes

II. Concentration minimale bactéricide/fongicide.

La *CBM* est complémentaire à la *CMI*, cette technique consiste à prélever 10µL du puits (3) jusqu'au puits qui contient la concentration la plus faible d'extraits qui inhibe la croissance bactériennes. Après on ensemence par une anse de platine sur des milieux de culture solide (G.M.H ou G.S).

On incube à 37°C pendant 24h pour les bactéries et 48h pour candida, on fait la lecture du résultat le jour qui suit.

I. Evaluation de l'activité antioxydants du venin d'abeille

1-Test de piégeage du radicale libre DPPH

Un volume de 50µL de différentes concentrations (0.0625, 0.125, 0.25, 1, 2, 4mg/ml) de l'extrait est ajouté à 1950µL de la solution méthanolique du DPPH (0.025g/l) fraîchement préparée. Après incubation, à l'absence de la lumière pendant 30min, dans une température ambiante, la lecture des absorbances été effectuée à 515 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

En ce qui concerne le contrôle négatif, il est préparé en parallèle en mélangeant 50µL du méthanol avec 1950µL de la solution DPPH à la même concentration utilisée.

Le pourcentage d'inhibition (%) du radicale libre DPPH est calculé selon la formule suivante :

$$\text{Pourcentage d'inhibition (I\%)} = ((AC - AE) / AC * 100$$

AC : Absorbance du contrôle négatif

AE : Absorbance de l'échantillon

II. Evaluation de la toxicité du venin d'abeille *in vivo*

1- Test de toxicité

Matériel et méthodes

Pour effectuer le test de toxicité aigüe de l'extrait, quatre lots de deux rats de sexe féminin à un intervalle de poids entre (220-250g) ont été utilisés (**Figure 4**), les animaux de chaque lot ont reçu chacun, par voie intrapéritonéale, une seule dose de l'extrait : 4mg/kg ; 3mg/kg ; 2mg/kg ; 1mg/kg solubilisé dans une quantité de 0.5mL de l'eau physiologique.

Le taux de mortalité et même les signes de toxicité ont été observés durant 14 jours après l'administration de l'extrait.



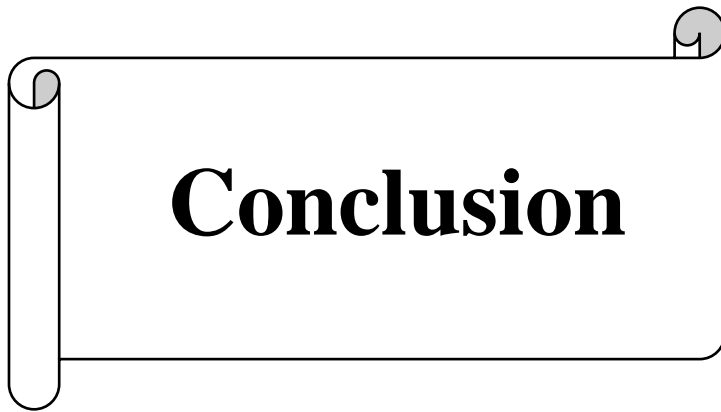
Figure 4 : Lots de *Rats Wistars* de sexe féminin pour le test de toxicité.

2- Technique de l'étude histologique

- ✓ Dissection des animaux et prélèvement du foie et reins juste après quelques instants.
- ✓ Fixation des organes dans une solution de formol à 10%.
- ✓ Découper les pièces d'organes et les placer dans des cassettes.
- ✓ Déshydratation dans un bain d'alcool.
- ✓ Inclusion dans la paraffine à 56-58°C suivi par un refroidissement.
- ✓ Microtomie des blocs à l'aide d'un microtome pour réaliser des coupes d'environ 5µm.

Matériel et méthodes

- ✓ Étalement sur des lames et coloration par l'hématoxyline-éosine.
- ✓ Montage des coupes colorées et observation sous microscope. (**Leslie et al**)



Conclusion

CONCLUSION

Toutes les choses sont poison, et rien n'est sans poison, Seule la dose fait le poison. »
Sentence de Paracelse, le père de la toxicologie. C'est le cas du venin d'abeille et même le safran.

Ce travail réalisé *in vitro* a révélé la richesse de l'extrait du venin d'abeille brut qui a un pouvoir antibactérien et antifongique remarquable, et aussi a montré le pouvoir inhibiteur de l'extrait des feuilles et fleurs du safran contre l'activité du venin d'abeilles.

A propos de l'étude de l'activité antimicrobienne, il ressort que le venin d'abeille a un effet bactéricide sur la majorité des souches à gram positif (*E. faecium*, *B. subtilis* et *S. aureus*) et même pour la levure *C. albicans*, pour les souches à gram négatifs, les résultats ont montré un pouvoir bactériostatique contre les deux souches (*P. aeruginosa*, et *E. coli*).

Pour le test DPPH, on a estimé que le venin a un faible pouvoir anti radicalaire à différents concentrations.

Concernant le test de toxicité *in vivo* la dose à risque a été estimée à partir de 3mg/kg et l'extrait est considéré beaucoup plus comme un produit hépatotoxique.

Actuellement, la recherche scientifique s'intéresse à la médecine traditionnelle, il vise toujours à développer la recherche des ressources naturelles pour la production de nouveaux médicaments à base naturelle, pour cela notre étude nécessite encore des études approfondies sur le plan fonctionnel des molécules du venin et sa combinaison avec le safran. Pour cette raison, on propose quelques perspectives pour les futures recherches.

- ✓ Trouver de nouvelles méthodes d'extraction du venin d'abeilles que ce soit brut ou liquide sans sacrifier les insectes.
- ✓ Extraire et purifier les molécules actives responsables des propriétés antimicrobiennes et antioxydants du venin d'abeilles.
- ✓ Réaliser des études approfondies *in vivo* pour mieux comprendre le mode de fonctionnement du pouvoir antiinflammatoire et même le mécanisme d'action de ces composants majeurs sur l'organisme.
- ✓ Etudier l'effet antagoniste des extraits du safran contre le venin d'abeilles.
- ✓ Arriver à la commercialisation et la production de nouveaux produits médicamenteux à base venin d'abeille domestique de la race de l'ouest algérien et cela reste à exploiter.

A decorative horizontal border with rounded ends, resembling a scroll or a ribbon, with a thin black outline and a light gray shadow effect. The text is centered within this border.

Références bibliographiques

Références bibliographique

A

- **Abedini, A., (2013).** Évaluation biologique et phytochimique des substances naturelles d'Hyptisatrorubens Poit. (Lamiaceae) sélectionnée par un criblage d'extraits de 42 plantes. Thèse de doctorat. Médecine humaine et pathologie. Université du Droit et de la Santé – Lille II-France.
- **Ait B.H. et Chemli A., 2017.** Evaluation de l'activité antioxydant et de l'activité antimicrobienne de l'extrait méthanoïque d'une plante médicinale locale p11-12.
- **Apimondia - standing commission of apithérapie (2001)** Traité d'Apithérapie, La médecine par les abeilles [cédérom] v.1.01 PC-Mac Produit par Api-Ar International SA R Brussels. 2001 ISBN : 2- 9600270-0-0

B

- **Bacher R., 2008.** Les abeilles, le miel et l'apiculture .Ed.Terre vivante .p14.
- **Bharti S, et al.** "Saffron: A promising natural medicine in the treatment of metabolic syndrome." J Sci Food Agric. 2021;101(4):1313-1323.
- **Blanc, Mickaël.** (2010). Propriétés et usage médical des produits de la ruche. Thèse pour le diplôme de l'état du docteur en pharmacie. De l'université de limoges.p 24.

C

- **Czarnetzki, T.** Thiele et T. Rosenbach, « Evidence for leukotrienes in animal venoms », The Journal of allergy and clinical immunology, vol.

Références bibliographique

85, no 2, février 1990, p. 505–509 (PMID 1968071, DOI 10.1016/0091-6749(90)90162-W).

D

- **Deng A**, Chen S, Teng T, et al. The role of mast cell degranulation peptide in regulating the immune response and pathogenesis in allergic diseases. *Clin Rev Allergy Immunol*. 2020 Oct;59(2):225-238. doi: 10.1007/s12016-020-08772-5. PMID: 32239379.
- **Domerego R. & Blanchard C., 2012**. La Thérapie au venin d'abeilles. (Baroch Editions).

F

- **Fayet, A 2015** Foundation, Rudy Fourmy, article Alpha Biotoxine.
- **Francis, J., & Hilliker, A. J. (2015)**. Action et fonction de la phospholipase A2 : une vaste évolution. *FEBS lettres*, 589(13), 1497-1504.
- **Free, J. B. (1987)**. Alarm substances and defensive behavior of social insects. In *Sensory Physiology and Behavior* (Vol. 10, pp. 467-513). Springer.

G

- **Gilles & Paul. F**, ‘Le petit traité Rustica de l'apiculteur débutant’, Edution Rustica-paris-mars2017,p 170.

H

- **Hider, R. C., & Trigg, P. (1983)**. Honey bee venom--a rich source of pharmacologically active peptides. *Endeavour*, 7(1), 22-26.

J

Références bibliographique

- **Jangra A.**, Kasula K., Pandey S.N., Dwivedi V. (2020) Therapeutic Applications of Bee Venom Peptide Mellitin in Neurodegenerative Diseases and Cancer. *Biomolecules*. 10(7):1012.

K

- **Kitouni, M. (2007)**. Isolement de bactéries actinomycétales productrices d'antibiotiques à partir d'écosystèmes extrêmes identification moléculaire des souches actives et caractérisation préliminaire des substances élaborées. Thèse doctorat : Microbiologie : Université Mentouri-Constantine.
- **Kumar A**, Malik F, Bhushan S, Sethi VK, Shahi AK, Kaur J, Taneja SC. In vitro antibacterial, antimycobacterial, and antiplasmodial activities of some synthesized pyrrole derivatives. *Med Chem Res*. 2011;20(1):33-40. doi:10.1007/s00044-010-9229-3.

L

- **Lee J. D.**, Park H. J., Chae Y., & Lim S., 2005. An overview of bee venom acupuncture in the treatment of arthritis. *Evidence-based complementary and alternative medicine* 2 (1): 79- 84.
- **Leslie P.** Gartner et James L. Hiatt. "A Guide to Histology: An Introduction to the Study of Tissues".

M

- **Moshiri, M.**, Vahabzadeh, M., Hsseinzadeh, H. (2015). Clinical application of saffron (*Crocus sativus*) and its constituents. *A Review Drug Res (Stuttg)*, 65(6):287-95.
- **Moshafi, M. H.**, et al. "Chemical composition, antioxidant, antimicrobial and cytotoxic activities of essential oil of Iranian Saffron (*Crocus sativus* L.)." *Journal of Essential Oil Bearing Plants* 14.2 (2011): 186-195.

N

- **Nicolý Jean** : Perspectives d'avenir en Apithérapie à l'officine, Thèse Pour l'obtention d'un Diplôme de Docteur en Pharmacie, Université d'Angers, France, 2014, P 52-53
Parkinson disease mouse model. 2013. Vol. 8, n° 4, pp. e61700

P

- **Pérez-Delgado O**, Espinoza-Culupú AO, López-López E. Antimicrobial Activity of *Apis mellifera* Bee Venom Collected in Northern Peru. *Antibiotics* (Basel). 2023 Apr 19;12(4):779. doi: 10.3390/antibiotics12040779. PMID: 37107142; PMCID: PMC10135115.
- **Plettner, E.**, Otis, G.W., Wimalaratne, P.D., & Winston, M.L. (1997). Queen recognition in the facultatively polygynous honey bee, *Apis mellifera* L.: the role of cuticular lipids. *Insectes Sociaux*, 44(4), 363-378.

R

- **Rahal, K. (2008)**. Standardisation de l'Antibiogramme en Médecine Humaine à l'Échelle Nationale selon les recommandations de l'OMS. 5ème Edition. Ed Ministère de la Santé. De la Population et de la Réforme Hospitalière, Algérie.
- **Rilla K**, Siiskonen H, Tammi M, Tammi R. Hyaluronan-coated extracellular vesicles - a novel link between hyaluronan metabolism, inflammation and cancer. *Cells*. 2019 Apr 16;8(4):e420. doi: 10.3390/cells8040420. PMID: 30995781.
- **Roch, D & Théodore, C.** « L'apithérapie Médecine des abeilles ». *JC Latés* 2001, P 9 ; 212.

S

- **Scheau M, Fuiorea N.** « Apithérapie roumaine. Passé et actualité » in A. 7. Medical and Pharmaceutical Sciences, International Congress of the History of Science. 16th. Proceedings. A. Scientific Sections, 1981
- **Song J, Luo D, Wang Q, et al.** Bee venom: the natural cure for arthritis in traditional and modern medicine. *Biomolecules*. 2020;10(8):1123. Published 2020 Aug 7. doi:10.3390/biom10081123.
- **Santu Bera et al.** (2021) Bee Venom: Components, Quality Control, Bioactive Compounds, and Health Benefits.

T

- **Tewtrakul S., Subhadhirasakul S., Kummee S.** (2016) Anti-allergic activity of apamin from bee venom: modulation of the histamine release in response to anti-IgE and concanavalin A. *Immunopharmacology and Immunotoxicology*. 38(4): 298-304.

V

- **Vitali, L.A., Beghelli, D., BiapaNya, P.C.** (2016). Diverse biological effects of the essential oil from Iranian *Trachyspermum ammi*. *Arabian J Chem*, 9(6):775-786.

W

- **Wallmark E, Svensson C, Oscarson M.** Identification and characterization of enzymes involved in the metabolism of histamine in the human ovarian carcinoma cell line, PA-1. *PLoS One*. 2018 Nov 16;13(11):e0206701. doi: 10.1371/journal.pone.0206701. PMID: 30444819.

Z

Références bibliographique

- **Zhao H**, Lin D, Zhang L, et al. Anti-inflammatory effects of chlorogenic acid in hypoxia/reoxygenation- stimulated human umbilical vein endothelial cells (HUVECs) and its protective effects on endothelial dysfunction. *Int Immunopharmacol.* 2018;56:47-54. doi:10.1016/j.intimp.2018.01.

الملخص

سم النحل من فصيلة *Api mellifera* والزعفران من نبات *Crocus sativus* مادتان طبيعيتان مختلفتان تماما، إحداهما سموم وذات طبيعة بروتينية، والأخرى ذات طبيعة نباتية، فضائل جزيئات منتجاتها وهي معروفة على نطاق واسع في العالم العلاجي والطب التقليدي، وذلك بفضل ثرائها بالمحتوى النشط بيولوجيا. هدفنا من العمل يهدف إلى جزأين تجريبيين، لفهم أفضل للأنشطة البيولوجية الرئيسية لمنتجاتها الطبيعية. جزء مختبري لتقييم النشاط المضاد للميكروبات للمستخلصين المستخدمين، من ناحية السم وحده ومن ناحية أخرى خليط الزعفران (الأوراق والأزهار) والسموم بالإضافة إلى النشاط المضاد للأكسدة للسم بواسطة اختبار DPPH لمسح الجذور الحرة. الجزء الثاني في الجسم الحي يتكون من تقييم سمية سم النحل في فئران ويستار. ووفقا للنتائج التي تم الحصول عليها، أظهر سم النحل نشاطا مضادا للميكروبات مثيرا للاهتمام ضد جميع السلالات التي تم اختبارها. *Pseudomonas aeruginosa*، *Candida albicans*، ومن ناحية أخرى فإن الخليط يؤدي إلى انخفاض القوة المضادة للميكروبات وبالتالي تم تقدير التأثير السلبي لمستخلص السم والزعفران (سلالتان فقط تم اختبارهما لمستخلص الخليط *P.aeruginosa* و *C.albican*)، فيما يتعلق بقوة مضادات الأكسدة، لوحظ نشاط ضعيف مضاد للجذور (EC50=20.11±1.7mg/ml)، بالنسبة لاختبار السمية، تم تحديد المخاطر وتقدير الجرعة ابتداء من 3 ملغم/كغم. لذلك استنتجنا أن سم النحل وأوراق وأزهار الزعفران المحصودة من غرب الجزائر لها مجموعة واسعة من الخصائص الطبية الحيوية والدوائية التي لا يزال يتعين استغلالها.

الكلمات المفتاحية: *Api mellifera* : *Crocus sativus*، نشاط مضاد للميكروبات، سم النحل، النشاط المضاد للأكسدة.

Résumé

Le Venin d'abeille de l'espèce *Apis mellifera* et le Safran issus de la plante *Crocus sativus*, se sont deux matières naturelles complètement différentes l'un contient des toxines et d'une nature protéique, et l'autre de nature végétale, les vertus des molécules de ses produits sont largement connues dans le monde thérapeutique et la médecine traditionnelle, grâce à leur richesse en composés bioactifs.

Notre but de travail a été concentré sur deux parties expérimentales, pour mieux comprendre les activités biologiques clés de ses produits naturels. Une partie *in vitro* pour l'évaluation de l'activité antimicrobiennes des deux extraits utilisés, d'une part le venin seul et d'autre part le mélange Safran (feuille et fleurs)-Venin d'abeilles, plus l'activité anti-oxydante du Venin par le test de piégeage du radical libre DPPH. Une deuxième partie *in vivo* consiste à évaluer La toxicité du venin chez les rats *wistars*.

Selon les résultats obtenus, le venin d'abeille a montré une activité antimicrobienne intéressante contre tous les souches testés. *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterococcus faecium*, *Echerichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, et *Candida albicans*, Par contre le mélange montre un faible pouvoir antimicrobienne ont été estimés donc une synergie négative pour l'extrait venin-safran (juste deux souches testés pour l'extrait mélange *P.aeruginosa* et *C.albican*), A propos du pouvoir antioxydant une faible activité anti radicalaire a été observée (EC50=20.11±1.7mg/ml), Pour le test de toxicité la dose à risque est estimée à partir de 3mg/kg.

Donc on a conclu que le Venin d'abeille et les feuilles et fleurs du Safran récoltées de l'ouest algérien ayant un large champ de propriétés bio médicinales et pharmacologiques qui restent d'être exploiter.

Mots clés : *Api mellifera* , *Crocus sativus*, Activité antimicrobiennes, Venin d'abeilles , Activité anti-oxydante

Abstract

Bee venom from the *Api mellifera* species, and Saffron from the *Crocus sativus* plant. are two completely different natural materials, one of which is toxins and of a protein nature, and the other is of a plant nature, the virtues of the molecules of its products are widely known in the therapeutic world and traditional medicine, thanks to their richness in bioactive content.

Our goal of work is divided at two experimental parts, to better understand the key biological activities of its natural products. An *in vitro* part for the evaluation of the antimicrobial activity of the two extracts used, on the one hand the venom alone and on the other hand the Saffron (leaf and flowers)-Venom mixture, and the anti-oxidant activity of the Venom by the DPPH free radical scavenging test. A second *in vivo* part consists of evaluating the toxicity of the venom in *wistar rats*.

According to the results obtained, bee venom showed interesting antimicrobial activity against all the strains tested. *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterococcus faecium*, *Echerichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, and *Candida albicans*, On the other hand the mixture results in a low antimicrobial power were estimated therefore a negative synergy for the venom extract- saffron (just two strains tested for the *P.aeruginosa* and *C.albican* mixture extract), Regarding the antioxidant power, a weak anti-radical activity was observed (EC50=20.11±1.7mg/ml), For the toxicity test the Risk dose is estimated from 3 mg/kg.

Therefore, we concluded that bee venom and the leaves and flowers of Saffron harvested from western Algeria have a wide range of bio-medicinal and pharmacological properties, which remain to be exploited.

Keywords :

Api mellifera, *Crocus sativus*, Antimicrobial activity, Bee venom, Anti-oxidant activity.