

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE IBN KHALDOUN, TIARET
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
DEPARTEMENT DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE



THÈSE

Présentée pour l'obtention du Diplôme
de

DOCTORAT EN SCIENCES

Spécialité

Sciences de la Nature et de la Vie

par

M^{lle} Leila AÏT ABDERRAHIM

Intitulée

**Etude de l'activité biologique (antioxydante, antimicrobienne
et cicatrisante) de quelques préparations thérapeutiques à
base de miel et de plantes médicinales.**

Soutenu publiquement le : Mardi 16/01/2018 à 9 :30.

Devant les membres de jury :

Président	Abdellatif NIAR	Prof.	Université Ibn Khaldoun, Tiaret.
Examineur	Abdelkader HOMRANI	Prof.	Université Ibn Badis, Mostaganem.
Examineur	Saïd NEMMICHE	Prof.	Université Ibn Badis, Mostaganem.
Examineur	Mohamed Ahmed BEKADA	Prof.	Centre Universitaire de Tissemsilt.
Examineur	Mohamed SASSI	MCA	Université Ibn Khaldoun, Tiaret.
Directeur	Khaled TAÏBI	MCA	Université Ibn Khaldoun, Tiaret.

Année universitaire 2017-2018

REMERCIEMENTS

Louange à Dieu le tout puissant qui a permis l'achèvement de ce travail

Tout d'abord je remercie mon directeur de thèse le Docteur Khaled TAÏBI qui m'a accompagné tout au long de ma formation. Sa disponibilité, son aide et ses généreux secours au cours de certains de mes moments difficiles ont été d'une très grande valeur, et d'un immense réconfort; merci infiniment.

Mes remerciements vont aux membres du jury : Prof. NIAR A., Prof. HOMRANI A., Prof. NEMMICHE S., Prof. BEKADA MA. et Dr. SASSI M. d'avoir consacré de leurs temps pour lire et évaluer cette thèse ainsi que pour leurs critiques constructives. Recevez ma sincère gratitude et ma profonde reconnaissance.

Je tiens à remercier vivement le Prof. Javier BOIX, Prof. Amparo RUIZ-SAURIA et Dr. Teresa SAGRADO VIVES ; de nous avoir ouvert et accueilli dans leur laboratoire et surtout pour nous avoir permis d'acquérir de nouvelles connaissances, retrouvez ici ma sincère reconnaissance et mes sincères respects.

Je remercie Dr. Chahra MAKHLOUFI, Dr. BOUSSAID M., M^{lle} Fatima ABDELLAH et Dr. ACHIR M. pour leur aide et leurs conseils précieux.

Je remercie aussi M. KHAN M., M. SAID ABK., M. BENHALIMA H., M^{lle} SOUALMI K. ainsi que tous les ingénieurs de laboratoire de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université Ibn Khaldoun de Tiaret ; pour leur dévouement et leur disponibilité.

Les mots ne peuvent exprimer ma profonde gratitude et mes remerciements à ma famille qui m'a toujours soutenue et encouragée à aller plus loin ; MERCI.

Enfin, je remercie toute personne ayant contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce travail.

DEDICACES

À ceux qui m'ont indiqués la bonne voie en me rappelant que la volonté fait toujours les grands hommes...

À mes chers parents ;

Papa (que Dieu l'accueille dans son vaste Paradis) et Mama
Qu'ils soient toujours fiers de leurs enfants.

À mes chers Grands-parents ;

Qui m'ont toujours soutenus par leurs mots et prières et encouragés à aller plus loin.

À toute ma chère famille ;

Mon frère, mes sœurs, mes neveux ainsi que mes oncles, tantes, cousins et cousines ;
Merci

À mon âme-sœur ;

Khaled, qui m'a soutenu dans les moments les plus durs et qui m'a donné foi en moi.
Les mots ne peuvent décrire la gratitude, l'amour, le respect et la reconnaissance que je te porte.

À mes amis ;

May Serdaneh, Baker Alsharaa, Hadeel Aljamel, Anas Alomari, Ghariba et Mouna.

Je vous aime

ملخص

تندرج هذه الدراسة في إطار تطوير و تسيير الموارد الوراثية النباتية و خبرة السكان المحليين في الطب التقليدي من خلال تقييم نشاط مضادات الأكسدة، مضادات الميكروبات والقدرة على تفعيل اندمال الجروح لبعض المنتجات الطبيعية المتمثلة في عسل منتج محليا بالإفافة لنباتات مستخدمة في الطب التقليدي المحلي؛ سدر اللوتس (*Ziziphus lotus*)، الحرمل (*Peganum harmala*)، البصل (*Allium cepa*)، الثوم (*Allium sativum*) و السيرسيوم (*Cirsium dissectum*).

تم تقييم النشاط المضاد للميكروبات للمنتجات الطبيعية المختبرة على أربع سلالات ميكروبية: المكورات العنقودية الذهبية (*Staphylococcus aureus*)، الإشريكية القولونية (*Escherichia coli*)، الزائفة الزنجارية (*Pseudomonas aeruginosa*) و المبيضات البيضاء (*Candida albicans*). بعد ذلك، تم تقييم النشاط المضاد للميكروبات لمزيج خلطات العسل مع المستخلصات النباتية. فيما بعد، تم تقييم نشاط أكسدة المتجزرات (DPPH) و كمية البوليفينول والفلافونويد للمنتجات الطبيعية والمخاليط. في الأخير، تم اختبار نشاط تفعيل اندمال الجروح الناجمة عن الحروق على فئران تجارب Balb/C من خلال معاينة حركية الاندمال، الوقت اللازم لإعادة تجديد طبقات الجلد بالإفافة لدراسة الأنسجة.

و لقد أظهر العسل تأثير مضاد للميكروبات على جميع السلالات المختبرة. من ناحية أخرى، أظهر مستخلص نبات السدر تأثير مثبت على البكتيريا فقط. بالإفافة إلى ذلك، لم يظهر مستخلص نبات البصل أي تأثير مثبت على البكتيريا سالبة الجرام. وفيما يتعلق بالنشاط المضاد للميكروبات لخليط العسل و النباتات؛ كان تأثير خليط العسل و مستخلص الثوم الأكثر فعالية على جميع سلالات الاختبار في حين لم يظهر أي نشاط مثبت لمزيج العسل و مستخلص الحرمل. من جهة أخرى، أظهر مستخلص نبات السدر و الحرمل نشاط معتبر مضاد للأكسدة. هذا و قد أظهر العسل وخليط العسل مع مستخلصات السدر، الحرمل و السيرسيوم نشاط مضاد للأكسدة عالي نسبيا. و قد ارتبط نشاط مضادات الأكسدة ارتباطا وثيقا مع كمية البوليفينول والفلافونويد. بالإفافة إلى ذلك، تم شفاء الجروح التي عولجت عند كلا الجنسين بمستخلصات السدر، السيرسيوم، العسل ومزيج العسل بمستخلصات السدر و البصل. و لقد أظهرت النتائج أيضا نشاط جيد لمستخلص البصل ومزيج العسل و السيرسيوم. و على العكس، أدى استخدام مستخلص الحرمل وحده أو كمزيج مع العسل إلى التهاب كبير وتأخر في سرعة اندمال الجروح.

وتؤكد النتائج المتحصل عليها القدرات العلاجية الفعالة للمنتجات الطبيعية وفوائد المعارف التقليدية للسكان المحليين كما تدعم مبدأ التأزر بين المنتجات الطبيعية المختبرة مما يدعو إلى تطوير استخدامها في مختلف المجالات الطبية والغذائية والصيدلانية، ... الخ.

كلمات مفتاحية

المنتجات الطبيعية، النباتات العطرية والطبية، العسل، النشاط البيولوجي، النشاط المضاد للميكروبات، النشاط المضاد للأكسدة، اندمال الجروح، تأثير التأزر.

Résumé

La présente étude s'inscrit dans le cadre de la valorisation des ressources phytogénétiques et des savoir-faire locaux en médecine traditionnelle. Elle consiste à évaluer l'activité antioxydante, antimicrobienne et cicatrisante d'un miel produit localement et de quelques plantes utilisées en médecine traditionnelle locale et dont l'effet de certaines est déjà connu ; *Ziziphus lotus*, *Peganum harmala*, *Allium cepa*, *Allium sativum* et *Cirsium dissectum*.

L'activité antimicrobienne des produits testés est évaluée sur quatre souches microbiennes : *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Candida albicans*. Ensuite, l'activité antimicrobienne synergique des mixtures 'miel-extrait de plante' est également appréciée. Dans un second temps, l'activité antioxydante des produits et des mixtures est évaluée par la mesure de l'activité antiradicalaire et la quantification des polyphénols et flavonoïdes totaux. Finalement, l'activité cicatrisante des produits et des mixtures est testée sur des plaies de brûlures induites chez des souris Balb/C à travers le suivi de la cinétique de cicatrisation, du temps nécessaire à la réépithélialisation et par l'étude histologique.

Les extraits d'*A. sativum* et *P. harmala* et le miel présentent un meilleur effet antimicrobien sur toutes les souches testées. En revanche, l'extrait de *Z. lotus* ne présente d'inhibition que sur les bactéries. De plus, l'extrait d'*A. cepa* n'a pas inhibé les bactéries Gram négatif. Concernant l'activité antimicrobienne synergique, la mixture 'miel-*A. sativum*' est la plus efficace sur toutes les souches testées alors qu'aucune synergie n'est constatée pour la mixture 'miel-*P. harmala*'. En outre, les extraits de *Z. lotus* et *P. harmala* présentent une meilleure activité antiradicalaire. Toutefois, le miel et les mixtures 'miel-*Z. lotus*', 'miel-*P. harmala*' et 'miel-*C. dissectum*' ont démontré une activité antioxydante relativement élevée. L'activité antioxydante est corrélée significativement avec les teneurs en polyphénols et flavonoïdes totaux. De plus, les plaies de brûlures ayant manifesté une meilleure cicatrisation, chez les deux sexes, sont celles traitées par l'extrait de *Z. lotus*, le gel de *C. dissectum*, le miel et les mixtures 'miel-*Z. lotus*' et 'miel-*A. cepa*'. Le jus d'*A. cepa* et la mixture 'miel-*C. dissectum*' ont également démontré une bonne activité cicatrisante. Cependant, l'extrait de *P. harmala* seul ou en mélange avec le miel induit une inflammation importante et un retard de cicatrisation.

Ces résultats confirment par une approche scientifique le potentiel thérapeutique des produits naturels et les savoirs traditionnels locaux et soutiennent le principe de la synergie entre les produits testés pour leur valorisation dans les secteurs médicale, agroalimentaires, pharmaceutique, ...etc.

Mots clés

Produits naturels, plantes aromatiques et médicinales, miel, activité biologique, Activité antimicrobienne, activité antioxydante, cicatrisation, effet synergique.

Abstract

This study is a contribution to the development and management of plant genetic resources and to promote local knowledge in traditional medicine. It consists in the evaluation of the antioxidant, antimicrobial and wound healing activities of locally produced honey and some plants widely used in local traditional medicine with already known effects; *Ziziphus lotus*, *Peganum harmala*, *Allium cepa*, *Allium sativum* and *Cirsium dissectum*.

The antimicrobial activity of the tested natural products is evaluated on four microbial strains: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Candida albicans*. Then, the synergistic antimicrobial activity of the mixtures 'honey-plant extract' is also appreciated. In a second step, the antioxidant activity of the natural products and mixtures is evaluated by the measurement of the antiradical activity and the quantification of total polyphenols and flavonoids. Finally, the wound healing activity of the natural products and the mixtures is tested on induced burn wounds in Balb/C mice by monitoring the kinetics of wound healing, the time required for reepithelialization and through the histological study.

The extracts of *A. sativum* and *P. harmala* as well honey showed a good antimicrobial effect on all the tested strains. However, *Z. lotus* extract showed inhibition only on bacteria. In addition, the extract of *A. cepa* did not inhibit Gram-negative bacteria. Regarding synergistic antimicrobial activity, the mixture 'honey-*A. sativum*' was the most effective on all the tested strains whereas no synergy was found for the mixture 'honey-*P. harmala*'. Besides, the extracts of *Z. lotus* and *P. harmala* exhibited a good antiradical activity. However, honey and the mixtures 'honey-*Z. lotus*', 'honey-*P. harmala*' and 'honey-*C. dissectum*' demonstrated relatively high antioxidant activity. The antioxidant activity is significantly correlated with total polyphenol and flavonoid contents. On the other hand, burn wounds that showed better healing in both sexes were those treated with *Z. lotus* extract, *C. dissectum* gel, honey, and the mixtures 'honey-*Z. lotus*' and 'honey-*A. Cepa*'. The juice of *A. cepa* and the mixture 'honey-*C. dissectum*' have also demonstrated a good healing activity. However, *P. harmala* extract alone or mixed with honey induced significant inflammation and delayed significantly wound healing.

The obtained results confirm with a scientific basis the therapeutic potential of natural products and local traditional knowledge and support the principle of synergy between the tested natural products for their development in the medical, food and pharmaceutical sectors.

Keywords

Natural products, aromatic and medicinal plants, honey, biological activity, antimicrobial activity, antioxidant activity, wound healing, synergistic effect.

Signification des symboles et des abréviations

ATCC	: American Type Cell Culture
CI 50	: Concentration inhibant 50 % de l'activité des radicaux DPPH
CMI	: Concentration minimale inhibitrice
DPPH	: 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle
EqAA	: Equivalent en acide ascorbique
EqAG	: Equivalent en acide gallique
EqQ	: Equivalent en quercétine
PAM	: Plante aromatique et médicinale
pH	: Potentiel d'hydrogène

Liste des figures

Figure 1. <i>Ziziphus lotus</i> L.	16
Figure 2. <i>Peganum harmala</i>	17
Figure 3. <i>Cirsium dissectum</i> a) feuilles, b) fleur.	19
Figure 4. <i>Allium cepa</i>	20
Figure 5. <i>Allium sativum</i>	22
Figure 6. Représentation schématique de la peau humaine.....	24
Figure 7. Observation microscopique de l'épiderme.....	25
Figure 8. Représentation schématique de l'épiderme humain.....	26
Figure 9. Observation microscopique de la peau.....	27
Figure 10. Degrés de brûlures.....	30
Figure 11. Evaluation de la surface corporelle brûlée par la règle des neuf de Wallace chez l'adulte (Yasti et al. 2015).....	31
Figure 12. Phases de la cicatrisation de la plaie cutanée (Schäfer et Werner 2008).	38
Figure 13. Graines de <i>Peganum harmala</i>	40
Figure 14. Tige de <i>Z. lotus</i>	40
Figure 15. Partie aérienne (a) et racines de <i>Cirsium dissectum</i> (b).	41
Figure 16. Miel	41
Figure 17. Isoboles des différents types d'interactions selon Berenbaum (1977).....	47
Figure 18. Induction des brûlures.	49
Figure 19. Extraits des plantes étudiées : (a) <i>C. dissectum</i> , (b) <i>A. sativum</i> , (c) <i>A. cepa</i> , (d) <i>Z. lotus</i> , (e) <i>P. harmala</i>	52
Figure 20. Grains de pollens d'Euphorbiaceae identifiés à partir du miel étudié.....	53
Figure 21. Observation microscopique des souches microbiennes testées après coloration de Gram (a, b, c) et coloration simple (d)	54
Figure 22. Activité antimicrobienne synergique de la mixture miel - <i>A. sativum</i>	56
Figure 23. Activité antimicrobienne synergique de la mixture miel - <i>Z. lotus</i>	57

Figure 24. Activité antimicrobienne synergique de la mixture miel - <i>A. cepa</i>	58
Figure 25. Activité anti-radicalaire du miel, des extraits de plantes et de leurs mixture.	60
Figure 26. Teneurs en polyphénols totaux du miel, des extraits de plantes et de leurs mixture.	61
Figure 27. Teneurs en flavonoïdes totaux du miel, des extraits de plantes et de leurs mixture.	62
Figure 28. Evolution de la réépithélialisation des plaies de brûlures des mâles et des femelles de souris Balb/C sous les différents traitements.	64
Figure 29. Evolution de la réépithélialisation des plaies de brûlures chez les mâles et les femelles de souris Balb/C traitées par la sulfadiazine argentique, le miel, le gel de <i>C. dissectum</i> et la mixture ‘miel – <i>C. dissectum</i> (M-C)’.	65
Figure 30. Evolution de la réépithélialisation des plaies de brûlures chez les mâles et les femelles de souris Balb/C traitées par l’ <i>A. sativum</i> , l’ <i>A. cepa</i> et les mixture ‘miel- <i>A. sativum</i> (M-As)’ et ‘miel – <i>A. cepa</i> (M-Ac)’.	66
Figure 31. Evolution de la réépithélialisation des plaies de brûlures chez les mâles et les femelles de souris Balb/C traitées par <i>Z. lotus</i> , <i>P. harmala</i> et les mixture ‘miel – <i>Z. lotus</i> (M-Z)’ et ‘miel – <i>P. harmala</i> (M-P)’.	67
Figure 32. Evolution de la surface de cicatrisation des plaies de brûlures des différents traitements appliqués sur les mâles de souris Balb/C.....	68
Figure 33. Evolution de la surface de cicatrisation des plaies de brûlures des différents traitements appliqués sur les femelles de souris Balb/C.....	69
Figure 34. Observation de coupes histologiques de la peau saine chez les souris Balb/C mâles et femelles	70
Figure 35. Observation des coupes histologiques des plaies de brûlures induites chez les souris Balb/C traitées par les différents traitements étudiés.	71
Figure 36. Epaisseur de l’épiderme des plaies de brûlures sous les différents traitements appliqués chez les mâles et les femelles de souris Balb/C.	72
Figure 37. Densité de fibroblastes dans les plaies de brûlures sous les différents traitements appliqués chez les mâles et les femelles de souris Balb/C.	73

Liste des tableaux

Tableau 1. Estimation de la surface brulée par la table de Lund et Browder (Breden Toulouse 2006)	31
Tableau 2. Rendement, pH et conductivité électrique des extraits des plantes étudiées	52
Tableau 3. pH et conductivité électrique des mélanges miel - extraits végétaux.	53
Tableau 4. Concentrations minimales inhibitrices des différents produits naturels analysés sur les souches microbiennes testées.....	55
Tableau 5. Activité antimicrobienne synergique du mélange Miel – <i>A. sativum</i> (M- As).....	56
Tableau 6. Activité antimicrobienne synergique du mélange miel – <i>Z. lotus</i> (M-Z)...	57
Tableau 7. Activité antimicrobienne synergique du mélange miel – <i>A. cepa</i> (M-Ac).	57
Tableau 8. Activité antimicrobienne synergique du mélange miel – <i>P. harmala</i> (M- P).....	58
Tableau 9. Concentration inhibitrice de 50 % des radicaux DPPH des produits naturels testés.	59

Table des matières

- Résumés	
- Signification des symboles et des abréviations	I
- Liste des figures	II
- Liste des tableaux.....	IV
- Table des matières	V
- Introduction	1

CHAPITRE I - SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

1. Médecine traditionnelle.....	4
1.1. Produits naturels	5
1.2. Phytothérapie	5
1.2.1. Plantes aromatiques et médicinales	6
1.3. Apithérapie	6
1.4. Ethnobotanique et ethnopharmacologie.....	7
2. Activité biologique des produits naturels	9
2.1. Activité antioxydante.....	9
2.2. Activité antimicrobienne.....	9
2.3. Activité cicatrisante.....	10
2.4. Effet synergique	11
3. Produits naturels étudiés et utilisés en médecine traditionnelle Algérienne.....	13
3.1. Miel	13
• Description	13
• Composition	14
• Types de miels.....	14
• Propriétés biologiques.....	15
3.2. <i>Ziziphus lotus</i> L.	15
• Description	15
• Aire de répartition.....	16
• Composition	16
• Propriétés biologiques.....	16

3.3. <i>Peganum harmala</i> L.....	17
• Description	17
• Aire de répartition.....	17
• Composition.....	18
• Propriétés biologiques.....	18
3.4. <i>Cirsium dissectum</i>	19
• Description	19
• Aire de répartition.....	19
• Composition.....	20
• Propriétés biologiques.....	20
3.5. <i>Allium cepa</i>	20
• Description	20
• Aire de répartition.....	20
• Composition.....	21
• Propriétés biologiques.....	21
3.6. <i>Allium sativum</i>	22
• Description	22
• Aire de répartition.....	22
• Composition chimique.....	23
• Propriétés biologiques.....	23
4. La peau	24
4.1. Description et fonctions.....	24
4.1.1. L'épiderme.....	24
a. Stratum corneum (couche cornée)	25
b. Stratum lucidum (couche claire)	25
c. Stratum granulosum (couche granuleuse).....	25
d. Stratum spinosum (couche épineuse, spineuse ou de Malpighi).....	26
e. Stratum basale ou stratum germinativum (couche germinative)	26
4.1.2. Derme.....	26
a. Derme papillaire	27
b. Derme réticulaire	27
4.1.3. Hypoderme.....	27
4.2. Différences entre la peau humaine et celles des animaux d'expériences	28
4.2.1. Particularités de la peau de souris.....	28

5. Les brûlures	29
5.1. Généralités	29
5.2. Critères de gravité	29
5.2.1. Degré de gravité ou profondeur.....	29
a. Brûlure du premier degré	29
b. Brûlure du deuxième degré	29
c. Brûlure du troisième degré.....	30
5.2.2. Etendue ou surface brûlée.....	30
5.2.3. Localisation des brûlures	30
5.2.4. Aspects d'une brûlure	32
a. La rougeur	32
b. Les cloques ou phlyctènes	32
c. La carbonisation	32
5.2.5. Douleur de la brûlure	32
5.2.6. Infection.....	32
5.3. Traitement des brûlures	33
5.4. Cicatrisation des plaies de brûlures	33
5.4.1. Cicatrisation par première et par seconde intention.....	34
a. par première intention	34
b. par seconde intention	34
5.4.2. Mécanismes physiologiques de la cicatrisation.....	34
5.4.2.1. Phase inflammatoire.....	34
5.4.2.2. Phase proliférative (réépithélialisation et formation du tissu de granulation)...	35
5.4.2.3. Phase de maturation ou de remodelage	37

CHAPITRE II - MATERIEL ET METHODES

1. Matériel végétal et préparation des extraits	39
• <i>Allium cepa</i>	39
• <i>Allium sativum</i>	39
• <i>Peganum harmala</i>	39
• <i>Ziziphus lotus</i>	40
• <i>Cirsium dissectum</i>	40
2. Miel	41
2.1. pH et conductivité électrique	41

2.2. Teneur en eau	42
2.3. Etude méliissopalynologique du miel	42
• Identification des grains de pollens	42
• Analyse pollinique quantitative	43
3. Souches microbiennes.....	44
• <i>Staphylococcus aureus</i>	44
• <i>Escherichia coli</i>	44
• <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	44
• <i>Candida albicans</i>	44
3.1. Préparation de l'inoculum standardisé.....	45
4. Animaux d'expérience.....	45
5. Caractérisation de l'activité biologique	46
5.1. Activité antimicrobienne.....	46
a. Concentration minimale inhibitrice (CMI)	46
b. Activité antimicrobienne synergique miel - extraits de plantes médicinales	46
5.2. Activité antioxydante.....	47
a. Activité anti-radicalaire.....	48
b. Polyphénols totaux	48
c. Flavonoïdes totaux	49
5.3. Activité cicatrisante.....	49
a. Traitement des plaies	50
b. Cinétique de cicatrisation.....	50
c. Epithélialisation des plaies	50
d. Etude histologique.....	50
6. Analyse statistique.....	51

CHAPITRE III – RESULTATS

1. Caractérisation du matériel biologique	52
1.1. Extraits végétaux.....	52
1.2. Miel	53
• Propriétés	53
• Caractérisation méliissopalynologique	53
1.3. Mixtures Miel - Extraits végétaux.....	53
1.4. Souches microbiennes.....	54

2. Activité biologique.....	55
2.1. Activité antimicrobienne.....	55
2.1.1. Concentration minimale inhibitrice (CMI)	55
2.1.2. Activité antimicrobienne synergique.....	55
• Miel – <i>A. sativum</i> (M-As).....	55
• Miel – <i>Z. lotus</i> (M-Z)	56
• Miel – <i>A. cepa</i> (M-Ac).....	57
• Miel – <i>P. harmala</i> (M-P)	58
2.2. Activité antioxydante.....	59
2.2.1. Activité anti-radicalaire	59
2.2.2. Polyphénols totaux.....	60
2.2.3. Flavonoïdes totaux	61
3. Activité cicatrisante.....	63
3.1. Réépithélialisation des plaies	63
• Chez les mâles	63
• Chez les femelles	63
3.2. Cinétique de cicatrisation.....	68
• Chez les mâles	68
• Chez les femelles.....	69
3.3. Etude histologique	70
3.3.1. Epaisseur de l'épiderme.....	72
3.3.2. Densité des fibroblastes.....	73
• Chez les mâles	73
• Chez les femelles.....	73
3.3.3. Collagène et structures annexes.....	74
- Discussion	75
- Conclusion et perspectives	86
- Références bibliographiques	
- Annexes	

Introduction

Introduction

Depuis les temps anciens les substances isolées à partir des plantes et des animaux ont été utilisées par l'Homme afin d'assouvir ses besoins alimentaires ainsi que pour se soigner. La connaissance ancestrale des propriétés thérapeutiques des produits naturels tient au contact continu des hommes avec la nature; à la recherche de point de ravitaillement pour eux ainsi que pour leurs bétails (Barnes et al. 2007). De plus, l'instinct de survie et le besoin d'apaiser la souffrance que causaient les innombrables maladies et autres épidémies les touchant ont également motivé le recours aux produits naturels, ce qui a favorisé la découverte de diverses substances naturelles notamment des plantes aux vertus aromatiques et thérapeutiques. Ces incessantes découvertes s'ajoutent à l'immense héritage culturel et scientifique légué par les différentes civilisations (pharaonique, musulmane, persane, mésopotamienne, romaine, ... etc.) présentent à travers le monde entier (Kasilo et Trapsida 2010).

Toutefois, avec le développement de l'industrie chimique et pharmaceutique, les produits de synthèse ont pris le dessus et les produits naturels ont peu à peu été délaissés notamment dans les pays développés. Cependant, avec le temps les médicaments de synthèse ont commencé à exhiber des effets secondaires ce qui a conduit le retour aux produits naturels (Kasilo et Trapsida 2010).

Actuellement, les propriétés antioxydantes des produits naturels sont massivement étudiées pour la recherche d'un apport supplémentaire de composés antioxydants afin de prévenir les dommages du stress oxydatif mis en cause dans la pathogenèse de nombreuses maladies humaines telles que certains cancers, les maladies cardiovasculaires et les maladies dégénératives liées au vieillissement (Birben et al. 2012). De plus, les antioxydants de synthèse généralement utilisés en industrie alimentaire pour retarder l'oxydation des lipides se sont avérés responsables d'effets indésirables conduisant à la perte de la qualité et de la sécurité des aliments (Noori 2012).

D'autre part, l'usage excessif d'agents antimicrobiens chimiques dans la médication humaine ainsi que dans l'élevage animal a conduit à l'apparition de souches microbiennes résistantes (Mau et al. 2004). Ainsi, face aux limites thérapeutiques des médicaments chimiques, les scientifiques se sont tournés vers la nature à la recherche de nouvelles molécules à effet thérapeutique. Les produits naturels ont le potentiel d'affecter un éventail beaucoup plus large de microorganismes que les produits chimiques de synthèse (Gyawali et Ibrahim 2014).

En outre, les brûlures sont considérées comme l'une des formes de blessures les plus communes et les plus dévastatrices. Un nombre important de décès dus aux brûlures est signalé dans le monde et des millions de cas de brûlures cutanées sont enregistrées chaque année (Church et al. 2006). Les complications suites aux brûlures sont l'une des pathologies les plus difficiles à traiter et dépendent de l'étendue et de la profondeur des lésions. Dans les brûlures cutanées mineures, les herbes médicinales contenant des flavonoïdes et tanins avec effets astringent, antiseptique, anti-inflammatoire et cicatrisant capables d'accélérer la guérison des tissus endommagés sont utilisées (Mogosanu et al. 2012). Cependant, la principale complication des brûlures graves est l'infection microbienne; celle-ci peut résulter en l'arrêt du processus de cicatrisation et approfondir les lésions. L'infection représente la principale cause de morbidité et de mortalité chez les grands brûlés (Church et al. 2006; Essayagh 2013).

L'utilisation des médicaments conventionnels dans le traitement des brûlures, en plus de leur coût qui parfois n'est pas abordable ou de leur indisponibilité, a entraîné des effets secondaires tels que les allergies, la toxicité et la résistance microbienne (Zhang et al. 2015). Ces effets sont aussi le résultat de l'utilisation à tort et à travers des divers médicaments, ce qui a créé un réel fléau qui s'est propagé dans le monde entier causant un grave problème de santé publique (Chanda et Rakholiya 2011; Zhang et al. 2015). Ainsi, la tendance actuelle au recours à la médecine traditionnelle s'explique par l'idée qui fait que 'naturel' est synonyme de 'sans danger'. En plus l'accessibilité, le coût relativement bas et les propriétés de ces produits naturels supposés 'bénéfiques et sans effets secondaires' sont d'autant plus des raisons qui ont fait cette tendance (Osbourn et al. 2014). En effet, ces dernières années, la recherche sur les produits naturels, principalement d'origine végétale et animale, a attiré beaucoup d'attentions à l'échelle mondiale (Dorman et Deans 2000; Ewnetu et al. 2014).

L'Algérie de par sa position géographique privilégiée et son étendue entre la Méditerranée et l'Afrique subsaharienne offre une grande diversité écologique qui favorise à son tour la croissance de milliers d'espèces végétales dont certaines possèdent des propriétés biologiques et médicinales importantes (Nedjraoui 2013). Le patrimoine floristique en Algérie renferme plus de 3000 espèces végétales dont 15 % sont endémiques. A cette diversité s'ajoute une tradition séculaire d'utilisation traditionnelle des plantes aromatiques et médicinales par la population locale, bien que cette richesse demeure mal connue et très peu explorée par la communauté scientifique sur le plan phytochimique, pharmacologique et alimentaire (Djebaili 1984; Nedjraoui 2013).

Or, les systèmes traditionnels de médecine supposent généralement qu'une synergie de tous les ingrédients de la plante lui confère son effet thérapeutique maximal. Ainsi, la synergie signifie que l'effet de la combinaison de substances est supérieur à la somme de leur effet individuel (Ulrich-Merzenich et al. 2010). Des résultats intéressants ont été observés avec l'utilisation de mélanges de produits naturels pour traiter les maladies (Ghosh et Playford 2003). De même, la combinaison des médicaments avec les plantes est largement répandue en thérapie et a démontré un effet synergique contre les microorganismes avec une meilleure efficacité en plus de la réduction des quantités des produits utilisés. Ceci peut réduire les risques d'effets secondaires et les coûts de traitement (Probst et al. 2011; Rasoanaivo et al. 2011; Muller et al. 2013). De plus, des études ont démontré que la combinaison de plusieurs extraits de plantes augmente l'activité antioxydante (Jain et al. 2011).

Dans cette optique, et dans le cadre de la valorisation des ressources phytogénétiques et des savoir-faire locaux, le présent travail est motivé par la curiosité scientifique afin d'évaluer l'activité biologique antioxydante, antimicrobienne et cicatrisante d'un miel produit localement et de quelques plantes médicinales utilisées en médecine traditionnelle locale et dont l'effet de certaines d'entre elles est déjà mis en évidence; *Ziziphus lotus*, *Peganum harmala*, *Allium cepa*, *Allium sativum* et *Cirsium dissectum*.

De plus, l'effet antimicrobien synergique de mixtures à base du miel et des extraits des plantes étudiées est évalué. L'effet antioxydant des produits naturels seuls et en mélange avec le miel est aussi évaluée par la mesure de l'activité antiradicalaire ainsi que par la quantification des polyphénols et flavonoïdes totaux. De même, l'activité cicatrisante des mêmes produits naturels et des mixtures préparées est évaluée sur des plaies de brûlures cutanées induites chez des souris Balb/C.

Ainsi, la présente étude vise à élaborer des préparations thérapeutiques pour le traitement des plaies y compris celles de brûlures en se basant sur le principe de la synergie entre différents produits naturels à savoir le miel et les plantes utilisées par la population locale en médecine traditionnelle.

Il est à noter que cette étude rapporte pour la première fois l'utilisation du *C. dissectum*, plante très peu connue par la communauté scientifique, ainsi que l'utilisation des tiges du *Z. lotus* comme agents antimicrobien, antioxydant et cicatrisant. Un autre aspect original est celui de l'activité synergique entre les extraits de plantes médicinales et le miel.

Synthèse bibliographique

Chapitre I. Synthèse bibliographique

De nos jours, l'utilisation anarchique des médicaments et plus spécifiquement des antibiotiques pour le traitement des différentes pathologies a entraîné l'apparition de plusieurs effets secondaires parmi lesquels les allergies, la toxicité et la résistance microbienne. En plus de ces complications, certains médicaments restent inaccessibles (indisponibles et/ou onéreux) à certaines populations pauvres particulièrement celles des pays en voie de développement (Zhang et al. 2015).

Or, les scientifiques se sont penchés sur ce problème qui prend de plus en plus d'envergure dans le monde entier constituant une menace sérieuse sur la santé publique. Ainsi, la tendance est le retour vers mère nature à la recherche de nouvelles substances naturelles aux vertus curatives et sans effets secondaires.

1. Médecine traditionnelle

La médecine traditionnelle, pratiquée depuis des millénaires, se réfère aux connaissances médicales développées au fil des générations au sein des cultures indigènes reposant sur les théories, croyances et expériences qui leur sont propres. Celle-ci intègre des substances végétales, animales et minérales, des thérapies spirituelles et des techniques manuelles conçues pour traiter une maladie ou maintenir le bien-être (Abbott 2014). Près de 80 % de la population mondiale a recours à la médecine traditionnelle. Cependant, dans certains pays, notamment de l'Asie et de l'Afrique, celle-ci représente le moyen principal de traitement des maladies car les soins conventionnels demeurent onéreux ou indisponibles. Ainsi en 1978, l'OMS formule à la convention d'Alma Ata l'idée de l'évaluation des pratiques traditionnelles des pays et leur intégration dans les systèmes officiels de santé (Fleurentin 2012).

Néanmoins, dans de nombreuses cultures, la médecine traditionnelle fonctionne comme un système complet de soins raffiné sur des centaines voire des milliers d'années. Les médecines traditionnelles les plus connues comprennent les médecines indiennes traditionnelles (Ayurveda), la médecine traditionnelle chinoise et la médecine traditionnelle arabe (Yunâni ou Unani). Lorsque les pratiques utilisées ne font pas partie de la tradition de cette culture ni de la médecine conventionnelle du pays et ne sont pas pleinement intégrées à son système de santé prédominant on l'appelle médecine complémentaire ou alternative (Dorai 2012; Abbott 2014).

1.1. Produits naturels

Par définition, un produit naturel est un composé chimique ou une substance produite par un organisme vivant (Samuelson 1999). Les produits naturels de la médecine traditionnelle et complémentaire comprennent des ingrédients actifs naturels, organiques ou inorganiques, qui sont d'origine végétale, animale et minérale (Dewick 2009). Ceux-ci comprennent des métabolites primaires et secondaires. Ils ne peuvent être isolés qu'en petites quantités, ont une activité biologique intéressante et des structures chimiques diverses. La synthèse des produits naturels pose un défi intéressant dans la chimie organique (Hanson 2003).

Les métabolites primaires ont une fonction intrinsèque qui est essentielle à la survie de l'organisme qui les produit. Les métabolites secondaires en revanche ont une fonction extrinsèque qui affecte principalement d'autres organismes (Kliebenstein 2004). Les métabolites secondaires ne sont pas essentiels à la survie mais augmentent la compétitivité de l'organisme dans son environnement. En raison de leur capacité à moduler les voies biochimiques et de transduction du signal, certains métabolites secondaires ont des propriétés médicinales utiles (Demain et Fang 2000).

1.2. Phytothérapie

La phytothérapie est l'art de se soigner avec des plantes. Depuis les temps anciens les hommes ont eu recours aux plantes pour se soigner. Les connaissances ancestrales des propriétés thérapeutiques des plantes tiennent au contact continu des nomades avec la nature, motivés principalement par l'instinct de survie et le besoin de soulager la souffrance que causaient les innombrables maladies et autres épidémies les touchant. Ceci qui a eu pour conséquence la découverte de diverses plantes aux vertus thérapeutiques (Larousse 2001).

Aujourd'hui, la phytothérapie s'appuie à la fois sur les connaissances traditionnelles et sur les découvertes de la médecine moderne. La rencontre relativement récente de ces deux mondes et le peu de normes qui régissent le domaine font en sorte que la pratique et la formation sont encore très disparates. La phytothérapie propose des remèdes naturels à base de plantes médicinales qui sont bien acceptées par l'organisme et qui sont souvent associées aux traitements classiques (Sahi 2016).

Même si la pharmacopée actuelle les occulte, nombreux sont ceux qui sont séduits par leurs propriétés curatives. Ainsi, ces dernières années on assiste à un retour en force de l'utilisation des plantes médicinales en raison des déficiences enregistrées par les traitements modernes à base de produits chimiques et synthétiques. En effet, le taux d'hospitalisation dus à la prise de médicaments chimiques est estimé entre 10 à 20 % (Larousse 2001). L'utilisation

des plantes médicinales s'appuie sur des valeurs sûres, testées de longues dates par nos ancêtres (Hseini et Kahoudji 2007).

1.2.1. Plantes aromatiques et médicinales (PAM)

Les plantes aromatiques sont des végétaux qui contiennent suffisamment de molécules aromatiques dans un ou plusieurs organes producteurs (Tardivon et Si Mohamed 2012). Alors que les plantes médicinales sont celles dont un ou plusieurs des organes possèdent des vertus curatives. Il a été estimé que 14 à 28 % des plantes supérieures sont utilisées à des fins médicales (Ghosh et Playford 2003). De nos jours, entre 20.000 et 25.000 plantes sont utilisées dans la pharmacopée humaine. En effet, 75 % des médicaments ont une origine végétale et 25 % d'entre eux contiennent au moins une molécule active d'origine végétale.

La recherche sur les plantes aromatiques et médicinales (PAM) a reçu un grand intérêt. Celles-ci constituent une ressource riche en molécules bioactives; leur effet antiseptique ainsi que celui de leurs différents extraits ont été reconnus depuis l'antiquité alors que leur caractérisation au laboratoire ne date que du début des années 1900 (Dorman et Deans 2000). Utilisées dans les diverses médecines traditionnelles, alternatives et complémentaires; de nombreux éléments de preuve ont démontré leur potentiel prometteur en thérapeutique (Sher 2009). Ces plantes représentent une ressource importante et diversifiée en métabolites secondaires. Selon Metzler (2003), plus de 200.000 structures ont été définies dont les alcaloïdes, les terpènes les stérols, les stéroïdes les saponines et les composés phénoliques (Dewik 2009). Ces métabolites secondaires constituent une source de substances bioactives qui sont à la base de la recherche de nouveaux médicaments (Ghosh et Playford 2003). Ils possèdent de multiples intérêts et sont mis à profit aussi bien dans l'industrie alimentaire, cosmétique que pharmaceutique (Dewik 2009). En outre, la concentration en principes actifs d'une plante varie en fonction de l'âge du végétal, de la saison, du climat et de l'environnement en général (sécheresse, pollution, etc.) (Farnsworth et al. 1986).

Récemment l'utilisation traditionnelle des plantes médicinales pour le traitement de diverses pathologies a connu beaucoup d'attention auprès de la communauté scientifique, les médicaments à base de plantes sont largement prescrits à cause de leur efficacité, leurs effets secondaires diminués et pour leur coût relativement bas (Logeeswari et Sripathi 2010).

1.3. Apithérapie

L'apithérapie ou thérapie par les abeilles, consiste à utiliser les produits récoltés, transformés ou sécrétés par l'abeille; le miel, la propolis, le pollen, la gelée royale, le venin et la cire à des fins diététiques et thérapeutiques (Nicolay 2014). En effet, les abeilles mellifères

ont joué un rôle important depuis des milliers d'années, des récits rapportent l'utilisation de l'apithérapie à plus de 6000 ans avant l'Égypte ancienne. Les Grecs et les Romains ont aussi utilisé les produits de la ruche à des fins médicinales. Le Docteur Stefan Stangaciu, éditeur en chef de l'International Federation of Beekeepers' Association, est l'un des protagonistes de l'apithérapie et atteste qu'il a obtenu plus de 7000 succès dans le traitement avec les produits de la ruche (Hellner et al. 2007).

En outre, le miel a été utilisé dans le traitement des plaies infectées bien avant que les microorganismes soient découverts comme il a été utilisé dans le traitement de différentes autres pathologies. La propolis est une substance résineuse élaborée par la salive des abeilles et la résine récoltée sur les bourgeons et l'écorce de certains arbres. Elle est utilisée notamment pour boucher les fissures de la ruche et pour aseptiser la ruche. Ce produit est utilisé par l'homme comme stimulant du système immunitaire, agent antimicrobien, antioxydant, anti-inflammatoire et anticancéreux (Nicolay 2014). Le pollen est collecté par les abeilles à partir des fleurs et est utilisé comme un agent revitalisant et tonifiant, assainissant intestinal, anti-anémique, protecteur cardio-vasculaire protecteur de la prostate et possède beaucoup d'autres propriétés (Münstedt et Bogdanov 2009). La gelée royale est une substance visqueuse riche en nutriments utilisée pour nourrir la reine de façon exclusive tout au long de sa vie, cependant, toutes les larves jusqu'au 3^{ème} jour en sont également nourries. C'est une substance aux vertus innombrables. Elle possède des propriétés antimicrobienne, antioxydante, anti-âge, immuno-modulatrice, contre les maladies cardiovasculaires, antidiabétique, contre l'infertilité, antidépressive, ... etc (Bogdanov 2016). Le venin des abeilles possède des vertus anti-inflammatoire, antalgique et anti-cancéreuse. Il est principalement utilisé pour le traitement des maladies articulaires telles que la sclérose en plaques ou la polyarthrite (Nicolay 2014). La cire, quant à elle, a été utilisée depuis les temps anciens comme base pour la préparation des crèmes et des pommades. Elle est très utilisée en cosmétologie. Elle améliore l'élasticité de la peau comme elle améliore l'action protectrice des crèmes antisolaire contre les UV. La cire possède également des propriétés antimicrobiennes et récemment des substances retrouvées dans la cire d'abeilles ont été démontrées ayant un effet hépatoprotecteur (Münstedt et Bogdanov 2009).

1.4. Ethnobotanique et ethnopharmacologie

Très souvent véhiculées par la tradition orale, les savoirs ancestraux en médecine traditionnelle se dissipent au fur et à mesure que les générations passent. Très précieux, ces savoirs doivent être conservés et valorisés scientifiquement. Ce à quoi s'attellent les ethnosciences d'une façon générale, l'ethnobotanique et l'ethnopharmacologie en particulier.

L'ethnopharmacologie est définie comme l'étude scientifique interdisciplinaire de l'ensemble des matières d'origines végétale, animale ou minérale, et des savoirs ou des pratiques s'y rattachant, que les cultures vernaculaires mettent en œuvre pour modifier les états des organismes vivants, à des fins thérapeutiques, curatives, préventives, ou diagnostiques. Donc, l'ethnopharmacologie s'intéresse aux médecines traditionnelles et aux remèdes constituant les pharmacopées traditionnelles. Elle s'appuie, entre autres, sur l'ethnologie, la botanique et l'histoire (Fleurentin et al. 1990; Valadeau 2010).

L'ethnobotanique, quant à elle, est l'étude de l'interaction entre les plantes et les communautés ethniques traditionnelles (Mesfin et al. 2013). L'étude ethnobotanique est effectuée par une série d'enquêtes réalisées à l'aide d'un questionnaire préétablie comportant des questions précises sur l'informateur, l'identité vernaculaire de la plante ainsi que la partie utilisée, les modes de préparation et les usages thérapeutiques et traditionnels (Sévenet 1994). Elle permet de valider, par des méthodes scientifiques, l'usage traditionnel des plantes. L'étude des propriétés médicinales des plantes permet de s'y intéresser en tant que remède et en tant qu'élément de base de pharmacopées (Lieutaghi 1983).

Les études ethnobotaniques et ethnopharmacologiques des plantes et des substances médicinales s'intègrent alors dans la compréhension d'un système de soin, permettant de définir quelles substances sont utilisées, sous quelle forme, pour quel mal et dans quelle circonstance (Valadeau 2010).

2. Activité biologique des produits naturels

2.1. Activité antioxydante

Lors du métabolisme normal des cellules (respiration, nutrition, réaction immunitaire...) ou suite à une exposition à des molécules toxiques (pollution, radiation, ...), certaines molécules sont générées et peuvent avoir un impact néfaste sur l'organisme. Parmi ces molécules, les espèces oxygénées réactives sont formées à partir de l'oxygène. Celles-ci sont soit des radicaux libres comme l'anion superoxyde ($O_2^{\bullet-}$), ou le radical hydroxyle (OH^{\bullet}), soit des molécules nonradicalaires comme le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) (Haleng et al. 2007; Agbo et al. 2015).

Les radicaux libres sont des molécules oxydantes contenant un électron non apparié. Ces molécules sont très instables et peuvent s'attaquer aux composants majeurs de la cellule (lipides, protéines et acides nucléiques) causant des dommages. Généralement les radicaux libres sont neutralisés par l'organisme à l'aide de molécules antioxydantes. Ces dernières leur servent comme source d'électrons, réduisant ainsi leurs effets néfastes sur la cellule (Mak et Newton 2001). Les antioxydants font soit partie du système de défense de la cellule; superoxyde dismutase, glutathion réductase, glutathion, mélatonine, ... etc, soit apportés à partir d'une source exogène telle que les aliments (vitamine E, C, A, caroténoïdes, flavonoïdes, polyphénols...) (Noori 2012).

Lorsque l'organisme n'arrive plus à maintenir l'équilibre entre la production des radicaux libres et leur neutralisation on parle de stress oxydatif. Plusieurs maladies ont été associées au stress oxydatif. Celui-ci est lié aux dommages cellulaires liés au vieillissement, aux maladies cardio-vasculaires, au cancer et à la plupart des maladies dégénératives (Popovici et al. 2009; Djahra 2014; Agbo et al. 2015).

Ces dernières années, l'intérêt porté aux antioxydants naturels, en relation avec leurs propriétés thérapeutiques a augmenté considérablement. En effet, plusieurs études ont démontré l'efficacité de certaines substances naturelles comportant des molécules bioactives telles que les polyphénols ou encore les caroténoïdes, les alcaloïdes et les vitamines A, E et C; dans la réduction des maladies dégénératives liées au stress oxydatif (Djahra 2014; Agbo et al. 2015).

2.2. Activité antimicrobienne

Depuis toujours l'homme a été en contact avec des microorganismes. Certains de ceux-ci ont colonisé son revêtement cutanéomuqueux et constituent la flore commensale. Cependant, d'autres microorganismes externes ainsi que, dans certaines pathologies, la flore normale peuvent constituer un danger pour l'homme. Pour résister à ces microorganismes, de

nombreux moyens sont mis en jeu. On peut distinguer trois mécanismes de protection contre ces pathogènes: les barrières anatomiques, les mécanismes de résistance naturelle (ou innés) et l'immunité acquise (Yakhlef 2010).

Or, des agents antimicrobiens tels que les antibiotiques sont utilisés afin d'inhiber la croissance ou d'éliminer complètement ces pathogènes. D'autres agents chimiques tels que les désinfectants et les antiseptiques ou les produits immunologiques tels que les vaccins sont utilisés afin de contrôler la prolifération des microorganismes. Ils peuvent tuer le microbe ou simplement inhiber sa croissance. Ils agissent sur une fonction de la cellule telle que la synthèse de la paroi, la synthèse des protéines et/ou des acides nucléiques, l'activité enzymatique, le métabolisme des folates et l'équilibre de la membrane cytoplasmique (Neu et Gootz 1996). Malencontreusement, certains microorganismes, principalement les bactéries, ont développé des mécanismes de résistance à un ou plusieurs de ces antibiotiques rendant la maîtrise des infections de plus en plus complexe constituant un problème sérieux de santé publique à l'échelle mondiale (Djahra 2014). La résistance microbienne peut être intrinsèque ou acquise. Les microbes peuvent acquérir une nouvelle résistance lorsqu'il se produit une mutation spontanée dans leurs gènes ou lorsqu'il y a un transfert de nouveaux gènes provenant d'une autre espèce, ils peuvent aussi naturellement contenir l'information génétique menant à la résistance. Les mécanismes de résistance comprennent la production de molécules comme des enzymes inhibant l'action de l'antibiotique, l'exportation de l'antibiotique à l'extérieur de la cellule par des pompes membranaires appelées pompe d'efflux ou modification de la cible de l'antibiotique (Levy et Marshall 2004; Vandal et al. 2015).

Les recherches portant sur des antimicrobiens naturels d'origine animale et végétale ont déjà mis en évidence leur effet considérable sur les microorganismes pathogènes. En effet, les produits naturels ont le potentiel d'affecter un éventail beaucoup plus grand de microorganismes que les médicaments organisme-particuliers et sont généralement dénués d'effets secondaires (Gyawali et Ibrahim 2014).

2.3. Activité cicatrisante

La cicatrisation d'une plaie est un processus biologique naturel, les tissus humains et animaux étant capables de réparer les lésions cutanées par des processus de réparation et de régénération qui leurs sont propres. Malgré l'existence d'une multitude de produits cicatrisants dont l'efficacité est établie, il n'en demeure pas moins que de nombreux chercheurs testent l'activité cicatrisante de nouveaux produits, le plus souvent choisis dans les patrimoines ethnopharmaceutiques (Jaiswal et al. 2004). De nombreux produits naturels sont connus par leur effet cicatrisant sur les différents types de plaies et des brûlures :

Le miel, depuis des millénaires, à côté de ses intérêts nutritifs, présente d'importantes propriétés cicatrisantes pour les tissus. Il contribue à garder une atmosphère humide au niveau de la plaie, ce qui facilite la régénération de l'épithélium à sa surface plutôt que sous la croûte comme c'est le cas pour les plaies sèches (Burlando et Cornara 2013; Jull et al. 2015).

Les PAM peuvent se révéler comme une alternative efficace ou comme aide complémentaire aux traitements chimiques conventionnels. Il existe beaucoup de plantes utilisées pour le traitement des plaies; toutefois, il y a très peu de rapports de la littérature sur la cicatrisation des plaies par les plantes médicinales (Logeeswari et Sripathi 2012). Ces plantes sont généralement pourvues de molécules immunomodulatrices telles que les glycoprotéines cicatrisantes, les hétérosides, les acides aminés, les tanins, les phénols, les minéraux et les vitamines (Boullard 2003). Ces molécules favorisent la phase inflammatoire, la fibroplasie et la contraction de la plaie d'une part, et augmente l'angiogenèse locale, le taux de renouvellement du collagène et sa vitesse de maturation d'autre part (Bodeker et al. 1999; Davis et Perez 2009).

2.4. Effet synergique

Pendant des siècles, la recherche phytobotanique et ethnobotanique s'est basée sur la recherche d'un seul principe actif chez les plantes supposant que la plante possède un ou quelques ingrédients qui déterminent ses effets thérapeutiques. Néanmoins, les systèmes traditionnels de médecine supposent généralement qu'une synergie de tous les ingrédients de la plante lui confère son effet thérapeutique maximal. Ainsi, la synergie signifie que l'effet de la combinaison de substances est supérieur à la somme de l'effet individuel des substances (Ulrich-Merzenich et al. 2010).

En Afrique du nord et dans la partie occidentale du bassin méditerranéen, l'expansion de la culture islamique a conduit à l'apparition d'écoles de médecine, notamment à Cordoue, en Espagne. Les pharmaciens Arabes mélangeaient les plantes pour en augmenter les effets et en améliorer le goût. Lorsqu'on utilise la plante entière plutôt que ses principes actifs isolés, ses différentes parties agissant ensemble sont plus efficaces qu'un dosage équivalent du principe actif extrait de la plante. Ainsi, des chercheurs ont démontré que les principes actifs de nombreux végétaux, agissent de manière complexe et combinée pour produire un effet thérapeutique global (Larousse 2001). Des résultats intéressants ont été observés avec l'utilisation de mélanges de produits naturels pour traiter les maladies (Larousse 2001; Ghosh et Playford 2003).

Les médicaments fabriqués en industrie ou isolés à partir de plantes ont l'inconvénient de ne pas avoir le même effet que l'extrait brut aux mêmes concentrations ou à la même dose

que le composant actif. Ceci est dû à l'absence d'interactions entre les substances présentes dans l'extrait (Rasoanaivo et al. 2011).

En outre, la combinaison des médicaments avec les plantes est largement répandue en thérapie et a démontré un effet synergique contre les microorganismes avec une meilleure efficacité en plus de la réduction des quantités des produits utilisés. Ceci peut réduire les risques d'effets secondaires et les coûts de traitement (Probst et al. 2011; Rasoanaivo et al. 2011; Muller et al. 2013). De même, des études ont démontré que la combinaison de plusieurs extraits de plantes augmente l'activité antioxydante (Jain et al. 2011).

Wagner et Ulrich-Merzenich (2009) ainsi que Ulrich-Merzenich et al. (2010) ont décrit plusieurs mécanismes pour expliquer l'effet synergique :

a. Effet synergique sur des cibles multiples; dans lequel les constituants de l'extrait d'une seule plante ou une combinaison de plusieurs extraits agissent sur plusieurs cibles telles que les enzymes, métabolites, protéines, récepteurs, ADN/ ARN... coopérant ainsi de manière agoniste synergique.

b. Effet pharmacocinétique et physicochimique basé sur l'augmentation de la solubilité, du taux de résorption et de la biodisponibilité; dans lequel des composés présents dans un extrait, souvent sans effets pharmacologiques individuellement, peuvent augmenter la solubilité et/ou le taux de résorption des principaux constituants de l'extrait et ainsi améliorent sa biodisponibilité résultant en une plus grande efficacité de l'extrait.

c. Interactions des agents avec les mécanismes de résistance des bactéries; se produit lorsque les antibiotiques sont combinés aux agents naturels qui sont capables de supprimer partiellement ou complètement les mécanismes de résistance des bactéries.

3. Produits naturels étudiés et utilisés en médecine traditionnelle Algérienne

Le climat méditerranéen, et par conséquent celui de l'Algérie, favorise la croissance de milliers d'espèces végétales parmi lesquelles certaines possèdent des propriétés écologiques, nutritionnelles et médicinales (Naili et al. 2010). Néanmoins, les connaissances biologiques des espèces indigènes dans les régions méditerranéennes arides constituent une limite et un grand handicap pour l'utilisation et le développement de ces ressources génétiques. Toutefois, en fonction de la diversité végétale on distingue une variété importante de types de miels et par conséquent, une variété importante de leurs propriétés thérapeutiques.

Depuis longtemps, les populations algériennes locales utilisent les remèdes naturels et jusqu'aujourd'hui elles y ont encore recourt. Ceci a conduit à maintenir la médecine traditionnelle vivante malgré le développement spectaculaire de la médecine moderne. Les produits naturels tels que le miel ainsi que les plantes aromatiques et médicinales occupent une place importante dans le traitement de plusieurs maladies en Algérie, y compris les différents types d'infections et de plaies (Hamza 2011).

Certaines des plantes présentées dans ce travail ont un effet déjà mis en évidence. Elles sont utilisées en médecine traditionnelle Algérienne ainsi que dans d'autres pays et sont largement adaptées aux contraintes environnementales telles que les climats secs et chauds qui les rendent aptes à la croissance dans des milieux dégradés et, par conséquent constituent de véritables ressources nutritionnelles et pharmaceutiques pour les populations locales.

3.1. Miel

- **Description**

Selon la directive européenne 2001/110/CE et le Décret n°2003-587 du 30 juin 2003, le miel est la substance sucrée naturelle produite par les abeilles de l'espèce *Apis mellifera* à partir du nectar de plantes ou des sécrétions provenant de parties vivantes des plantes ou des excréments laissés sur celles-ci par des insectes suceurs, qu'elles butinent, transforment en les combinant avec des matières spécifiques propres, déposent, déshydratent, entreposent et laissent mûrir dans les rayons de la ruche. A l'exception du miel filtré, aucun pollen ou constituant propre au miel ne doit être retiré, sauf si cela est inévitable lors de l'élimination de matières organiques et inorganiques étrangères (Nicolay 2014).

Depuis les temps anciens, le miel a été utilisé comme remède aux différentes affections. Le miel a donc pour origine la sève des plantes qui est extraite de deux manières des vaisseaux qui la contiennent: par les nectaires qui élaborent le nectar, ou par les insectes parasites qui prélèvent les éléments azotés de la sève et rejettent par leurs anus, des gouttelettes sucrées et riches en acides aminés; le miellat (Rossant 2011). Les abeilles *Apis*

mellifera récoltent le nectar et le miellat en y ajoutant leur salive chargée de l'invertase (ou saccharase), qui entame la transformation du saccharose en un mélange de glucose et de lévulose. La transformation des sucres se termine ensuite dans la ruche par la salive des ouvrières. A la fin de la transformation, le miel se concentre en sucres, jusqu'à atteindre un taux de 70 à 80 % et perd jusqu'à 14 à 25 % de son eau (Cavelier 2013).

Durant la première et seconde guerre mondiale, le miel a été utilisé pour traiter les plaies des soldats. Son utilisation a peu à peu été oubliée. Toutefois, actuellement on assiste à un regain d'intérêt pour l'usage du miel et même son introduction dans la médecine moderne principalement pour le traitement des plaies difficiles à cicatriser (Rossant 2011; Masoud et al. 2015).

- **Composition**

Le miel est composé d'environ 200 substances variant en fonction de l'origine botanique des fleurs butinées; à savoir un mélange de sucres, principalement du fructose et du glucose, des petites quantités de minéraux, protéines, vitamines, acides organiques, flavonoïdes, acides phénoliques, enzymes et autres produits phytochimiques (Ochoa Sosa 2010).

La composition du miel dépend donc fortement de la composition du nectar et/ou du miellat. Le nectar est composé de majoritairement de sucres; les plus courants étant le saccharose, le glucose et le fructose. Il contient aussi des acides organiques, des protéines, notamment des enzymes, des acides aminés libres et des composés inorganiques (comme les phosphates). D'autres éléments tels que des composés huileux, des alcaloïdes ou des substances bactéricides peuvent être retrouvés. Le nectar est caractéristique de l'espèce végétale qui le produit. Le miellat quant à lui est plus riche en sucres complexes comme le mélézitose ou les maltoses, en azote, acides organiques et en minéraux. Les plantes hôtes des insectes produisant le miellat sont essentiellement les arbres forestiers ou d'ornementation comme le sapin, l'épicéa, le pin sylvestre, le tilleul et le chêne (Rossant 2011).

- **Types de miels**

Il existe deux catégories de miels: les miels monofloraux et les miels polyfloraux. Les miels « monofloraux » sont élaborés à partir d'une seule espèce végétale, qu'il s'agisse de miel de nectar ou de miellat. Pour qu'un miel soit considéré comme monofloral, il doit être composé à 80 % d'une même espèce végétale. Les miels polyfloraux, quant à eux, sont élaborés de plusieurs espèces végétales différentes, ils sont donc, généralement, désignés soit par leur origine géographique (région, massif, etc.) soit par un type de paysage floral (miel de forêt, miel toutes fleurs...) (Cavelier 2013).

- **Propriétés biologiques**

Plusieurs études ont démontré l'effet antimicrobien et antioxydant du miel. Nombreuses caractéristiques font du miel un produit antimicrobien; sa viscosité limitant la quantité d'oxygène et d'agents chimiques dissous, sa teneur élevée en sucre faisant de lui un produit hyperosmolaire, sa faible activité d'eau (A_w), sa teneur en acides organiques et son pH acide (pH 3-4) empêchent la survie et le développement des microbes. En effet, la glucose oxydase, sécrétée par les glandes hypopharyngiennes des abeilles, convertit le glucose en acide gluconique ce qui confère au miel son pH acide et en peroxyde d'hydrogène ayant un effet antiseptique (Eteraf-Oskouei et Najafi 2013). Dans le miel mûr, cette enzyme n'est plus active mais reste intacte. Si le miel est dilué avec un peu d'humidité, l'enzyme est réactivée (Merah et al. 2010). La présence d'autres inhibines non peroxydes a été prouvée dans le miel mûr comme les lysozymes qui agissent sur la paroi des microorganismes, les flavonoïdes et les acides aromatiques (Nair 2014). De plus, le miel est composé de plusieurs molécules antioxydantes, celles-ci comprennent des enzymes telles que la catalase, glucose oxydase, peroxydase et des substances non enzymatiques telles que la vitamine C et E, les caroténoïdes, les acides aminés, les acides organiques et les produits de la réaction de Maillard et plus de 150 composés polyphénoliques (Ferreira et al. 2009).

Durant les années 1930, 40 et 50, les chercheurs se sont intéressés aux propriétés cicatrisantes du miel ce qui lui a valu sa réintégration dans les pratiques médicales modernes. Le miel est très utilisé comme préparation topique des brûlures de la peau et d'autres infections superficielles car il agit comme un lubrifiant entre le tissu endommagé et le pansement le recouvrant facilitant ainsi le renouvellement du pansement sans endommager le tissu de granulation. Actuellement, on l'utilise pour traiter les brûlures, les maladies gastrointestinales, l'asthme, les infections cutanées et bien d'autres pathologies (NHB 2002; Ghosh et Playford 2003).

3.2. *Ziziphus lotus* L.

- **Description**

Le *Z. lotus* (L.) Lam., également appelé Sedra, jujubier des Lotophages, jujubier sauvage ou jujubier de Berbérie en Afrique du Nord; est un arbuste épineux de la famille des Rhamnaceae (Fig. 1). Il a une hauteur de 1 à 3 m, à souche souterraine robuste émettant de nombreuses tiges grêles, flexueuses et ramifiées. Les feuilles à pétioles courts sont petites, ovales, caduques, alternées et glabres sur les deux faces. Les fleurs sont petites, bleutées, les fruits sont des drupes (appelés communément Nbeg) sphériques roussâtres, rouges à maturité, avec une pulpe mince, sucrée et à saveur agréable se consomment en sur-maturité en Octobre

(Chevalier 1947; Gueda Ba 2005). Cet arbuste est bien adapté à son milieu naturel, son système racinaire est capable d'atteindre plus de 50 m de profondeur. Il supporte des conditions sévères de sécheresse, de vent et d'ensoleillement (Chevalier 1947).



Figure 1. *Ziziphus lotus* L.

Le fruit se récolte et se vend sur les marchés en Algérie, Tunisie, Syrie et en Arabie. Il est utilisé comme nourriture pour l'homme et même les animaux (Chevalier 1947).

- **Aire de répartition**

Le *Z. lotus* vit sur d'immenses territoires en Afrique du Nord et en Asie mineure. L'arbuste vit dans les steppes subméditerranéennes, comprises entre la mer et le Sahara. Il monte jusqu'à 1000 m d'altitude. Il est cultivé et naturalisé dans le sud du Portugal et de l'Espagne et en Sicile alors qu'il est spontané en Grèce et dans le Sud de l'Egypte (Chevalier 1947). En Algérie, le *Z. lotus* est répandu sur tout le territoire sauf le Tell Algéro-constantinois. Il est très répandu dans les régions arides d'Algérie du Sud, Ain Ouessara et Maessad (wilaya de Djelfa) à climat aride et Taghit (wilaya de Bechar) au climat saharien (Benammar 2011).

- **Composition**

Les analyses phytochimiques menées sur le *Z. lotus* montrent la présence de métabolites primaires (sucres 20 % à 32 %, lipides 0,1 % à 0,3 % et protides 0,8 % à 2,1%) et des métabolites secondaires. Le *Z. lotus* est connu par son contenu en molécules biologiquement actives telles que les polyphénols (flavonoïdes, tanins), les triterpènes, les anthraquinones, les alcaloïdes (cyclopeptides et isoquinolides) et les saponosides (Naili et al. 2010).

- **Propriétés biologiques**

Des travaux sur l'utilisation des composants du *Z. lotus* et de son fruit, notamment les antioxydants, se sont multipliés en Afrique du Nord. Il est très utilisé dans le traitement de certaines maladies telles que les troubles digestives, la faiblesse, les troubles urinaires, les

infections cutanées, la fièvre ...etc. Les études pharmacologiques ont démontré plusieurs activités biologiques du *Z. lotus* ainsi que d'autres espèces du même genre parmi lesquelles l'activité anti-inflammatoire et analgésique, activité antimicrobienne, antimollusque, antiulcérogénique, antidiabétique, antioxydantes et cicatrisante (Benammar 2011; Benammar et al. 2014; Ghalem 2014; Hovanet et al. 2016).

3.3. *Peganum harmala* L.

- **Description**

Le *P. harmala* est un arbuste de 0.3 à 0.8 m de long de la famille des Zygophyllaceae (Fig. 2). C'est une plante vivace spontanée à fleurs blanches avec des racines rampantes courtes. Elle est aussi connue sous les noms Harmel en Algérie et en Afrique du Nord, Rue sauvage en France, African Rue, Syrian Rue, Turkish Rue aux Etats Unies et Espand en Iran. C'est une espèce très toxique pour les animaux et l'homme en particulier. Elle est utilisée comme plante médicinale en Asie centrale, Afrique du Nord et au moyen orient comme elle a aussi été introduite en Amérique et en Australie (Asgarpanah et Ramezanloo 2012; Moloudizargari et al. 2013; Javadian et al. 2014).

Les tiges du *P. haramala* sont peu rameuses de 30 à 100 cm de haut. Les feuilles sont allongées et irrégulièrement divisées en multiples lanières très fines. L'ovaire globuleux repose sur un disque charnu et aboutit à un fruit qui est une capsule sphérique renfermant plus de 50 graines. Ces dernières, petites, anguleuses, subtriangulaires, marron foncé, dont le tégument externe est réticulé, ont une saveur amère. On les récolte en été. C'est une plante non broutée par les animaux (Bouziane 2011; Moloudizargari et al. 2013).



Figure 2. *Peganum harmala*.

- **Aire de répartition**

C'est une espèce qui pousse spontanément dans les conditions semi-arides, les régions steppiques et les sols sableux. Elle est native à l'Afrique du Nord, la région méditerranéenne, le Moyen Orient, l'Inde, le Pakistan et le sud de l'Iran (Asgarpanah et Ramezanloo 2012).

- **Composition**

P. harmala est très réputé pour sa richesse exceptionnelle en alcaloïdes particulièrement les alcaloïdes indoliques, ce qui le classe parmi les plantes hallucinogènes à effet psychotrope (Tahrouch et al. 2002). Les travaux ont montré que la composition chimique des extraits du *P. harmala* signalent la présence d'alcaloïdes du type β -carbolinique et quinazolinique ; les plus importants sont l'harmaline, l'harmane, l'harmine et le tetrahydroxyharmine (Habbachi et al. 2013). Alors que l'harmaline et l'harmine sont les composés les plus importants et possédant des effets bénéfiques, les autres alcaloïdes jouent aussi un rôle dans les propriétés pharmacologiques de cette plante (Moloudizargari et al. 2013).

- **Propriétés biologiques**

Toutes les parties de la plante (graines, fruit, racine et écorce) sont utilisées en médecine traditionnelle. Plusieurs travaux ont démontré les effets thérapeutiques de cette plante ou de ceux de ses alcaloïdes particulièrement l'harmaline (Moloudizargari et al. 2013). Ses alcaloïdes possèdent diverses activités biologiques: analgésiques, anti-inflammatoire, diurétiques, anthelminthiques, antipaludique, antiprolifératives, abortives et antimicrobiennes y compris sur les bactéries résistantes aux antibiotiques. *P. harmala* est très utilisé en médecine traditionnelle algérienne et magrébine pour traiter entre autres différents troubles gynécologiques, digestifs, cutanés et infectieux (Darabpour et al. 2011; Javadian et al. 2014).

Malgré sa réputation de plante euphorisante et prétendument aphrodisiaque, l'utilisation du Harmel se fait avec précaution car il présente des risques de toxicité. Cette plante peut causer la paralysie du système nerveux et entraîner la mort par arrêt respiratoire chez les vertébrés et peut provoquer des avortements chez les femmes. Elle est également abortive et anti-fertilisante chez les rats. Elle a été utilisée pour traiter quelques troubles du système nerveux comme le Parkinson et certaines conditions psychiatriques (Abbassi et al. 2003; Moloudizargari et al. 2013). Il est aussi utilisé pour traiter l'hypertension et les maladies cardiovasculaires (Moloudizargari et al. 2013). Cette espèce est utilisée par les populations locales en fumigation pour dissiper les troubles et traite les convulsions des enfants; en décoction et pommade pour le traitement des fièvres et en frictions pour soigner les rhumatismes (Bouziane 2011). Derakhshanfar et al. (2010) ont démontré l'effet cicatrisant de l'extrait des graines de *P. harmala* sur des plaies chirurgicales de la peau chez les rats Sprague-Dawley.

3.4. *Cirsium dissectum*

- **Description**

Le *C. dissectum* est une plante herbacée vivace de la famille des Asteraceae (Fig. 3). Il possède des racines cylindriques et des rhizomes pouvant atteindre jusqu'à 40 cm de long. C'est une plante océanique d'Europe occidentale ou des zones tempérées (De Vere 2007a).

La tige à fleurs (3 à 7 cm) est grêle et érigée, non ramifiée et blanche-laineuse. Les feuilles sont lancéolées-aiguës, presque entières, sinuées-dentées ou pennatilobées, épineuses sur les bords, alternes et recouvertes d'un duvet blanchâtre. Elles sont vertes en dessus et presque blanches sur leur face inférieure et divisées en lobes. Les feuilles de la base possèdent un pétiole assez large, contrairement à celles insérées sur la tige. Les fleurs sont magenta-violet, hermaphrodite et regroupées en capitules. Le fruit est un akène de couleur blanchâtre et de forme allongée (De Vere 2007b; Geslin 2008).

C. dissectum est une plante raisonnablement robuste dans sa capacité à résister à la défoliation. Cette plante peut être localement abondante dans les sites avec des conditions appropriées (Ross 1999). Ces plantes se reproduisent végétativement. La survie et la croissance des semis sur le terrain sont très rares. La propagation des clones est la forme dominante de reproduction (Jongejans 2004; Jongejans et al. 2006).

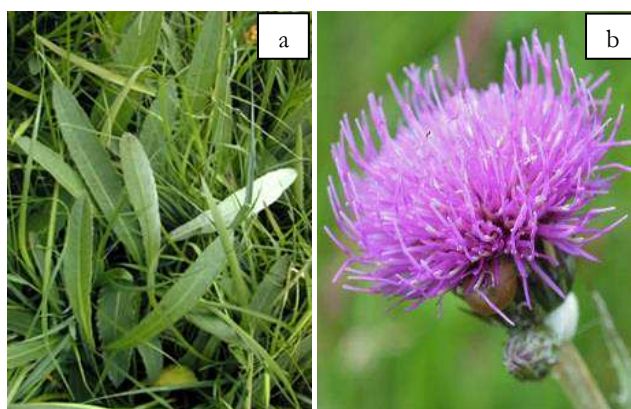


Figure 3. *Cirsium dissectum* a) feuilles, b) fleur.

- **Aire de répartition**

C. dissectum se développe dans les prés tourbeux, marécages et surtout les sols siliceux, humides et acides ainsi que dans les eaux acides (Geslin 2008). Elle peut se retrouver dans les sites où il y a des eaux stagnantes durant l'hiver (De Vere 2007b). Cette plante se concentre dans les îles britanniques, au sud des pays de Galles et à l'ouest de l'Irlande. Elle s'étale vers le sud de la France. On la trouve dans les prairies semi-naturelles humides, pauvres en éléments nutritifs dans le nord-ouest de l'Europe (De Vere 2007a). Toutefois, aucune donnée n'a été répertoriée sur la présence de cette plante au Nord de l'Afrique.

- **Composition**

Les flavonoïdes constituent un groupe de composés compris dans le genre *Cirsium* et sont considérés comme marqueurs chimiosystématiques (Havsteen 2002). Cependant, aucune étude n'a été réalisée sur la composition chimique de l'espèce *C. dissectum*.

- **Propriétés biologiques**

D'après l'étude ethnobotanique réalisée auprès de la population locale, les racines de cette plante sont utilisées pour soigner différents types de plaies, plus particulièrement les plaies induites par les brûlures.

3.5. *Allium cepa*

- **Description**

Allium cepa ou oignon est une plante herbacée, vivace de la famille des Liliaceae (Fig. 4). C'est l'une des plus anciennes plantes cultivées dans le monde comme plante potagère pour ses bulbes et/ou pour ses feuilles. C'est à la fois un légume et un condiment qui possède de multiples propriétés médicinales qui diffèrent selon la variété. Les variétés d'oignons sont nombreuses, elles sont soit standards ou hybrides (Hamdini 2009).

Cette plante est caractérisée par son bulbe unique, composé des bases épaissies de feuilles s'enveloppant les unes dans les autres. C'est une plante haute de 60 à 100 cm dont les feuilles vertes sont cylindriques et creuses, la tige florale dressée est également creuse et présente un renflement vers sa base. Le bulbe est relativement gros, sphérique, parfois plus ou moins aplati. Les fleurs petites, de couleur blanche, sont regroupées en ombelle sphérique, en position terminale sur la tige. Les fleurs ont une symétrie trimère, à trois sépales, trois pétales et six étamines. L'ovaire unique est divisé en trois loges. Le fruit est une capsule s'ouvrant par trois valves, libérant chacune généralement deux graines (Shrestha 2004; Hamdini 2009).



Figure 4. *Allium cepa*.

- **Aire de répartition**

L'origine de l'*A. cepa* reste à débattre. Les pays d'Asie centrale (Iran et Pakistan) sont considérés comme l'origine primaire de l'oignon. Les pays de l'Asie de l'Est ainsi que ceux

de la région méditerranéenne sont considérés comme les centres secondaires d'origine. Il est maintenant distribué à travers les régions tempérées du monde incluant l'Europe, l'Asie, l'Amérique du nord et l'Afrique (Ashwini et Sathishkumar 2014).

- **Composition**

L'oignon est riche en minéraux et oligoéléments inclus dans les molécules complexes ; on y trouve du S, K, P, Ca, Se, Mn, Co, F et du Mo. Les sucres majoritaires constituant les réserves de l'oignon sont des fructosanes mais l'on trouve également du glucose du fructose et saccharose en petites quantités. D'autres glucides représentent 1 % de la masse d'oignon ce sont des celluloses, des hémicelluloses et des pectines. Enfin l'oignon contient la vitamine C en quantités importantes et en quantités modérées la vitamine B et E (Ladam 2002). Les propriétés thérapeutiques de l'oignon sont attribuées à sa teneur élevée en molécules actives comme les polyphénols principalement les flavonoides ainsi que les composés soufrés. L'oignon contient des composés à groupe 1- propényle tels que le S-propénylsulfoxyde, ce type de micro-constituant a été beaucoup plus étudié dans l'ail que dans l'oignon. Les flavonoides les plus abondants dans l'oignon sont les quercétines qui représentent 85 % des flavonoides totaux. En outre, les variétés d'oignons rouges sont riches en anthocyanines principalement les dérivés des cyanidines (Festy 2003; Fredotovic et al. 2017).

- **Propriétés biologiques**

L'oignon a été utilisé ancestralement comme agent antimicrobien. De nombreuses études *in vitro* ont montré effectivement le rôle des alliées ou de leurs composés soufrés sur la croissance de nombreuses espèces bactériennes. L'oignon a aussi été utilisé par de nombreuses cultures pour son action stimulatrice du système immunitaire (Augusti 1990; Ladam 2002; Molas 2009).

Plusieurs études épidémiologiques ont démontré que la consommation d'oignon réduit le risque de développer des cancers ainsi que des maladies cardiovasculaires et neurodégénératives (Fredotovic et al. 2017). Différentes études ont été menées chez l'homme et l'animal afin d'établir une corrélation entre la consommation d'oignon et d'ail et la fréquence de survenue de carcinomes (colorectaux, laryngés, ovariens, œsophagiens entre autres). Il semble qu'une corrélation puisse être établie sans que les mécanismes de protection aient été complètement élucidés (Galcone et al. 2006). L'oignon pourrait favoriser la différenciation cellulaire. Ainsi, comme les cellules cancéreuses ont perdu la faculté de se différencier, elles se multiplient de façon anarchique, toutefois, selon des chercheurs japonais, l'huile d'oignon pourrait, dans une certaine mesure, « rééduquer » ces cellules et contribuer à empêcher cette multiplication anarchique (Sévenet 1994).

L'oignon dissout l'acide urique (responsable de la maladie de la goutte) et lutte contre les infections grâce à ses sels de soude et sa potasse tout en alcalinisant le sang. Il est utilisé pour le traitement des inflammations des yeux et des voies respiratoires supérieures (Sévenet 1994).

Le gamma-L-glutamyl-trans-S-1-propenyl-L-cysteinesulfoxide présent dans l'oignon réduirait le risque d'ostéoporose chez la femme durant la ménopause. Il possède aussi des propriétés diurétiques et est utilisé pour réduire les œdèmes. L'oignon est aussi efficace dans l'extraction des calculs rénaux (Ashwini et Sathishkumar 2014).

3.6. *Allium sativum*

- **Description**

Allium sativum ou l'ail est une espèce de la famille de Liliaceae (Fig. 5). C'est l'une des plantes les plus anciennement domestiquées par les humains depuis des temps immémoriaux, ils s'en sont servis aussi bien pour se soigner que pour se nourrir. C'est une plante bulbeuse, herbacée, vivace, à nombreuses petites fleurs blanches linéaires et engainantes formant une inflorescence en ombelle (Choi et al. 2005; Huguette 2008). Le bulbe mère repose sur le plateau d'où partent les racines. Il est entouré de cinq à dix petits bulbes secondaires (caïeux) appelés gousses. L'ensemble (bulbe et caïeux) est enveloppé d'une fine pellicule de couleur blanche ou rose selon les espèces (Afzal et al. 2000; Choi et al. 2005). La reproduction d'*Allium sativum* est strictement végétative et ceci, à partir d'une gousse (Afzal et al. 2000).



Figure 5. *Allium sativum*.

- **Aire de répartition**

Le genre *Allium* est largement distribué sur les zones tempérées de l'hémisphère nord et il se retrouve aussi dans la zone boréale. La plus grande diversité en espèces d'*Allium* s'étend du bassin méditerranéen à l'Asie centrale et au Pakistan. Le deuxième centre de diversité d'espèces moins prononcé se produit dans la partie occidentale de l'Amérique du Nord (Stavělíková 2008).

- **Composition chimique**

L'ail contient plusieurs enzymes, des minéraux (P, K, Zn et en faibles doses Ca, Mg, Na et Fe), des vitamines (A, C et B) et au moins 33 types de composés soufrés qui sont responsables, en plus de son odeur caractéristique, des diverses propriétés thérapeutiques de cette plante (Andualem 2013). L'ail est riche en matières actives antioxydantes incluant les composés soufrés, les flavonoïdes et les phénols capables de piéger les radicaux libres. Il contient de l'adénosine, des pectines, des acides gras, des glucolipides et des phospholipides (Lanzotti 2006). Les plus représentatifs sont les composés soufrés primaires (S-alkyl-L-cystéine sulfoxides) incluant l'alliine (24 % du poids total du bulbe) et les peptides glutamylcystéine (Teuscher et al. 2005). Aussitôt que l'ail est haché ou écrasé, l'allinase agit sur l'alliine et la transforme en allicine (diallyl-dithiosulfinate). Cette dernière est un alcaloïde considéré comme l'ingrédient actif de l'ail et agit sur plusieurs cibles (Shadkchan et al. 2004). Cependant, les autres composés soufrés jouent aussi un rôle dans les propriétés de cette plante (Mikaili et al. 2013).

- **Propriétés biologiques**

De l'antiquité jusqu'à la première guerre mondiale, des cataplasmes d'ail étaient utilisés pour prévenir l'infection des blessures. En 1916, le gouvernement anglais demandait à sa population de lui fournir de grandes quantités d'ail pour répondre aux besoins médicaux de son armée en guerre. Durant la deuxième guerre mondiale, il était surnommé la « pénicilline des Russes » car l'armée russe a eut recours à l'ail lorsqu'elle vint manquer de pénicilline (Essman 1984). *A. sativum* est apprécié pour ses multiples propriétés médicinales. En effet, il est connu pour ses propriétés antimicrobiennes et antiseptiques (Choi et al. 2005). En 1958, Pasteur a été le premier à démontré l'effet antibactérien du jus d'ail brut sur plusieurs bactéries pathogènes Gram positif et Gram négatif ainsi que sur des bactéries résistantes aux antibiotiques (Sivam 2001). Des activités antitumorales, antiinflammatoires et antioxydantes des extraits d'ail dues aux composés organosulfurés et phénoliques ont été rapportées. On a attribué des effets hypotenseurs, antiaggrégants plaquettaires et même anticancéreux à l'alliine.

L'ail est utilisé comme un remède pour les troubles intestinaux, les infections respiratoires, les maladies cutanées, les plaies, les symptômes de vieillissement et plusieurs autres affections (Lanzotti 2006). Il prévient aussi entre autres les maladies cardiovasculaires (Qidwai and Ashfaq 2013), l'athérosclérose, l'hyperlipidémie et le diabète (Teuscher et al. 2005). L'ail est aussi efficace contre les insectes, il est utilisé comme vermifuge traditionnel très actif contre les oxyures, les ascarides et le ténia (Amonkar et Banerji 1971).

4. La peau

4.1. Description et fonctions

La peau est l'enveloppe externe recouvrant l'organisme et le protégeant du milieu extérieur. Elle représente environ 15 % du poids corporel. Elle a une fonction de protection, une fonction de sensibilité, une fonction métabolique (excrétion de la sueur, synthèse de la vitamine D) et une fonction de thermorégulation. Elle forme une barrière physique qui régule la perte d'eau et protège des attaques mécaniques, chimiques et microbiennes de l'environnement extérieur (Marieb 2008; Eckhart et al. 2013). Sur le plan structural, la peau se compose de deux couches principales : l'épiderme et le derme. En dessous du derme se trouve la couche sous-cutanée appelée aussi fascia superficiel ou hypoderme qui n'appartient pas à la peau proprement dite (Fig. 6) (Tortora et Derrickson 2016).

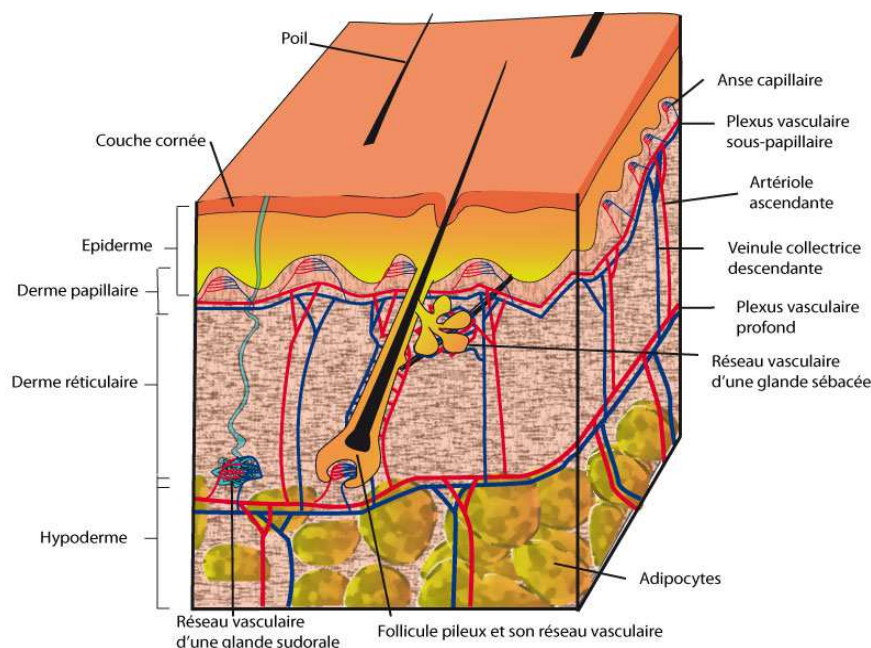


Figure 6. Représentation schématique de la peau humaine (Démarchez 2011).

4.1.1. L'épiderme

C'est la couche la plus superficielle de la peau, c'est un épithélium squameux stratifié kératinisé qui se renouvelle continuellement (desquamation). Les kératinocytes représentent les cellules majoritaires de l'épiderme (90 à 95 %) (Marieb 2008). Les autres types cellulaires sont les mélanocytes, les cellules de Langerhans et les cellules de Merkel. L'épiderme ne contient ni vaisseau sanguin ni vaisseau lymphatique, mais renferme de nombreuses terminaisons nerveuses libres (Wiles et al. 2010). L'épaisseur moyenne de l'épiderme est de 100 μm mais peut varier de 50 μm sur les paupières à 1 mm sur la paume des mains ou la plante des pieds (Eckhart et al. 2013). Les structures de l'épiderme et les appendices cutanés

sont maintenus par la différenciation des kératinocytes à partir d'un réservoir de cellules souches. Celles-ci se trouvent au niveau de la couche basale et dans certaines parties du follicule pileux.

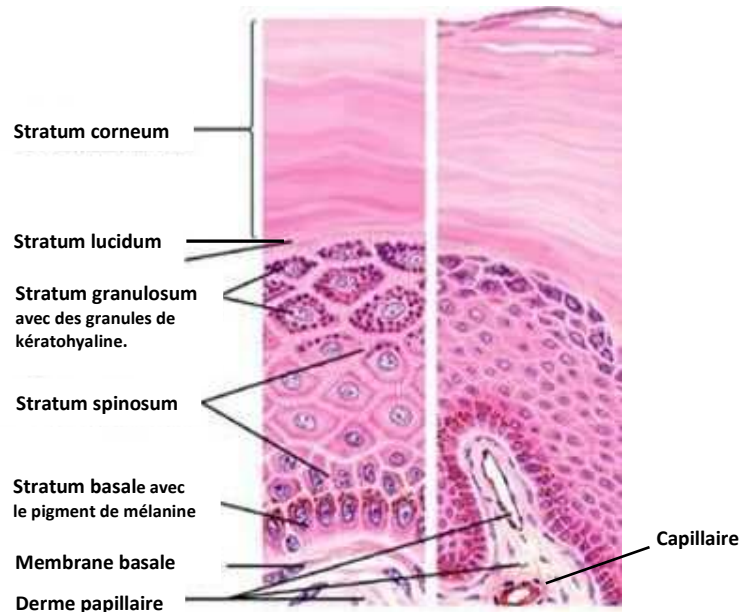


Figure 7. Observation microscopique de l'épiderme.

L'épiderme comporte 4 à 5 couches en fonction des régions du corps (Fig.7, 8 et 9) (Demarchez 2015; Tortora et Derrickson 2016) :

a. Stratum corneum (couche cornée)

C'est la couche la plus externe de l'épiderme, elle constitue une barrière protectrice, résistante, semi-perméable empêchant la perte en eau ainsi que la pénétration de substances chimiques ou de microbes. Elle est composée principalement de grandes cellules polyédriques plates, kératinisées (contenant de la kératine) et anucléées dites cornéocytes qui ont perdu leurs organelles. Ce sont des cellules dites mortes mais qui restent biochimiquement actives. L'épaisseur de cette couche varie en fonction de la partie qu'elle recouvre. Elle est constituée d'à peu près 20 à 30 couches. Elle se renouvelle continuellement et est remplacée par de nouvelles cellules provenant du stratum basal.

b. Stratum lucidum (couche claire)

Cette couche n'est présente que dans les épidermes épais et dépourvus de poils (paume de la main et plante du pied) et est composée de cellules translucides mortes.

c. Stratum granulosum (couche granuleuse)

Constitué principalement de cellules squameuses stratifiées arrangées en une à trois rangées comportant des granules lamellaires et des tonofibrilles. Il est à noter que mis à part la

paume des mains et la plante des pieds, la peau n'a pas de stratum lucidum et stratum granulosum bien définis.

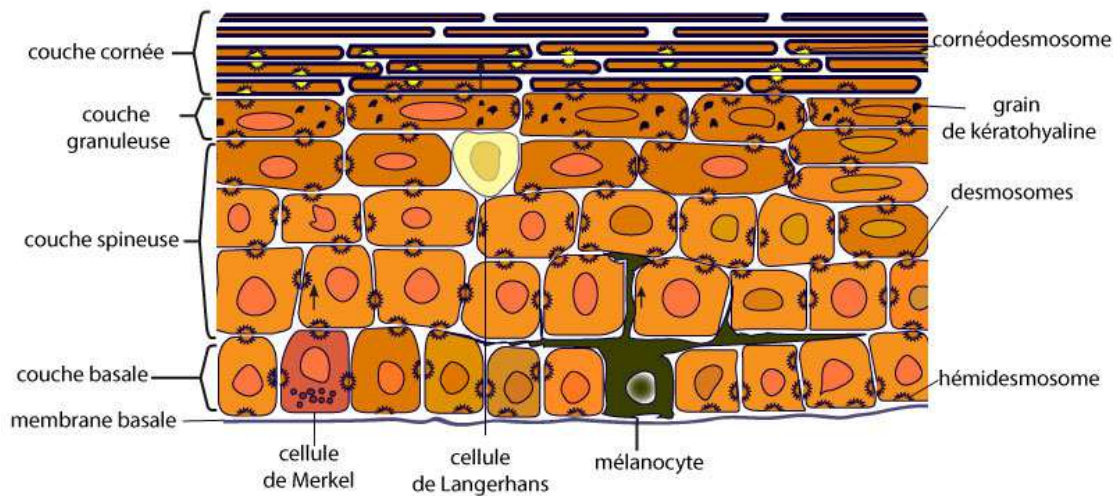


Figure 8. Représentation schématique de l'épiderme humain (Démarchez 2015).

d. Stratum spinosum (couche épineuse, spinuse ou de Malpighi)

Constitué de cellules polygonales organisées en multicouches synthétisant de la kératine. Ces cellules sont liées l'une à l'autre par l'intermédiaire des desmosomes qui donnent un aspect d'épines.

e. Stratum basale ou stratum germinatum (couche germinative)

C'est la couche la plus profonde de l'épiderme. C'est le compartiment germinatif ou prolifératif qui donne naissance aux kératinocytes des couches plus superficielles ; elle est composée de cellules prismatiques ou cubiques. Les cellules basales sont attachées par des hémidesmosomes à une membrane basale acellulaire qui sépare l'épiderme du derme et forme la jonction dermo-épidermique. Ces cellules sont en constante division. Cette couche comporte aussi des mélanocytes qui possèdent des prolongements s'introduisant entre les kératinocytes pour leur transférer leur mélanosomes (vésicules produisant et stockant la mélanine), des cellules de Langerhans (reconnaissant les antigènes et les présentant au système immunitaire) et les disques de Merkel (détectant la pression sur la peau).

4.1.2. Derme

Le derme est une structure complexe plus épaisse que l'épiderme. C'est un tissu conjonctif, compressif, et extensible mesurant 1 à 2 mm. C'est un tissu nourricier de la peau. Les cellules principales de cette couche sont les fibroblastes (produisant des fibres capables de résistance (collagène) et d'élasticité (élastine), les mastocytes et les histiocytes qui sont

entourées par une matrice extracellulaire. Cette dernière est composée à 80 % d'eau total présente dans la peau et de macromolécules dont les plus importantes sont les protéoglycanes, glycosaminoglycanes, collagène et l'acide hyaluronique. Le derme contient des vaisseaux sanguins et lymphatiques, des cellules nerveuses assurant l'innervation, des annexes cutanées (follicules pileux, glandes sébacées et sudoripares) et des cellules immunitaires. Le derme apporte à la peau de la résistance, de l'extensibilité, de l'élasticité et une certaine compressibilité. L'apport de nutriments à l'épiderme est assuré par les vaisseaux sanguins dermiques. Le contrôle du débit sanguin cutané contribue à la thermorégulation de l'organisme. Le derme est constitué de deux couches (Fig. 9) (Laplane 2002; Boucher 2005; Tortora et Derrickson 2016) :

a. Derme papillaire

Partie superficielle du derme qui dans certaines régions du corps est parsemée de projections mamillaires appelée papilles. Certaines papilles sont pourvues de capillaires qui nourrissent l'épiderme, alors que d'autres sont pourvues de récepteurs de la douleur et du toucher.

b. Derme réticulaire

Partie profonde du derme contient les vaisseaux sanguins, des phagocytes, les glandes sébacées et sudoripares et des récepteurs de pression (corpuscules lamelleux).

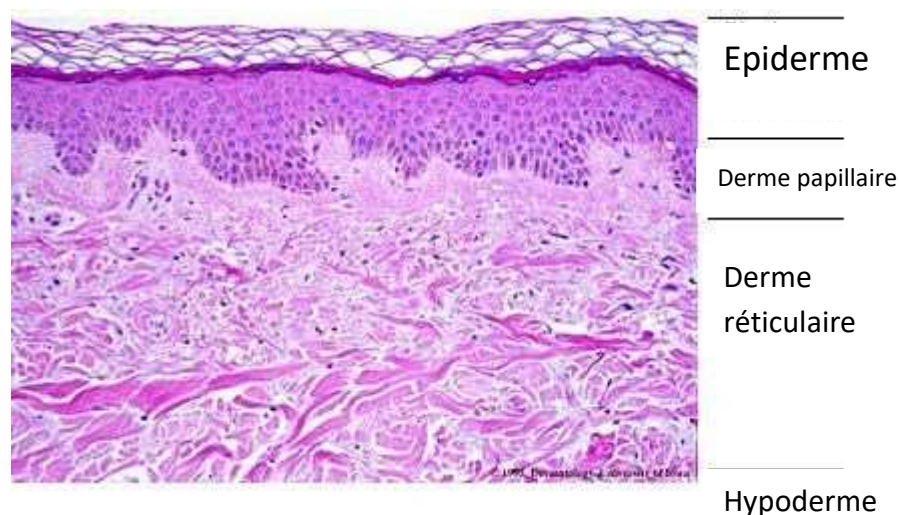


Figure 9. Observation microscopique de la peau

4.1.3. Hypoderme

L'hypoderme est constitué de tissu adipeux. Il contient des adipocytes plus ou moins nombreux, des gros vaisseaux, des nerfs et des fibres de collagène. Il sert de réserve de tissu adipeux et irrigue la peau par ses gros vaisseaux sanguins (Boutonnat 2007). L'hypoderme

relie la peau aux organes sous-jacents rendant possible le glissement de la peau par rapport à eux (Wiles et al. 2010). Il a pour fonction la protection des structures sous-cutanées contre les agressions mécaniques en agissant comme un coussin amortisseur, plus épais dans certaines zones comme les fesses ou les talons. L'hypoderme protège aussi contre les variations de températures en agissant comme un isolant (Tortora et Derrickson 2016).

4.2. Différences entre la peau humaine et celles des animaux d'expériences

Les petits mammifères comme les souris, les rats, les cochons d'Inde et les lapins sont fréquemment utilisés dans les cas des études portant sur la peau. Bien que faciles à manipuler, ces animaux diffèrent des humains d'un point de vue anatomique et physiologique. Par exemple, ces cobayes ont une couche dense de cheveux, une peau plus fine et la différence principale réside dans le fait que leurs plaies guérissent par un mécanisme de contraction alors que chez l'homme par un mécanisme de réépithélialisation (Dahiya 2009). Récemment, les études ont démontré que le cochon est le meilleur modèle pour les études concernant la peau humaine vue leur ressemblance du point de vue anatomique et physiologique (Abdullahi et al. 2014).

4.2.1. Particularités de la peau de souris

La peau des souris est unique, elle possède un panniculus carnosus (une mince couche de muscle squelettique) distinct retrouvé qu'au niveau du cou chez l'homme rendant la peau des souris mobile. En effet, cette couche lui permet de se déplacer facilement sur le fascia musculaire sous-jacent. La peau des souris est aussi riche en follicules pileux. L'épiderme murin est mince et ne possède que quelques couches de cellules vivantes (2 à 3 couches) en comparaison à l'humain. Il ne possède pas de couche granuleuse (Laplante 2002; Abdullahi et al. 2014). Les souris ont été très utilisées comme modèle d'étude des plaies y compris les plaies de brûlures. Cet animal a fourni de précieuses informations sur les mécanismes de signalisations impliqués dans la cicatrisation. Malgré les avantages que présente l'utilisation des souris, le problème réside dans le fait que leur peau ne cicatrise pas complètement de la même manière que celle de l'homme. En effet, chez les souris, la cicatrisation des plaies se fait par contraction de la plaie alors que chez l'homme par réépithélialisation et granulation de la plaie ce qui diminue le temps de cicatrisation chez les souris. Un autre point est que comme la peau des souris est riche en follicules pileux, ces derniers sont riches en cellules souches, la cicatrisation est donc plus rapide. D'autres différences existent dans les mécanismes de défenses de la peau des souris et ceux des hommes (Abdullahi et al. 2014).

5. Les brûlures

5.1. Généralités

La brûlure est une agression thermique du revêtement cutané voire même des tissus sous-jacents résultant dans la détérioration des tissus de la peau et une destruction des cellules. C'est l'une des formes de blessures les plus communes et les plus dévastatrices. Elle peut être causée par une chaleur intense, un courant électrique, des rayonnements ionisants ou des substances chimiques (Marieb 2008). C'est une pathologie traumatisante, parfois mortelle, et très souvent responsable de séquelles physiques et psychologiques (Chafiki et al. 2007). Les brûlures mineures sont généralement traitées par des pommades et des pansements topiques alors que les brûlures plus graves requièrent des soins spéciaux. Les brûlures graves peuvent perturber le bon fonctionnement de tout l'organisme. La perte des liquides de l'organisme provoque la déshydratation et un déséquilibre électrolytique entraînant un choc hypovolémique. Une autre complication considérable des brûlures graves sont les infections qui sont accrues par une déficience du système immunitaire et sont responsables de taux importants de morbidités et de mortalités (50-75 %) (Church et al. 2006; Marieb 2008; Ghacemi Pirbalouti et al. 2011).

5.2. Critères de gravité

Une brûlure se caractérise par : son aspect, sa localisation, la présence de douleur, son étendue (surface) et son degré (profondeur).

5.2.1. Degré de gravité ou profondeur

L'évaluation de la profondeur ou le degré d'une brûlure (Fig. 10) est essentiellement clinique, elle repose sur un nombre de critères : la douleur, la couleur, la présence d'un exsudat, la décoloration à la pression, l'existence de phlyctènes, la résistance des poils à la traction et la texture de la peau (SFETB 2006). Les brûlures sont classées en trois catégories selon leur degré de gravité (Marieb 2008; Sterling et al. 2010; Yasti et al. 2015) :

a. Brûlure du premier degré

Atteinte superficielle de l'épiderme caractérisée par des rougeurs et des œdèmes. Elle guérit en 2 à 4 jours sans soins particuliers et sans laisser de cicatrices (ex : coup de soleil).

b. Brûlure du deuxième degré

Atteinte totale de l'épiderme et du derme papillaire caractérisée par la rougeur de la peau, des douleurs et apparition de phlyctènes ou cloques. Si elle est soignée et l'infection prévenue, la peau se régénère et guérit en 2 à 3 semaines sans laisser de cicatrice, dans le cas d'une brûlure superficielle. Dans le cas d'une brûlure profonde le derme réticulaire est touché

mais pas les follicules pileux, la peau guérit, en absence d'infection, en 3 à 8 semaines avec une cicatrice majeure voire perte de fonction.

c. Brûlure du troisième degré

Atteinte de la totalité de la peau et parfois même de l'hypoderme. La région brûlée prend une couleur blanche ou brune parfois noire et un aspect cartonné. Toutes les cellules sont détruites y compris les terminaisons nerveuses rendant la plaie indolore. Aucune régénération de la peau n'est possible et la greffe de la peau s'avère plus que nécessaire.

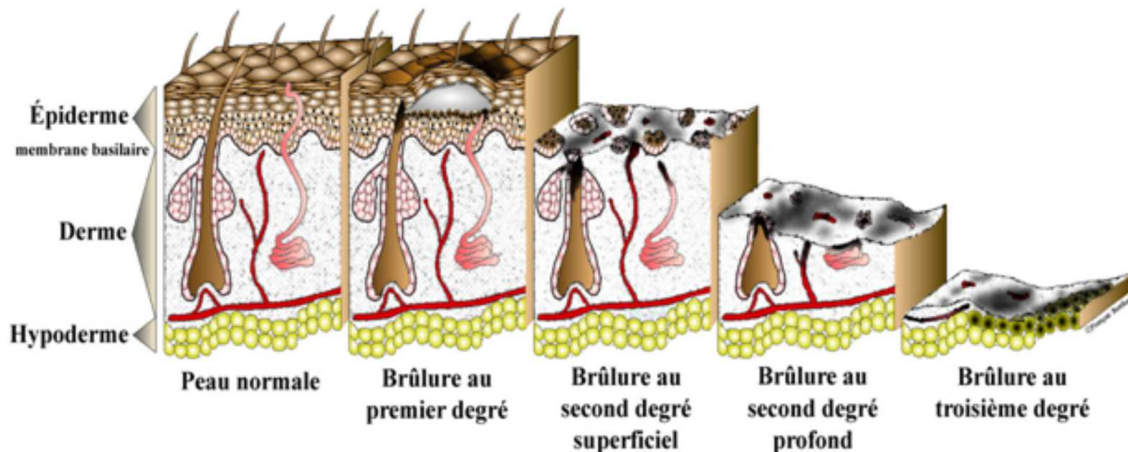


Figure 10. Degrés de brûlures (François Berthod, LOEX).

5.2.2. Etendue ou surface brûlée

La surface de la peau brûlée peut être estimée par la méthode des neuf de Wallace (Fig. 11). Cependant, cette méthode n'est qu'approximative et ne s'applique que chez l'adulte. Une autre méthode, plus précise que la précédente, celle de Lund et Browder est utilisée pour estimer la surface brûlée chez les adultes et les enfants (tableau 1) (Marieb 2008; Yasti et al. 2015).

5.2.3. Localisation des brûlures

Certaines localisations de la brûlure sont compliquées et augmentent le risque vital et fonctionnel. Les brûlures au visage entraînent la formation rapide d'un œdème et une détresse respiratoire aiguë. Les brûlures circulaires du cou entraînent une asphyxie, les brûlures du périnée et des organes génitaux externes comportent un risque infectieux potentiel et un risque d'obstruction du méat urétral (Essayagh 2013).

Tableau 1. Estimation de la surface brûlée par la table de Lund et Browder (Breden Toulouse 2006).

Age	Surface (%)					
	Nouveau-né	1 an	5 ans	10 ans	15 ans	Adulte
Tête x2	9.5	8.5	6.5	5.5	4.5	3.5
Cou x2	1	1	1	1	1	1
Tronc x2	13	13	13	13	13	13
Bras x4	2	2	2	2	2	2
Avant- bras x4	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
Main x4	1.25	1.2	1.2	1.25	1.25	1.25
Organe génital	1	1	1	1	1	1
Fesse x2	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5
Cuisse x4	2.75	3.2	4	4.25	4.5	4.75
Jambe x4	2.5	2.5	2.7	3	3.25	3.5
Pied x4	1.75	1.7	1.7	1.75	1.75	1.75
Total	100	100	100	100	100	100

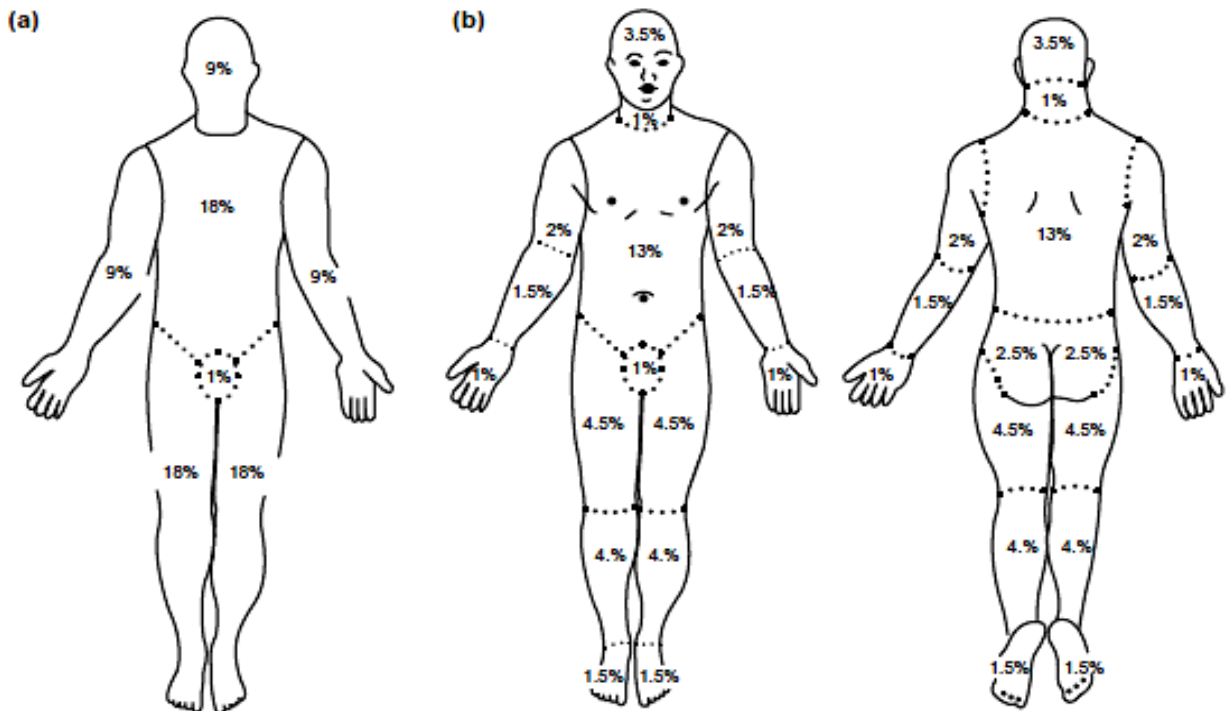


Figure 11. Evaluation de la surface corporelle brûlée par la règle des neuf de Wallace chez l'adulte (Yasti et al. 2015).

5.2.4. Aspects d'une brûlure

a. La rougeur

Une simple rougeur de la peau traduit une atteinte superficielle de la peau. Si une brûlure présente des cloques entourées par une zone rouge (derme rouge) et que cette rougeur blanchit quand on appuie dessus avec le doigt ; cela signifie que les vaisseaux sanguins fonctionnent normalement. Dans le cas d'une brûlure où le derme prend une couleur blanche, ceci traduit une destruction des vaisseaux sanguins et l'arrêt de la circulation du sang. Dans le premier cas c'est une brûlure du second degré superficiel alors que dans le second cas c'est une brûlure du second degré profond (Tiwari 2012).

b. Les cloques ou phlyctènes

Uniques ou multiples et plus ou moins étendues, les cloques sont des vésicules remplies d'un liquide transparent. Si celles-ci se rompent après la phase de brûlure, c'est une brûlure du second degré superficiel. Si par contre, elles se rompent lors de la brûlure c'est généralement une brûlure du second degré profond (Tiwari 2012).

c. La carbonisation

La peau, ressemblant à de la cire, est pâle ou noirâtre ou brunâtre. Toutes les couches de la peau sont atteintes. Ces brûlures sont souvent peu douloureuses car les terminaisons nerveuses ont été détruites. Ce sont des brûlures du troisième degré. La perte de liquide est importante (Benson et al. 2006).

5.2.5. Douleur de la brûlure

La présence de douleur associée à la brûlure renseigne sur l'atteinte ou non des structures nerveuses. Si la douleur est faible, les terminaisons nerveuses ont été brûlées (Benson et al. 2006).

5.2.6. Infection

Une peau brûlée est stérile pendant 24 h à peu près. Après cette période, les microbes peuvent envahir et se multiplier dans cette région où la barrière protectrice a disparu. L'infection peut être aggravée dans les cas des brûlures graves car le système immunitaire se trouve affaibli dans les jours qui suivent la brûlure (Merieb 2008). L'infection représente la principale cause de mortalité chez les grands brûlés (Essayagh 2013).

L'infection chez les brûlés est un risque doublé qui arrête le processus de la cicatrisation et approfondit les lésions. En outre, l'invasion des couches inférieures par des microorganismes peut aussi provoquer des septicémies et des dysfonctionnements dans les différents organes (Church et al. 2006). L'infection peut avoir une origine endogène, à partir

de la peau ou du tube digestif, ou exogène, par contamination à partir de l'air, des objets ou du personnel soignant. Les germes les plus souvent en cause sont *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus* (Essayagh 2013).

5.3. Traitement des brûlures

Le traitement médical des plaies y compris les plaies de brûlure consiste en l'administration de médicaments topiques ou oraux. Les agents en application topiques sont des antiseptiques et des antibiotiques tels que la chlorhexidine, bétadine, aminoglycosides, métronidazole ou encore la sulfadiazine argentique; des agents empêchant l'escarrification tels que le peroxyde d'hydrogène, pommade à la collagénase, eusol; et des agents promouvant la cicatrisation tels que la trétinoïne, extrait d'*aloe vera*, miel, peroxyde de benzoyl, extrait de *camomille*... etc. Certains traitements chimiques ont montré des effets secondaires chez les malades ou sont onéreux et/ou indisponibles pour tout le monde. Les effets secondaires consistent en des allergies, la toxicité et la résistance microbienne aux antibiotiques (Bairy 2002; Somboonwong et al. 2012; Barku et al. 2013; Zhang et al. 2015).

Diverses substances végétales, vitamines, minéraux ont été rapportées ayant un effet cicatrisant. On estime que le tiers des substances utilisées en médecine traditionnelle sont employées dans le traitement des plaies et des problèmes cutanés comparés aux médicaments modernes 1 à 3 % (Ghacemi Pirbalouti et al. 2011). Les extraits aqueux, huiles essentielles, pommade et autres préparations à partir de plantes médicinales sont indiqués dans le cas de brûlures externes du premier et second degré. Des traitements à base de plantes riches en polyphénols et tannins sont généralement utilisés ayant un effet astringent, antiseptique, anti-inflammatoire et cicatrisant, capables d'accélérer la réparation du tissu endommagé (Ghacemi Pirbalouti et al. 2011; Mogoşanu et al. 2012).

5.4. Cicatrisation des plaies de brûlures

La cicatrisation des plaies est un processus complexe et dynamique en réponse à une lésion dans les tissus, propre à chaque organisme. C'est une cascade de réactions menant à la restauration du tissu endommagé (Vanwijck 2003; Osman et al. 2013). L'épiderme guérit par régénération c'est-à-dire qu'il récupère sa structure et ses fonctions originales. Cependant, le derme guérit par réparation c'est-à-dire que le tissu d'origine est remplacé par un tissu conjonctif non spécifique avec, comme résultat, la formation d'une cicatrice moins fonctionnelle (Laplante 2002).

La capacité de la plaie à se régénérer reste soumise à de nombreuses contraintes. La rapidité et la qualité de la cicatrisation dépendent de l'état général de l'organisme, l'âge, de

l'étiologie de la lésion, de l'état et de la localisation de la plaie et de la survenue ou non d'une infection. Toute perturbation de l'une de ces phases peut aboutir à un retard ou une complication de la cicatrisation et donc à une plaie chronique (Li et al. 2005). Par exemple les diabétiques présentent des anomalies du tissu conjonctif avec peu de collagène altérant ainsi le processus de guérison des tissus (Al Bayaty et al. 2010).

5.4.1. Cicatrisation par première et par seconde intention

Une plaie peut se cicatriser par deux voies (Boucher 2005) :

a. par première intention

Dans le cas où la lésion n'est pas importante et que peu de tissu est détruit, en absence de corps étrangers ou d'agents infectieux et que les bords de la plaie sont rapprochés.

b. par seconde intention

Dans le cas où les bords de la plaie sont trop éloignés et ne peuvent pas être réunis. Elle est caractérisée par une forte inflammation et par la formation d'un caillot sanguin nécessaire à la migration cellulaire et protégeant la plaie de l'environnement extérieur.

5.4.2. Mécanismes physiologiques de la cicatrisation

La cicatrisation des plaies implique des processus variés tels que la coagulation, l'inflammation, la synthèse de la matrice, l'angiogénèse, la fibroplasie, la réépithélialisation, la contraction et le remodelage (Fig. 12) (Osman et al. 2013).

Les processus de cicatrisation par première et par seconde intention sont presque similaires comprenant les mêmes phases. Toutefois, la cicatrisation par seconde intention va présenter une phase inflammatoire plus intense du fait d'une plus grande quantité de débris cellulaires à éliminer, un tissu de granulation et une surface à réépithélialiser plus étendues et une contraction plus prononcée de la plaie en raison de la taille de celle-ci (Laplane 2002).

5.4.2.1. Phase inflammatoire

L'aspect cellulaire de la phase inflammatoire se produit en quelques heures après une lésion et est caractérisée par la libération de plusieurs cytokines proinflammatoires, peptides cationiques, protéases, espèces oxygénées réactives et facteurs de croissance permettant le nettoyage de la plaie. En effet, après la blessure, plusieurs événements interviennent : vasoconstriction, aggregation des plaquettes sanguines et formation du caillot sanguin puis vasodilatation. Les plaquettes sanguines se lient aux structures matricielles endommagées et libèrent des substances qui vont arrêter l'hémorragie. Celles-ci libèrent une variété de facteurs de croissance, cytokines, fibrinogènes, des composantes du complément et d'autres agents de

survie ou d'induction de l'apoptose. La libération de fibrinogène et de trombine conduit à la transformation du fibrinogène en fibrine et formation du caillot sanguin qui servira de matrice provisoire pour la migration des cellules (Hé 2006). La matrice de fibrine est riche de fibronectine, de glycosaminoglycanes comme l'acide hyaluronique et fibrinogène. En outre, les facteurs de croissance libérés par les plaquettes comprennent les PDGF (*Platelet-derived growth factor*), les TGF (*Transforming growth factors*), les EGF (*Epidermal Growth Factor*) et les IGF (Insulin-like Growth Factor) qui attirent les cellules inflammatoires (leucocytes, neutrophiles et macrophages), lors de la vasodilatation, au site de la plaie et sont aussi responsables de l'activation et la stimulation des fibroblastes et des cellules endothéliales (Laplanche 2002 ; Enoch et Leaper 2007).

Les cellules immunitaires se rendent sur place, les neutrophiles étant le type cellulaire le plus fréquent dans les premières 48 heures après la blessure. Les neutrophiles migrent dans la plaie en même temps que les monocytes (qui deviendront des macrophages) et éliminent les débris de tissus nécrosés ainsi que les bactéries (c'est la détersion). En absence d'infection, le nombre de neutrophiles diminuera progressivement au profit des macrophages qui sont essentielles pour la guérison des plaies par la phagocytose des débris et des bactéries ainsi termineront le nettoyage de la plaie (Demidova-Rice et al. 2012). Les macrophages et les plaquettes libèrent également des substances favorisant la prolifération des fibroblastes ainsi que leur synthèse de collagène. La phase inflammatoire se termine par la mort des cellules inflammatoires qui se déroule graduellement durant les jours qui suivent la plaie (Boucher 2005 ; Osman et al. 2013).

5.4.2.2. Phase proliférative (réépithélialisation et formation du tissu de granulation)

La formation d'une matrice provisoire de fibrine et de fibronectine permet à différents types cellulaires (kératinocytes, fibroblastes, cellules endothéliales et immunitaires) de migrer à travers ou sur celle-ci et de débiter le processus de remplacement du tissu produit. Dans le cas des brûlures du premier et deuxième degré, la réépithélialisation s'effectue à partir des marges de la plaie et des follicules pileux (Hé 2006). Le tissu de granulation se forme dans la partie dermique pour mener à la réparation de ce tissu. Cependant, dans le cas d'une brûlure du troisième degré la réépithélialisation se fait qu'à partir des marges de la plaie, et la formation du tissu de granulation prend une importance majeure dans la cicatrisation. Durant cette phase une couche épithéliale est formée sur la surface dénudée. Cette couche fournit un joint entre la blessure sous-jacente et le milieu environnant (Osman et al. 2013).

Le processus commence 48 heures après les lésions tissulaires. L'épiderme se régénère à partir des kératinocytes. Les kératinocytes sains à proximité de la plaie migrent, prolifèrent et

se différencient afin de recouvrir et protéger cette dernière le plus rapidement possible, limitant ainsi les pertes liquidiennes, en plus de recréer le milieu interne et des conditions plus physiologiques favorisant le processus de guérison. Les kératinocytes s'activent, adaptent leur morphologie à la migration, migrent et prolifèrent pour réépithélialiser la plaie (Abdeldjelil 2016). En présence d'une croûte ou d'un caillot, les cellules épithéliales migrent sous la croûte et sécrètent diverses protéases et collagénases qui permettent de dissoudre la base de la croûte une fois que les cellules épithéliales ont recouvert toute la perte de substance. A la fin de la réépithélialisation, toutes les couches de la peau sont reconstituées. La membrane basale est reformée alors que les cellules épithéliales retrouvent un phénotype différencié. Cependant, le recouvrement épithélial reste toujours incomplet et dépigmenté (Osman et al. 2013).

Alors que la plaie se réépithélialise en surface, le tissu de granulation se forme dans le compartiment sous-jacent. Après la disparition des neutrophiles, ce sont les macrophages, éosinophiles et fibroblastes qui deviennent les cellules majoritaires de la plaie. Les fibroblastes soutiennent la croissance capillaire (angiogenèse), la formation de collagène et la formation de tissu de granulation au niveau de la brûlure. Ceux-ci commencent à synthétiser une matrice riche en fibronectine et en collagène ainsi qu'en glycosaminoglycanes et protéoglycanes qui sont les principaux composants de la matrice extracellulaire; comblant ainsi la plaie. Ceci requiert la migration des fibroblastes des bords de la plaie au site de la plaie, leur prolifération et la production de matrice extracellulaire; c'est la fibroplasie (Laplanche 2002; Guo et Di-Pietro 2010).

Une néovascularisation est observée durant cette phase par bourgeonnement de nouveaux capillaires sanguins à partir des vaisseaux sanguins adjacents, ce qui permet d'apporter l'oxygène et les nutriments aux nombreuses cellules en prolifération de la plaie en réparation. Ces processus permettent la formation du tissu de granulation (Boucher 2005).

Au fur et à mesure que la nouvelle matrice extracellulaire est synthétisée, les fibroblastes adoptent un phénotype myofibroblastique caractérisé par leur forme allongée et la présence de paquets de filaments d'actine le long de leur membrane plasmique. Finalement, les myofibroblastes contractent la plaie rapprochant ainsi ses bordures, c'est la contraction (Hé 2006). La contraction se produit sous l'épithélium néoformé qui est progressivement effacé au fur et à mesure que les marges cutanées épaisses se rapprochent. La contraction cesse lorsque les marges de la plaie se rencontrent (Osman et al. 2013).

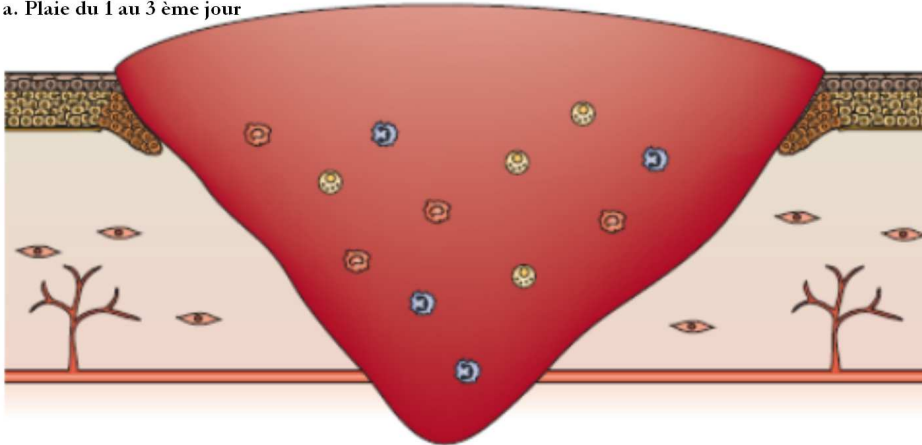
5.4.2.3. Phase de maturation ou de remodelage

La phase de remodelage est caractérisée par le remplacement du tissu de granulation formé par un tissu cicatriciel s'approchant plus du tissu normal. Cette phase comprend des modifications tardives de l'épithélium, des annexes épidermiques, de la vascularisation et de l'innervation. Elle peut prendre du temps, de quelques mois à quelques années, et le tissu cicatriciel en résultant n'aura jamais toutes les caractéristiques du tissu sain (Li et al. 2005).

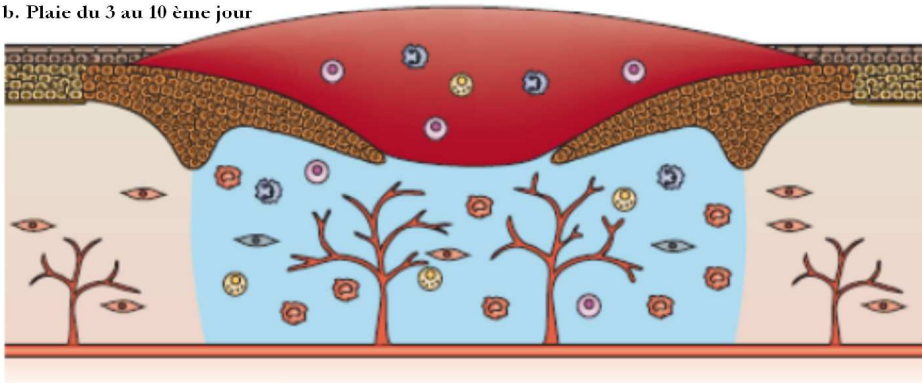
La matrice riche en collagène de type III est remplacée en une matrice riche en collagène de type I, en élastine et en protéoglycanes. Les fibres de collagènes deviennent organisées conférant à la peau sa force de tension et élasticité grâce auxquelles la peau revient en place après étirement, et la fibronectine, l'acide hyaluronique et les glycosaminoglycanes disparaissent progressivement et sont remplacés par les protéoglycanes. Ces événements permettent aux fibres de collagènes de se lier plus étroitement et diminuer l'épaisseur de la cicatrice. Les vaisseaux sanguins diminuent en nombre et deviennent mature (Tran 2008; Orsted et al. 2011).

Finalement, le nombre de cellules présentes dans le tissu diminue par apoptose pour ne laisser qu'un nombre normal de fibroblastes. La synthèse fibroblastique s'équilibre avec la collagénolyse. Le tissu de granulation évolue d'un tissu jeune très vascularisé et très cellulaire vers un tissu de granulation mature peu vascularisé, fibreux et plus résistant (Boucher 2005).

a. Plaie du 1 au 3 ème jour



b. Plaie du 3 au 10 ème jour



c. Plaie du 7 au 14 ème jour

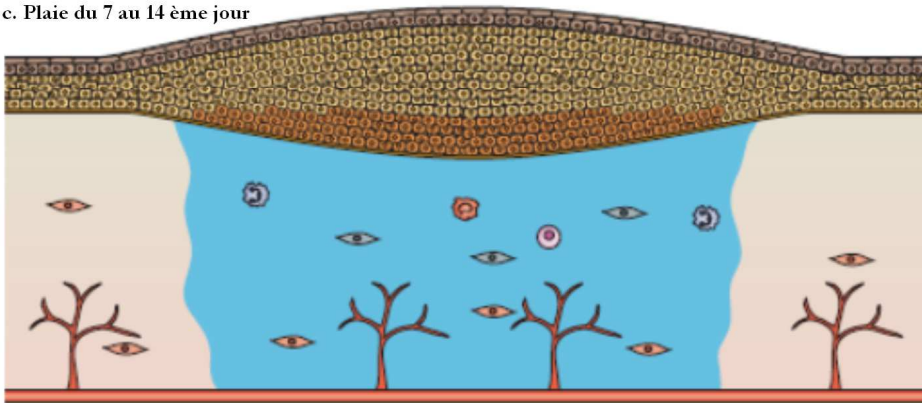


Figure 12. Phases de la cicatrisation de la plaie cutanée (Schäfer et Werner 2008).

Matériel et méthodes

Chapitre II. Matériel et méthodes

1. Matériel végétal et préparation des extraits

Le choix des plantes à étudier s'est fait sur la base d'une enquête ethnobotanique effectuée auprès de la population locale des régions arides en Algérie. Ce sont des plantes autochtones présentant diverses propriétés thérapeutiques et qui sont très utilisées en médecine traditionnelle locale.

La partie utilisée de chaque plante est choisie sur la base de son utilisation en médecine traditionnelle. Le principe est d'utiliser un matériel biologique qui soit disponible et accessible tout au long de l'année et qui donne un résultat satisfaisant.

Différents extraits sont préparés des parties choisies afin d'obtenir une activité biologique optimale. Le pH, la conductivité électrique et le rendement de chaque extrait sont déterminés.

Le rendement est défini comme étant le rapport entre la masse d'extrait obtenue (M') et la masse de matière végétale utilisée (M). Il est exprimé en pourcentage selon la formule :

$$\text{RDT (\%)} = \text{M}' / \text{M} \times 100$$

RDT : Rendement en extrait (%).

M' : Masse d'extrait en gramme (g) ou en millilitre (ml).

M : Masse de la matière végétale sèche utilisée en gramme (g).

- *Allium cepa*

Les bulbes d'oignon rouge local *A. cepa* obtenus directement du marché sont pelés et découpés en morceaux puis pressés et passés à l'étamine afin de récupérer le jus. Ce dernier est conservé hermétiquement au réfrigérateur à 4 °C.

- *Allium sativum*

L'ail *A. sativum* produit localement est utilisé. Les gousses d'ail sont pelées et pressées à l'aide d'un presse-ail puis passées à l'étamine pour récupérer le jus qui est par la suite conservé hermétiquement au réfrigérateur à 4 °C.

- *Peganum harmala*

Les graines de *P. harmala* ont été collectées après leur maturité en Automne 2015 du Sud de la région de Tiaret (Fig. 13). L'extrait des graines est préparé selon la méthode décrite par Diwan (2013) et Shohaib et al. (2016). Les graines de *P. harmala* sont bien nettoyées et

séchées pendant quelques jours, ensuite réduites en poudre à l'aide d'un broyeur. 50 g de la poudre sont additionnés à 500 ml de méthanol (99.99 %) puis agités pendant 24 h à température ambiante et à l'abri de la lumière. Le mélange est ensuite filtré puis séché à l'étuve à 40 °C. Une fois sec, l'extrait est conservé au réfrigérateur à 4 °C et à l'abri de la lumière.



Figure 13. Graines de *Peganum harmala*.

- ***Ziziphus lotus***

Les tiges de *Z. lotus* ont été récoltées au niveau de la région de Tiaret en Automne 2015 (Fig. 14). L'extrait est préparé comme décrit par Naili et al. (2010) ; les tiges récoltées sont séchées à température ambiante et à l'abri de la lumière puis transformées en poudre à l'aide d'un broyeur. 10 g de poudre de tiges sont mélangés avec 100 ml de méthanol (99.99 %) puis mis sous agitation pendant 24 h à l'abri de la lumière. Les deux mélanges sont ensuite filtrés avec du papier filtre puis séchés à l'étuve à 40 °C. Après séchage, l'extrait est conservé au réfrigérateur à 4 °C et à l'abri de la lumière.

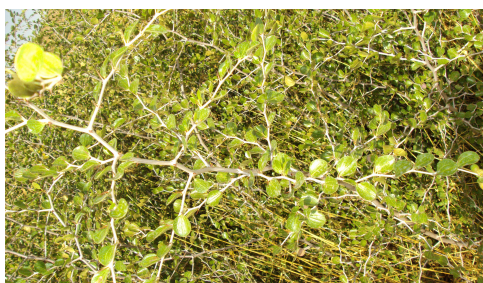


Figure 14. Tige de *Z. lotus*.

- ***Cirsium dissectum***

Les racines de *C. dissectum* (Fig. 15) ont été récoltées en 2016 de la région de Tissemsilt (Algérie) pendant l'été comme préconisé par la population locale. Les racines des

plantes sont nettoyées avec de l'eau, épluchées, défragmentées puis mises dans de l'eau bouillante jusqu'à l'obtention du gel. Ce procédé est le même que celui utilisé par la population locale lors de leurs préparations en médecine traditionnelle.

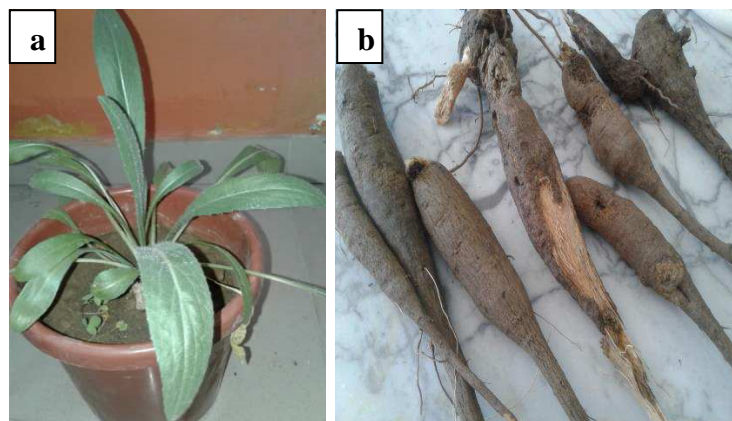


Figure 15. Partie aérienne (a) et racines de *Cirsium dissectum* (b).

2. Miel

Le miel est un produit connu depuis les temps anciens pour ses propriétés thérapeutiques favorisant la cicatrisation des plaies. Le miel utilisé dans cette étude nous a été fourni par un apiculteur local de la région de Tiaret (Fig. 16). Le pH, la conductivité électrique et la teneur en eau du miel sont mesurés. La détermination de l'origine botanique du miel est faite par une étude méliissopalynologique.



Figure 16. Miel

2.1. pH et conductivité électrique

Le pH et la conductivité électrique sont mesurés sur une solution à 20 % (masse/volume) de miel dans de l'eau distillée suivant El Sohaimy et al. (2015). La plupart des miels sont acides. Les miels de nectar, très acides, ont un pH compris entre 3,5 et 4,5. Les miels de miellats, moins acides, ont un pH supérieur à 4,5 (Schweizer 2005).

La conductivité électrique dépend de la teneur en cendres et en acides du miel : plus leur contenu est élevé, plus la conductivité résultante est élevée. La conductivité permet d'avoir une idée sur l'origine botanique du miel. Cette mesure est très souvent utilisée dans les contrôles de routine de la qualité et de la pureté du miel (IHC 2009). Elle est d'autant plus élevée que le miel est foncé par la présence de matières minérales. Le miel de nectar, les mélanges de miel de nectar et de miel de miellat ont une conductivité inférieure à 0,8 mS/cm et le miel de miellat et le miel de châtaignier, supérieure à 0,8 mS/cm (Codex Stan 12-1981; Rakotondraparany 2011).

2.2. Teneur en eau

La teneur en eau du miel est un critère de qualité qui permet de déterminer la capacité du miel à rester stable et à résister à la détérioration par fermentation (IHC 2009). Un miel conforme aux normes présente une teneur en eau inférieure à 20 % généralement variant de 12,5 à 18 % (Codex Stan 12-1981).

La teneur en eau est déterminée par la mesure de l'indice réfractométrique comme décrit par l'International Honey Commission (IHC) (2009). Le miel est liquéfié dans un flacon fermé hermétiquement à 50 °C puis une goutte de celui-ci est déposée sur le prisme du réfractomètre et répartie en couche mince. Après fermeture de l'appareil, l'indice de réfraction est lu tout en notant la température du prisme. L'appareil doit être étalonné avec de l'eau distillée. Si la mesure est effectuée à une température différente de 20 °C, la lecture doit être corrigée pour ramener l'indice de réfraction à 20 °C. Le facteur de correction est de 0,00023 par degré Celsius. La correction est additive, si la mesure est faite au-dessus de 20 °C, soustractive dans le cas contraire. La teneur en eau correspondant à chaque indice de réfraction à 20 °C est déterminée en se rapportant au tableau de Chataway (Annexe 1).

2.3. Etude méliissopalynologique du miel

La méliissopalynologie est l'étude des grains de pollens dans le miel. Elle a pour but la détermination de son origine géographique, l'origine botanique et d'éventuelles fraudes.

- **Identification des grains de pollens**

La détermination de l'origine géographique et de l'origine botanique repose sur l'identification des pollens et des autres constituants du sédiment d'un miel ainsi que sur leur dénombrement. L'identification se fait avec l'aide des données tirées des publications spécialisées et au moyen de préparations de comparaison (Louveaux et al. 1970).

Selon le protocole décrit par Song et al. (2012) avec quelques modifications; 10 g de miel sont dissous dans 20 ml d'eau tiède (< 40 °C) puis centrifugés à 3000 tr/ min pendant 10 min. Le surnageant est transvasé et le culot traité avec un mélange d'acide sulfurique (5 g H₂SO₄ concentré pour 1 litre d'eau distillée). Le tout est centrifugé pendant 10 min à 3000 tours/ min et à température ambiante puis le culot récupéré. Ce dernier est rincé avec l'eau distillée (10 ml) puis centrifugé de nouveau à 3000 tr/ min pendant 10 min. Le culot obtenu est agité et porté sur la lame porte objet à l'aide d'une pipette Pasteur. Après séchage de la lame à l'étuve (< 40 °C), l'inclure dans la glycérine gélatinée liquéfiée au bain Marie à 40 °C. Recouvrir d'une lamelle et passer à l'observation au microscope.

- **Analyse pollinique quantitative**

Le nombre de grains de pollens contenu dans le miel est déterminé par la formule suivante :

$$N = (F/ f). n$$

N : nombre de pollens dans 10 g de miel.

n : nombre de grains de pollens dénombrés à partir d'un champs d'observation.

F : surface sur laquelle est étalé le volume de la suspension étudiée.

f : surface du champs sur lequel le dénombrement se fait.

La détermination des classes de fréquences repose sur le traitement de 200 à 300 grains de pollen et des indicateurs de miellat correspondants. Pour les spectres polliniques pauvres en espèces 200 grains de pollen suffisent; pour ceux qui sont riches en espèces, il est nécessaire de traiter 300 grains.

La détermination du nombre absolu d'éléments figurés végétaux présents dans l'unité de poids de miel permet selon Maurizio de classer les miels en (Louveau et al. 1970) :

- *Classe I*: miels pauvres en pollens avec une teneur absolue inférieure à 20.000/ 10 g.
- *Classe II*: miels à teneurs moyennes en pollens (20.000-100.000 grains de pollens/ 10 g).
- *Classe III*: miels riches en pollens (100.000-500.000/ 10g).
- *Classe IV*: miels riches en pollens (500.000-1.000.000/ 10g).
- *Classe V* : miels riches en pollens avec une teneur supérieure à 1000000/ 10g.

Les indications de fréquence en pourcentages ne sont acceptables dans la formulation des résultats que lorsque les numérations ont été faites sur 1200 grains de pollen au moins. Les pollens sont identifiés et groupés en (Zitouni et al. 2014) :

- Pollen dominant : plus de 45 %.
- Pollen d'accompagnement : 15 à 45 %.

- Pollen isolé important : 3 à 15 %.
- Pollen isolé rare : moins de 3 %.

Un miel est dit miel d'une espèce donnée lorsqu'il contient de 45 % à plus de pollens. Lorsqu'on ne trouve pas de pollen dominant, il est dit multifloral.

3. Souches microbiennes

Le choix des microorganismes s'est fait sur la base de leur prévalence dans les différentes infections communes à savoir; les infections nosocomiales, les infections cutanées, génitales, et urinaires ainsi que les toxi-infections alimentaires. Les souches testées dans cette étude ont été délivrées par le centre hospitalo-universitaire (CHU) Mustapha Pacha d'Alger, Algérie.

- *Staphylococcus aureus* (ATCC 33862) : Cocci à Gram positif, non sporulés, immobiles, se divisant en plusieurs plans en forment des amas irréguliers (Bourgeois 1996). Les infections staphylococciques occupent en pathologie infectieuse une place importante par leur nombre et leur gravité. *S. aureus* est généralement la bactérie la plus pathogène elle est retrouvée dans les intoxications alimentaires, infections urinaires et infections cutanées. Elle présente une résistance à plusieurs antibiotiques (Plata et al. 2009).

- *Escherichia coli* (ATCC 25922) : Coccobacilles Gram négatif. C'est un hôte normal de l'intestin de l'homme et des animaux. Cette bactérie est impliquée dans de nombreuses infections à point de départ digestif ou urinaire (principalement chez la femme) et suppurations localisées. Elle est aussi responsable d'infections néonatales qui peuvent se traduire par une méningite ou une septicémie (Larpent et Larpent-Gourgau 1985).

- *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) : Bacilles à Gram négatif, mobiles par cils polaires, aérobies stricts. La production d'un pigment est assez commune dans le genre. Ils représentent la cause majeure des infections nosocomiales et présente une résistance à plusieurs antibiotiques. L'infection siège au niveau du système respiratoire inférieur (Mesaros et al. 2007).

- *Candida albicans* (isolat clinique) : C'est un champignon diploïde et encapsulé classé parmi les polymorphes car il peut prendre l'aspect de levures ou l'aspect de pseudo-hyphes. Il vit à l'état normal dans la bouche, le vagin et le tube digestif de l'être humain. Il est responsable d'infection superficielle aussi bien que systémique. Les infections superficielles comprennent le muguet. Cette levure peut provoquer des infections du vagin de la bouche ou des poumons. Elle est parmi les causes majeures des infections nosocomiales opportunistes (Hart et Shears 1997; Delarras 2007).

3.1. Préparation de l'inoculum standardisé

Préalablement à l'expérimentation, les souches sont inoculées dans la gélose nutritive. Une observation microscopique après coloration simple et de Gram est effectuée pour confirmer la pureté des souches. Les suspensions microbiennes sont préparées dans de l'eau physiologique à partir de cultures de 24 h et la densité optique est ajustée à 0.5 McFarland ce qui correspond à environ 10^8 cellules/ ml.

4. Animaux d'expérience

Les animaux utilisés dans cette étude pour l'évaluation de l'activité cicatrisante des préparations testées sont des souris de la lignée Balb/ C (Bagg Albino), fournies par l'Institut Pasteur d'Alger. Cette souche est caractérisée par une bonne réponse immunitaire aux différents antigènes et est souvent utilisée dans ce genre d'essais (Ghasemi-Pirbalouti et al. 2011).

En effet, les souris de laboratoire, servent de modèle principal dans l'étude de la biologie humaine (Wood et Hart 2007). C'est l'un des modèles animaux les plus utilisés dans les études impliquant la guérison des plaies. En effet, le temps de guérison ainsi que le taux de mortalité sont réduits chez cet animal (Abdullahi et al. 2014).

Des souris adultes mâles et femelles d'un poids moyen de 30 à 35 g sont élevées dans des cages dotées de biberons d'eau et nourries avec un aliment pour rongeurs (tourteaux agglomérés) ad libitum. Les animaux sont maintenus sous une température ambiante et un éclairage naturel.

5. Caractérisation de l'activité biologique

5.1. Activité antimicrobienne

a. Concentration minimale inhibitrice (CMI)

L'activité antimicrobienne est évaluée en déterminant la concentration minimale inhibitrice (CMI). C'est la plus faible concentration de l'agent antimicrobien inhibant la croissance des souches testées (Madigan et Martinko 2007).

La CMI du miel ainsi que celles des différents extraits (jus d'ail et d'oignon ainsi que les extraits méthanoliques de *Z. lotus* et *P. harmala*) ont été déterminées par la méthode de dilution qui consiste à incorporer l'extrait dans la gélose. En effet, parmi les méthodes de dilution, cette technique est la plus convenable vu que les extraits des plantes colorent le milieu empêchant ainsi la détection de toute croissance microbienne dans le milieu liquide (Balouiri et al. 2016). Brièvement, différentes concentrations de chaque échantillon sont incorporées (séparément) dans la gélose Mueller-Hinton (MH) fondue puis coulées dans des boîtes de Petri avec un volume final (échantillon-gélose) de 10 ml. Les boîtes de Petri sont ensuite inoculées avec la suspension standardisée des différents microorganismes testés puis incubées à 37 °C pendant 24 h.

Des boîtes de Petri ne contenant que la gélose MH inoculées avec chaque souche microbienne à part sont utilisées comme témoin de la viabilité des souches.

b. Activité antimicrobienne synergique miel - extraits de plantes médicinales

Afin de démontrer un potentiel effet synergique entre le miel et les différents extraits (jus d'ail et d'oignon ainsi que les extraits méthanoliques de *Z. lotus* et *P. harmala*), la méthode des isoboles de Berenbaum (1977) est utilisée comme référence. Un isobole est une ligne ou une courbe entre deux points (deux substances) reflétant le même effet (effet antimicrobien). L'axe des x et y reflètent la dose de chaque substance. Plusieurs combinaisons de doses sont testées pour le même effet (dans ce cas l'effet inhibiteur sur les microorganismes).

Selon Berenbaum (1977), l'effet additif ou effet zéro signifie que l'action de deux substances n'est que leur somme et est représenté par une ligne droite. Par contre, l'effet antagoniste est inférieur à la somme des deux substances et est représenté par une courbe convexe. Alors que l'effet synergique est supérieur à la somme des deux produits et est représenté par une courbe concave (Fig. 17) (Ulrich-Merzenich et al. 2010).

Brièvement, après la détermination des CMI de chaque produit naturel, des isoboles représentant des courbes concaves sont réalisés en prenant comme points les différentes

concentrations de miel (axe x) avec les concentrations de chacun des extraits (axe y) étudiés, en dessous de leur CMI respectives. Ces valeurs sont utilisées afin de déterminer une éventuelle activité antimicrobienne synergique entre le mélange miel avec chacun des extraits à part. Ensuite, la même procédure que celle utilisée pour déterminer la CMI est suivie. Différentes concentrations des mélanges (miel-extrait) sont incorporées dans la gélose MH pour un volume final de 10 ml puis coulées dans des boîtes de Petri. Les boîtes sont par la suite inoculées par les suspensions standardisées de chaque microorganisme testé puis incubées à 37 °C pendant 24 h.

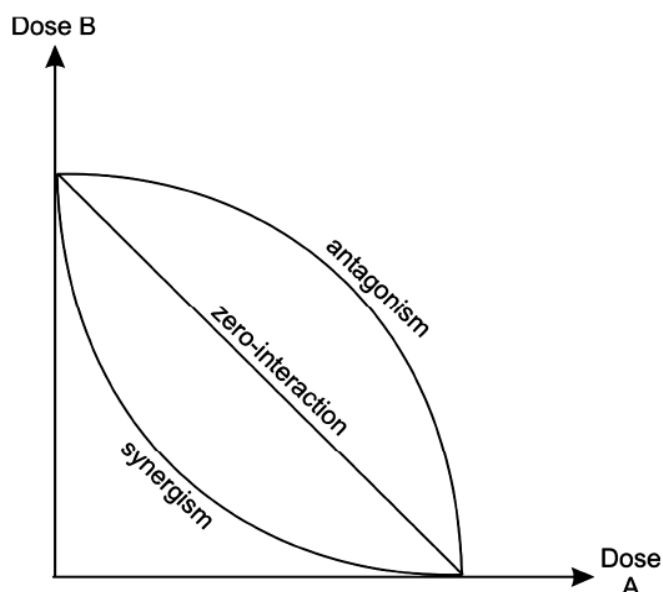


Figure 17. Isoboles des différents types d'interactions selon Berenbaum (1977).

L'effet synergique est identifié lorsque les différentes concentrations des mélanges testés montrent une inhibition de la croissance microbienne. Tous les essais sont réalisés en triple. Des boîtes de Petri ne contenant que la gélose MH inoculées avec chaque souche microbienne à part sont utilisées comme témoin de la viabilité des souches

5.2. Activité antioxydante

L'activité antioxydante du miel ainsi que celle des extraits des plantes étudiées (jus d'ail et d'oignon, les extraits méthanoliques de *Z. lotus* et *P. harmala* ainsi que l'extrait aqueux de *C. dissectum*) sont déterminées. Des mélanges à 50-50 % miel- extrait sont également préparés et testés pour leurs activités antioxydantes. Le pH et la conductivité électrique sont également déterminés.

L'activité antioxydante *in vitro* des différents produits testés est évaluée par la mesure du pouvoir de piégeage du radical DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle). Les teneurs en

polyphénols totaux ainsi qu'en flavonoïdes totaux sont aussi mesurées.

a. Activité anti-radicalaire

L'activité anti-radicalaire est évaluée par la mesure de la diminution de l'absorbance d'une solution méthanolique de DPPH (Kumar et al. 2007). Brièvement, 5 ml d'une solution méthanolique de DPPH (33 mg/ l) sont ajoutés à 1 ml d'échantillon à différentes concentrations. Après 30 min d'incubation, l'absorbance est mesurée à 517 nm.

La détermination de l'activité anti-radicalaire de l'échantillon est évaluée de deux manières :

(a) la première consiste à réaliser une courbe d'étalonnage avec un antioxydant de référence comme l'acide ascorbique (vitamine C) et les résultats seront exprimés en mg d'équivalent en acide ascorbique/ g d'échantillon (EqAA/ g).

(b) La deuxième consiste à déterminer la quantité d'antioxydant nécessaire pour réduire 50 % de DPPH dite CI 50 (concentration inhibant 50 % de l'activité ou l'absorbance des radicaux DPPH). Comme il n'existe pas de mesure absolue de la capacité antioxydante d'un composé, les résultats sont comparés à un antioxydant de référence, comme l'acide ascorbique. Dans cette approche, on calcule tout d'abord l'activité anti-radicalaire en pourcentage (% RSA : *Radical Scavenger Activity*) de l'échantillon à différentes concentrations par la formule décrite ci-dessous. Pour s'affranchir de l'influence de la concentration, dans la majorité des études, la réactivité est estimée par la CI 50 de l'antioxydant (exprimée en mg antioxydant/ g DPPH•). La CI 50 est calculée en traçant les concentrations en chaque produit testé et en acide ascorbique, en fonction des pourcentages du DPPH inhibés à la fin de la réaction (Popovici et al. 2009).

$$\% \text{ RSA} = [(\text{Abs contrôle} - \text{Abs échantillon}) / \text{Abs contrôle}] \times 100\%.$$

Où :

Abs contrôle : absorbance du contrôle (solution de DPPH sans échantillon)

Abs échantillon : absorbance de l'échantillon

b. Polyphénols totaux

La composition en polyphénols totaux est déterminée suivant la méthode décrite par Nazari-Formagio et al. (2014) avec une légère modification. Brièvement, 50 µl d'échantillon sont additionnés à 750 µl de solution Folin Ciocalteu-eau (1:14) et incubés pendant 3 min. Par la suite, 200 µl de sodium carbonate (20 %) sont ajoutés, le tout est incubé pendant 30 min à température ambiante. L'absorbance est mesurée à 760 nm. Une courbe d'étalonnage est

tracée avec de l'acide gallique comme référence. La teneur en polyphénols totaux est exprimée en mg d'équivalent en acide gallique par g d'échantillon (EqAG/g).

c. Flavonoïdes totaux

La composition en flavonoïdes totaux est mesurée suivant la méthode décrite par Acharya et al. (2015). Brièvement, 3 ml de solution méthanolique d' AlCl_3 (2 %) sont additionnés à 3 ml d'échantillon puis incubés pendant 10 min. L'absorbance est mesurée à 430 nm. Une courbe d'étalonnage utilisant la quercétine comme référence est tracée. La teneur en flavonoïdes totaux est exprimée en mg d'équivalent en quercétine par g d'échantillon (EqQ/g).

5.3. Activité cicatrisante

L'activité cicatrisante est évaluée en se basant sur le protocole décrit par Ghasemi-Pirbalouti et al. (2011). Pour ce, dix-huit souris Balb C (9 mâles et 9 femelles) ont fait l'objet de cette étude.

Les souris sont injectées par voie intrapéritonéale d'un mélange anesthésiant xylazine-kétamine-eau distillée stérile (0.5-1-8.5 ml) avec un rapport de 0.1 ml/ 10 g de poids (Fish et al. 2008). Les poils dorsaux des souris sont bien rasés à l'aide d'une tondeuse électrique pour préparer la peau tout en évitant tout genre d'irritation cutanée.

Des fers ronds de 0.3 cm^2 sont utilisés pour induire les brûlures; ceux-ci sont chauffés dans un bain-Marie à 100°C pendant 15 min puis directement appliqués sur la peau des souris, préalablement rasée, pendant 20 s sans exercer de force (Fig. 18).

Quatre brûlures sont infligées sur la partie dorsale des animaux, chaque plaie reçoit un traitement donné qui est renouvelé quotidiennement jusqu'à cicatrisation de la plaie.



Figure 18. Induction des brûlures.

a. Traitement des plaies

Immédiatement après l'induction des plaies de brûlures, et pendant chaque jour, les plaies sont traitées, selon le type de traitement, par :

- Un traitement conventionnel en pommade à base de sulfadiazine argentique pour servir comme contrôle (FLAMAZOLE sulfadiazine argentique 1 % Crème; c'est un composé blanc, fortement insoluble qui est synthétisé à partir de nitrate d'argent et de sulfadiazine de sodium). Il est disponible sous forme de crème blanche contenant 1 % p/p de sulfadiazine d'argent dans un excipient hydrosoluble (McNulty et al. 2004).

- Un traitement par le miel pour évaluer son activité cicatrisante d'une part, et pour servir de comparaison avec les mélanges miel-extraits de plantes d'autre part.

- Un traitement par les extraits des plantes chacun à part à savoir le gel de *C. dissectum*, les extraits méthanoliques de *Z. lotus* et *P. harmala*, et les jus de *A. cepa* et *A. sativum*.

- Un traitement par les mélanges miel-extraits des plantes étudiées (50 %-50 %) chaque mélange à part.

Les traitements cités ci-dessus sont appliqués d'une manière aléatoire sur les quatre plaies de brûlures induites chez le même sujet en expérience.

Ces produits sont appliqués par voie topique une fois par jour jusqu'à ce que l'épithélialisation complète ait eu lieu. Les plaies sont maintenues couvertes durant la première semaine dès que possible à l'aide des compresses chirurgicales purifiées.

b. Cinétique de cicatrisation

La cinétique de cicatrisation des plaies de brûlures est déterminée à travers le suivi de l'évolution des dimensions des plaies tout en reportant sur des feuilles d'acétate transparentes les dimensions des plaies pendant toute la durée du traitement jusqu'à leur cicatrisation complète afin d'évaluer la contraction de la surface de chaque plaie (Meena et al. 2011).

c. Epithélialisation des plaies

L'épithélialisation est évaluée par la mesure du temps nécessaire à la croûte pour tomber et cicatrisation complète de la plaie (Udegbunam et al. 2014).

d. Etude histologique

A la fin de la cicatrisation des plaies, les souris sont euthanasiées et les tissus en sujet sont récupérés et conservés dans du formaldéhyde dilué à 10 % pour l'examen histologique. Le formaldéhyde a pour fonction de préserver le tissu des attaques bactériennes ainsi que de

l'autolyse. En outre, il rend le tissu plus résistant aux différents traitements chimiques qui suivront. Après fixation dans le formaldéhyde, les tissus préalablement découpés subissent une déshydratation par passages dans des bains d'alcool de degrés croissants puis dans des bains de xylène. Les prélèvements sont imprégnés de paraffine fondue pour les rigidifier; l'inclusion se fait dans des moules en inox. La paraffine liquide infiltre toute la pièce et après refroidissement, on obtient un bloc de paraffine dur à l'intérieur duquel la pièce prélevée est incluse (Chow et al. 2007).

La coupe du bloc de paraffine se fait au microtome qui permet de réaliser des rubans fins de 5 μ m d'épaisseur. Les coupes sont étalées sur des lames de verre puis séchées sur une plaque chauffante afin d'assurer une bonne adhésion tissu-lame avant leur coloration. Comme les colorants sont en solution aqueuse, les coupes doivent d'abord subir un déparaffinage (par la chaleur et des bains de xylène) puis une réhydratation en immergeant les lames dans des bains d'alcool de degrés décroissants puis dans de l'eau distillée. Après réhydratation, la coupe est colorée à l'Hématoxyline-Eosine qui est considérée comme la coloration de base en diagnostic. L'hématoxyline colore le noyau en bleu foncé alors que l'éosine colore le cytoplasme et les fibres du tissu conjonctif de différents degrés de rouge. Les coupes colorées sont montées entre lame et lamelle avec une résine synthétique ayant un indice de réfraction voisin de celui du verre. Les tissus cutanés sont analysés pour l'épaisseur de l'épiderme après sa régénération, la structure et l'organisation du collagène, la granulation, l'angiogenèse ainsi que la densité des vaisseaux sont comparés avec une peau saine (Ghasemi-Pirbalouti et al. 2011).

6. Analyse statistique

Tous les essais sont répétés au moins trois fois. Les données ont fait l'objet d'une analyse de la variance afin de déterminer la variation entre les différents produits étudiés y compris les mélanges avec le miel. La comparaison entre les différents groupes est réalisée en utilisant le teste Duncan. Les différences significatives entre les moyennes sont déterminées à l'échelle de $P < 0.05$. Dans tous les cas, la normalité et l'homogénéité des variances des données ont été testés pour identifier d'éventuelles violations des hypothèses. La corrélation entre les variables mesurées est faite sur la base du coefficient de Pearson. Pour chaque variable, les résultats sont représentés graphiquement en tant que moyenne \pm écart type.

Résultats

Chapitre III. Résultats

1. Caractérisation du matériel biologique

1.1. Extraits végétaux

Le rendement en extrait de chaque plante étudiée (Fig. 19) est signalé dans le tableau 2. Le rendement le plus élevé est obtenu chez *C. dissectum* (43 %) alors que le plus faible est obtenu chez *Z. lotus* (5 %). Le pH des extraits est en général acide et varie entre 4 et 5. Cependant, le pH de l'extrait méthanolique de *P. harmala* est légèrement neutre (pH = 6).

Tableau 2. Rendement, pH et conductivité électrique des extraits des plantes étudiées.

	<i>A. cepa</i>	<i>A. sativum</i>	<i>Z. lotus</i>	<i>P. harmala</i>	<i>C. dissectum</i>
Rendement (%)	34.4	23.15	5	10.7	43
pH	4.4	5.5	4	6	5
Conductivité électrique (mS)	1.56	2.51	0.81	2.67	1.6

La conductivité électrique oscille entre un minimum de 0.81 enregistré chez *Z. lotus* et un maximum de 2.67 enregistré chez *P. harmala*. Il est à noter qu'une conductivité électrique élevée renvoie à un contenu en ions élevé.

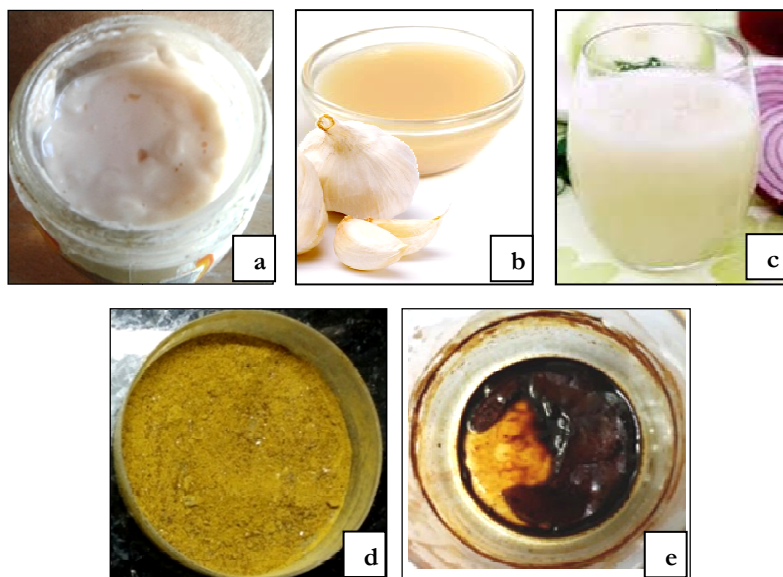


Figure 19. Extraits des plantes étudiées : (a) *C. dissectum*, (b) *A. sativum*, (c) *A. cepa*, (d) *Z. lotus*, (e) *P. harmala*.

1.2. Miel

• Propriétés

Le miel utilisé dans cette étude possède un pH acide de 3.6, une conductivité de 0.503 mS et une teneur en eau de 12.37 % ce qui le rend conforme aux normes alimentaires internationales (Codex Stan 12-1981). Ces valeurs suggèrent que c'est un miel de nectar. En outre, les miels avec une teneur en eau comprise entre 15 et 18 % se caractérisent par une bonne cristallisation. Ceux dont la teneur en eau est inférieure ou supérieure se cristallisent plus lentement, ceux au contenu hydrique faible deviennent durs, alors que ceux avec plus de 18 % d'eau restent mous (Bogdanov 1999).

• Caractérisation méliissopalynologique

L'analyse des grains de pollens du miel révèle l'existence de divers types de pollens (Annexe 2) avec prédominance des grains de pollens d'Euphorbiaceae (Fig. 20). Le miel étudié présente une faible teneur en pollen aux environs de 636 grains de pollens/ 10 g de miel ce qui suggère que; soit c'est un miel naturellement pauvre en pollens soit c'est un miel ayant subi un traitement (filtration) (Louveaux et al. 1970).

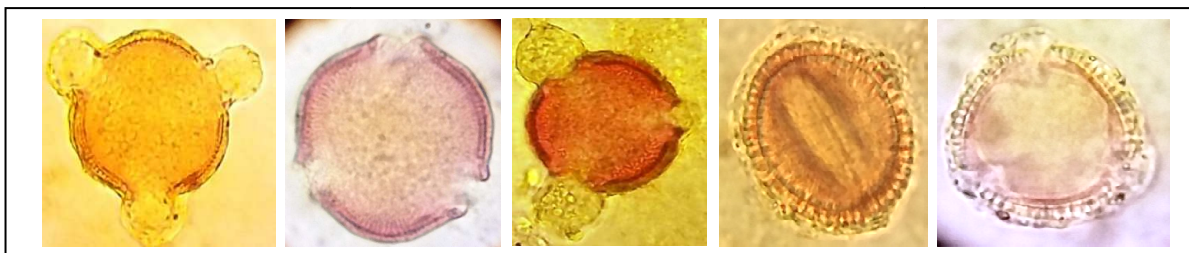


Figure 20. Grains de pollens d'Euphorbiaceae identifiés à partir du miel étudié.

1.3. Mixtures Miel - Extraits végétaux

Les différentes mixtures préparées à base de miel en mélanges avec les différents extraits végétaux, chacun à part, présentent un pH acide (pH = 4) pour l'ensemble excepté pour la mixture miel - *C. dissectum* dans laquelle le pH obtenu s'avère plus acide (pH = 3.4) par rapport aux autres préparations (tableau 3).

Tableau 3. pH et conductivité électrique des mélanges miel - extraits végétaux.

	Miel – <i>A. sativum</i>	Miel – <i>A. cepa</i>	Miel – <i>Z. lotus</i>	Miel – <i>P. harmala</i>	Miel – <i>C. dissectum</i>
pH	4	4	4	4.6	3.4
Conductivité électrique (mS)	0.514 ± 0.003	0.942 ± 0.002	0.69 ± 0.0003	2.73 ± 0.002	1.8 ± 0.005

La conductivité électrique des mixtures varie entre un minimum de 0.518 mS obtenu dans le mélange miel – *A. sativum* et un maximum de 2.73 mS enregistré dans le mélange miel - *P. harmala* reflétant un degré de minéralisation significativement élevé pour ce dernier.

1.4. Souches microbiennes

Les résultats de l'observation microscopique des souches microbiennes testées dans cette étude sont illustrés dans la figure 21.

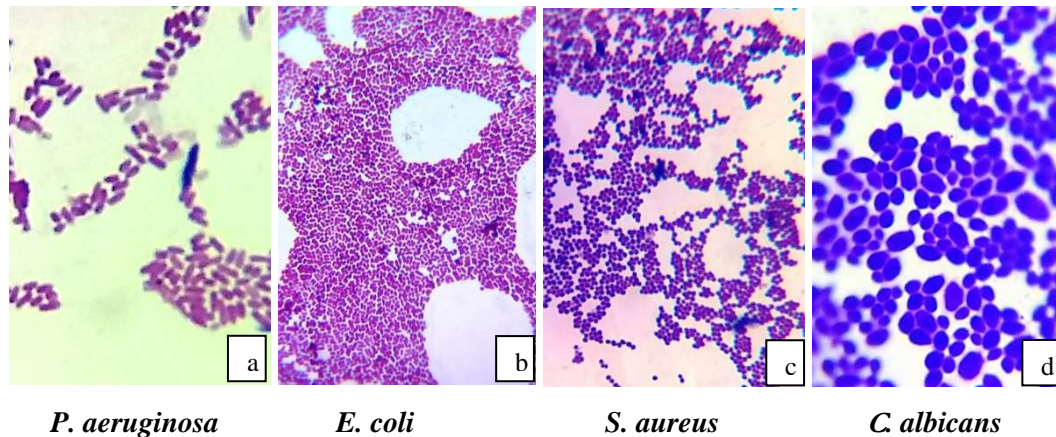


Figure 21. Observation microscopique des souches microbiennes testées après coloration de Gram (a, b, c) et coloration simple (d).

A partir des observations microscopiques, les souches étudiées s'avèrent pures. La forme ovoidale caractéristique de *C. albicans* (d) ainsi que les formes et le type de paroi de chaque bactérie étudiée sont très bien distingués. *S. aureus* (c) est présente sous forme de coques regroupés en amas Gram positif alors que *P. aeruginosa* (a) est présente sous forme de bacilles isolés Gram négatif. Ainsi, *E. coli* (b) paraît en coccobacilles isolés Gram négatif.

2. Activité biologique

2.1. Activité antimicrobienne

2.1.1. Concentration minimale inhibitrice (CMI)

Les concentrations minimales inhibitrices (CMI) obtenues diffèrent significativement d'un produit naturel à un autre et d'une souche microbienne à une autre (tableau 4). *A. cepa* présente les CMI les plus élevées ainsi qu'une résistance de la part des bactéries Gram négatif (*E. coli* et *P. aeruginosa*). D'autre part, *C. albicans* présente une résistance vis-à-vis de l'extrait de *Z. lotus* ainsi qu'une CMI du miel assez élevée par rapport aux bactéries testées.

Tableau 4. Concentrations minimales inhibitrices des différents produits naturels analysés sur les souches microbiennes testées.

	Miel (%)	<i>Z. lotus</i> (%)	<i>P. harmala</i> (%)	<i>A. cepa</i> (%)	<i>A. sativum</i> (%)
<i>S. aureus</i>	6	0.7	0.03	30	2
<i>E. coli</i>	9	0.6	0.08	-	2
<i>P. aeruginosa</i>	8	0.6	0.3	-	4
<i>C. albicans</i>	22	-	0.04	40	2

(-): pas d'inhibition.

Il est à noter qu'il n'y a pas une différence significative entre les CMI obtenues de l'extrait de *Z. lotus* sur les bactéries testées. *P. harmala* présente les CMI les plus faibles en comparaison avec les autres produits naturel testés suivi ensuite par *A. sativum* dont les CMI obtenues sont les mêmes sur toutes les souches testées avec une légère différence concernant *P. aeruginosa*.

2.1.2. Activité antimicrobienne synergique

Les différentes concentrations de miel en mélange avec chacun des extraits des plantes médicinales étudiées sont présentées dans les tableaux 5, 6, 7 et 8. Celles présentant une activité antimicrobienne synergique sont représentées dans les figures 22, 23 et 24.

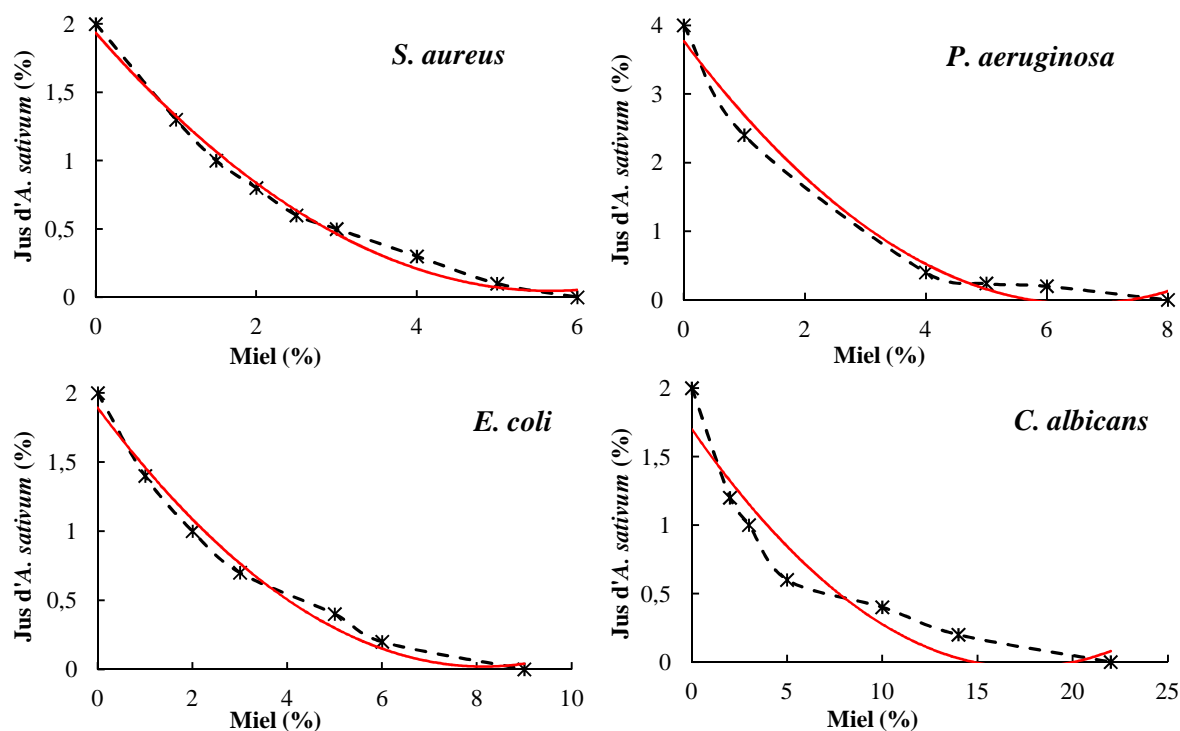
- **Miel – *A. sativum* (M-As)**

Toutes les concentrations testées du mélange miel – *A. sativum* ont montré une inhibition de toutes les souches microbiennes testées (tableau 5). Les isoboles obtenues forment des courbes concaves reflétant ainsi une activité antimicrobienne synergique (Fig. 20).

Tableau 5. Activité antimicrobienne synergique du mélange Miel – *A. sativum* (M-As).

	<i>S. aureus</i>							<i>E. coli</i>					<i>P. aeruginosa</i>				<i>C. albicans</i>				
Miel (%)	1	15	2	25	3	4	5	1	2	3	5	6	1	4	5	6	2	3	5	10	14
<i>A. sativum</i> (%)	13	1	08	06	05	03	01	14	1	07	04	02	24	04	024	02	12	1	06	04	02
Inhibition des souches	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

(-) : pas d'inhibition; (+) : inhibition des souches microbiennes.

**Figure 22.** Activité antimicrobienne synergique de la mixture miel - *A. sativum*.

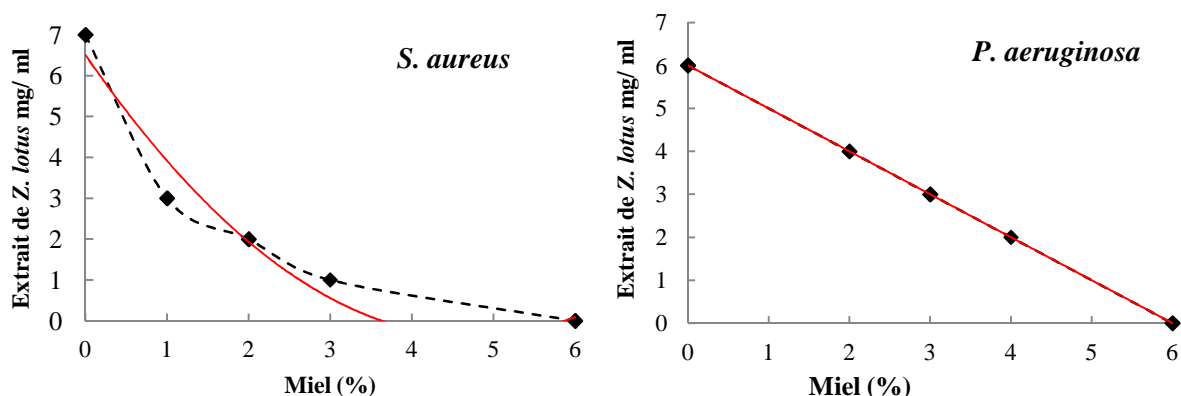
- Miel – *Z. lotus* (M-Z)**

Le mélange miel – *Z. lotus* a été testé seulement sur les bactéries car la levure *C. albicans* a présenté une résistance vis-à-vis de l'extrait de *Z. lotus* et donc impossible de tester l'effet synergique. *S. aureus* a été inhibée sous toutes les concentrations testées. Les résultats obtenus forment un isobole d'un aspect de courbe concave reflétant la synergie entre le miel et le *Z. lotus*. Cependant, les concentrations testées sur *P. aeruginosa* n'ont pas toutes manifesté une activité antimicrobienne et ainsi, la courbe obtenue est linéaire reflétant une interaction additive entre les deux substances sur cette bactérie (Fig. 21). Enfin, les différentes concentrations testées sur *E. coli* n'ont montré aucun effet inhibiteur sur cette dernière (tableau 6).

Tableau 6. Activité antimicrobienne synergique du mélange miel – *Z. lotus* (M-Z).

	<i>S. aureus</i>					<i>E. coli</i>								<i>P. aeruginosa</i>				
Miel (%)	1	1	2	2	3	2	3	3	4	5	5	6	2	2	3	3	4	5
<i>Z. lotus</i> (mg/ ml)	2	3	1	2	1	3	2	3	3	1	2	1	3	4	2	3	2	1
Inhibition des souches	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-

(-) : pas d'inhibition ; (+) : inhibition des souches microbiennes.

**Figure 23.** Activité antimicrobienne synergique de la mixture miel - *Z. lotus*.

- Miel – *A. cepa* (M-Ac)

Comme l'*A. cepa* n'a pas présenté une activité inhibitrice sur *E. coli* et *P. aeruginosa*, l'activité antimicrobienne synergique du mélange miel – *A. cepa* a été testée seulement sur *S. aureus* et *C. albicans*. En fait, toutes les concentrations testées ont présenté une activité inhibitrice (tableau 7). Les courbes concaves obtenues confirment qu'il y a bien une synergie entre les deux produits (Fig. 22).

Tableau 7. Activité antimicrobienne synergique du mélange miel – *A. cepa* (M-Ac).

	<i>S. aureus</i>												<i>C. albicans</i>									
Miel (%)	1	1	1	2	2	2	3	3	4	5	5	5	2	2	4	4	7	7	10	10	12	14
<i>A. cepa</i> (%)	16	22	28	10	14	18	6	10	6	1	2	11	14	28	1	20	6	12	4	8	6	2
Inhibition des souches	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+

(-) : pas d'inhibition ; (+) : inhibition des souches microbiennes.

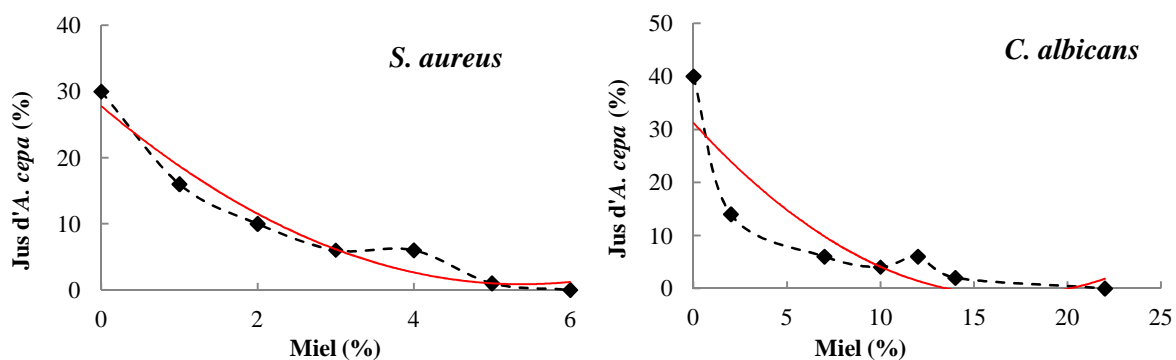


Figure 24. Activité antimicrobienne synergique de la mixture miel - *A. cepa*.

- **Miel – *P. harmala* (M-P)**

Aucune activité antimicrobienne synergique n'est observée entre le miel et l'extrait de *P. harmala* sur toutes les souches microbiennes testées et avec toutes les combinaisons possibles de concentrations entre ces deux produits (tableau 8).

Tableau 8. Activité antimicrobienne synergique du mélange miel – *P. harmala* (M-P).

	<i>S. aureus</i>					<i>E. coli</i>						<i>P. aeruginosa</i>						<i>C. albicans</i>			
Miel (%)	1	1	2	2	3	15	2	4	5	5	6	1	1	2	3	4	5	3	5	7	10
<i>P. harmala</i> (mg/ ml)	0.1	0.15	0.1	0.15	0.1	0.5	0.5	0.2	0.1	0.2	0.1	1.5	2	1.5	1	1	0.5	0.25	0.2	0.1	0.1
Inhibition des souches	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

(-) : pas d'inhibition ; (+) : inhibition des souches microbiennes.

2.2. Activité antioxydante

2.2.1. Activité anti-radicalaire

L'activité anti-radicalaire reflétée par la réduction des radicaux libres DPPH est exprimée en concentration inhibant 50 % des radicaux (CI50) ainsi qu'en mg équivalent d'acide ascorbique.

L'activité anti-radicalaire s'avère significativement élevée dans les extraits méthanoliques du *P. harmala* et du *Z. lotus* par rapport aux autres produits naturels testés ainsi que leurs mixtures avec le miel.

Tableau 9. Concentration inhibitrice de 50 % des radicaux DPPH des produits naturels testés.

Produit	Acide ascorbique	<i>Z. lotus</i>	<i>P. harmala</i>	M-Z	M-C	M-P
CI 50 (mg/ ml)	1×10^{-2}	2×10^{-1}	$3,3 \times 10^{-1}$	6	6,2	9
Produit	<i>A. sativum</i>	<i>A. cepa</i>	Miel	M-As	M-Ac	<i>C. dissectum</i>
CI 50 (mg/ ml)	50	60	80	81	110	150

En termes de CI50, la capacité antioxydante d'un composé est d'autant plus élevée que sa CI50 est petite. Les extraits méthanoliques de *Z. lotus* et *P. harmala* présentent des CI50 basses comparables à celle de l'acide ascorbique. Les mixtures 'miel-*Z. lotus* (M-Z)', 'miel-*C. dissectum* (M-C)' et 'miel-*P. harmala* (M-P)' présentent à leurs tours des CI50 similaires et relativement basses. Les autres produits à savoir *A. sativum*, *A. cepa*, le miel, les mixtures 'miel-*A. sativum* (M-As)' et 'miel-*A. cepa* (M-Ac)' ainsi que le gel de *C. dissectum* présentent l'activité anti-radicalaire la plus faible avec des CI50 élevées (tableau 9).

En termes d'équivalents en acide ascorbique, les extraits de *Z. lotus* et *P. harmala* sont les produits possédant les concentrations les plus élevées. La mixture 'miel-*Z. lotus* (M-Z)' présente relativement une teneur élevée qui dépasse significativement celle du miel seul ainsi que celles des autres mixtures.

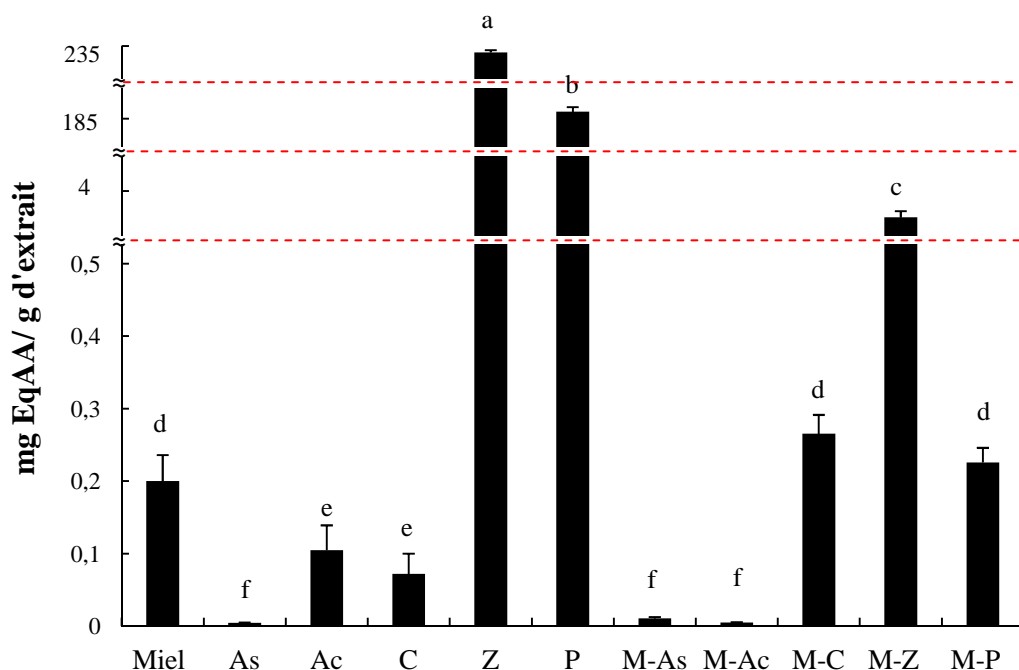


Figure 25. Activité anti-radicalaire du miel, des extraits de plantes et de leurs mixtures.

En outre, le miel et les mixtures ‘miel-*P. harmala* (M-P)’ et ‘miel-*C. dissectum* (M-C)’ présentent des teneurs comparables qui ne diffèrent pas significativement entre elles. Le gel de *C. dissectum* et le jus d’*A. cepa* présentent également des teneurs similaires. Cependant, les mixtures ‘miel-*A. sativum* (M-As)’ et ‘miel-*A. cepa* (M-Ac)’ et le jus d’*A. sativum* présentent les plus faibles teneurs (Fig. 25).

2.2.2. Polyphénols totaux

De la même sorte que l’activité anti-radicalaire, les extraits méthanoliques de *Z. lotus* et de *P. harmala* présentent les teneurs en polyphénols totaux les plus élevées qui diffèrent significativement des autres produits et mélanges testés ($p < 0.001$) (Fig. 26).

De plus, la comparaison des teneurs en polyphénols totaux du miel et des extraits de plantes seuls avec les différentes mixtures révèle que la mixture ‘miel-*P. harmala* (M-P)’ possède une teneur significativement élevée par rapport au miel seul et les autres produits.

La mixture ‘miel-*Z. lotus* (M-Z)’ présente à son tour une teneur relativement élevée et qui ne diffère pas significativement de celle du miel. Aussi, la mixture miel-*C. dissectum* (M-C)’ présente une teneur inférieure à celle du miel mais qui ne diffère pas significativement de celle du gel de *C. dissectum* ($p > 0.05$).

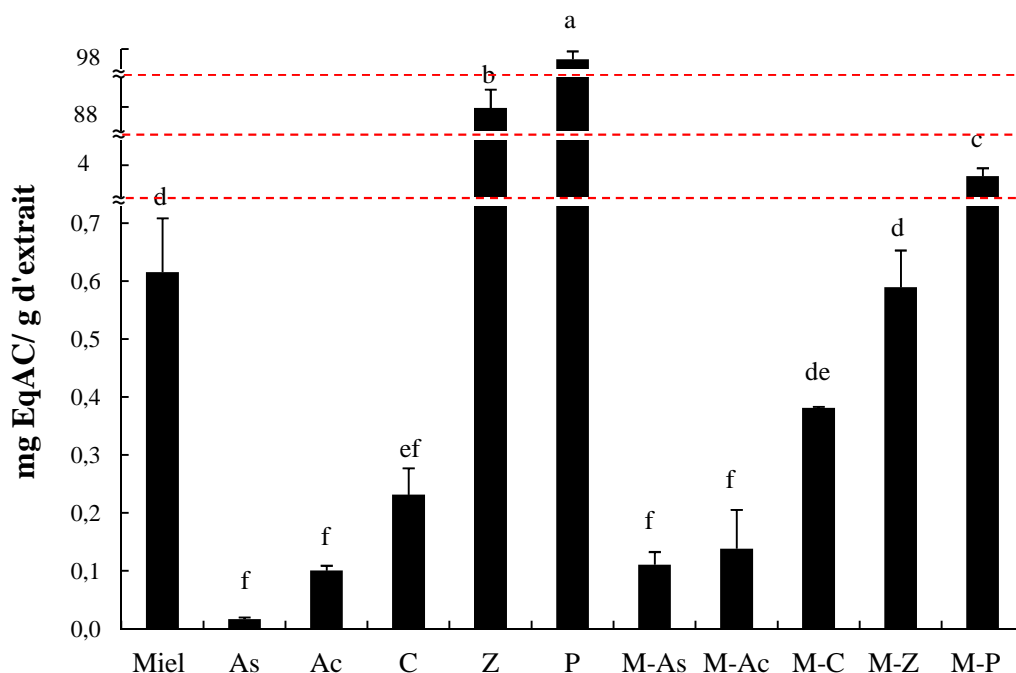


Figure 26. Teneurs en polyphénols totaux du miel, des extraits de plantes et de leurs mixtures.

Ainsi, les teneurs les plus faibles sont enregistrées dans les jus d'*A. sativum* et d'*A. cepa* et des mixtures 'miel-*A. sativum* (M-As)' et 'miel-*A. cepa* (M-Ac)' avec des teneurs qui ne diffèrent pas significativement ($p > 0.05$) et qui sont inférieures à celle du miel seul (Fig. 26).

2.2.3. Flavonoïdes totaux

Les mêmes observations que pour l'activité anti-radicalaire et les teneurs en polyphénols totaux sont constatées pour les teneurs en flavonoïdes totaux dans les produits testés; la teneur la plus élevée est enregistrée chez *P. harmala* puis *Z. lotus* (Fig. 25).

Or, la comparaison des teneurs en flavonoïdes totaux du miel seul et en mixture avec les différents extraits de plantes révèle que les mixtures 'miel-*P. harmala* (M-P)' et 'miel-*Z. lotus* (M-Z)' possèdent les teneurs les plus élevées par rapport aux autres produits. En outre, le jus d'*A. sativum* présente une teneur relativement élevée par rapport au restant des produits testés.

La mixture 'miel-*A. cepa* (M-Ac)' et le jus d'*A. cepa* possèdent des teneurs similaires supérieurs à celle du miel seul. Toutefois, des teneurs comparables sont enregistrées dans le miel seul et les mixtures 'miel-*A. sativum* (M-As) et 'miel-*C. dissectum* (M-C) (Fig. 27).

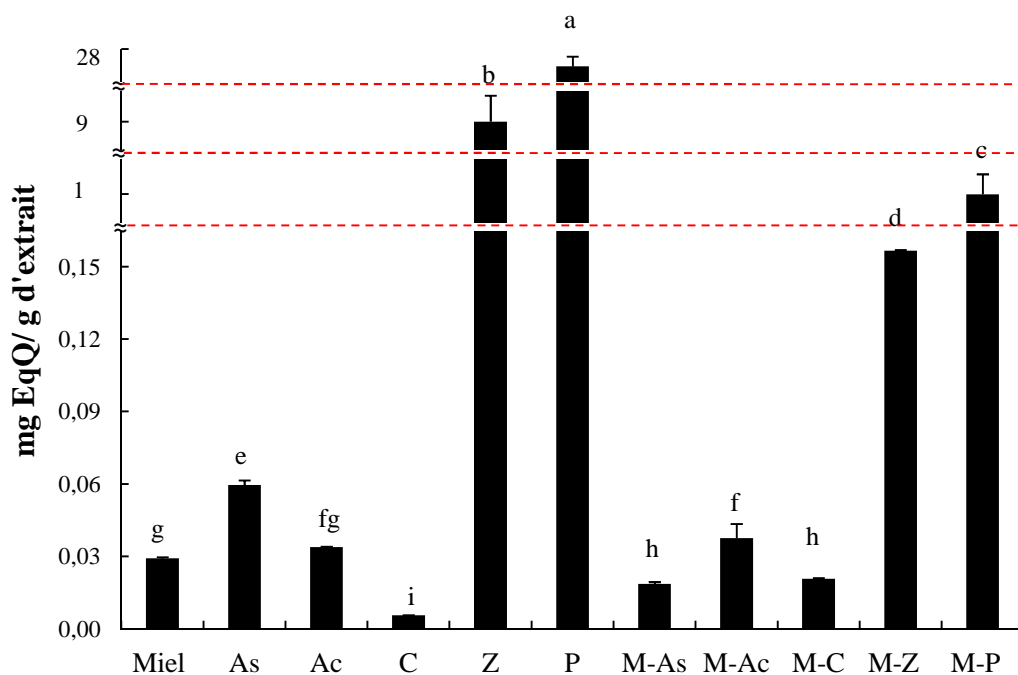


Figure 27. Teneurs en flavonoïdes totaux du miel, des extraits de plantes et de leurs mixtures.

Il est à noter que l'activité anti-radicalaire des produits naturels testés, que ce soit seul ou en mélange avec le miel, est significativement corrélée avec leur contenu en polyphénols et en flavonoïdes; les produits ayant une activité anti-radicalaire élevée sont ceux riches en ces métabolites. Dans l'ensemble, les extraits méthanoliques de *Z. lotus* et *P. harmala* seuls ou en mélange avec le miel se distinguent par leur activité anti-radicalaire et les teneurs en polyphénols et en flavonoïdes les plus élevées.

3. Activité cicatrisante

L'activité cicatrisante des différents traitements étudiés a été évaluée à travers le suivi de la cinétique de cicatrisation ainsi que du temps requis pour l'épithélialisation. Ensuite, une étude histologique a été réalisée pour montrer l'état de régénération des plaies de brûlures.

Il est important de signaler qu'aucune mortalité, infection ou odeur n'a été signalée tout au long de cette expérience.

3.1. Réépithélialisation des plaies

La période de réépithélialisation est estimée par le nombre de jours requis pour la chute de l'escarre et fermeture totale de la plaie qui ne laisse derrière elle aucune blessure résiduelle à vif (Thakur et al. 2011).

- **Chez les mâles**

Dans l'ensemble, le temps de réépithélialisation le plus court est enregistré dans les plaies traitées par l'*A. cepa*, le *C. dissectum*, le miel, le *Z. lotus* et les mixtures 'miel – *Z. lotus* (M-Z)' et 'miel – *A. cepa* (M-Ac)' (10 à 11 jours) sans différence significative ($p > 0.05$). Néanmoins, le temps de réépithélialisation le plus long est celui pris par les plaies traitées avec le *P. harmala* (21 jours). Les plaies restantes présentent des temps de réépithélialisation qui ne diffèrent pas significativement, entre 14 et 16 jours (Fig. 28, 29, 30 et 31).

- **Chez les femelles**

Les plaies présentant une réépithélialisation rapide chez les sujets femelles sont celles traitées par les mixtures 'miel – *A. cepa* (M-Ac)' et 'miel – *Z. lotus* (M-Z)' et le miel seul (9 à 10 jours). Néanmoins, les dernières plaies à réépithélialiser sont celles traitées par l'*A. sativum*, *P. harmala* et la mixture 'miel – *P. harmala* (M-P)' (14 à 15 jours). Les plaies restantes cicatrisent en 12 à 13 jours (Fig. 28, 29, 30 et 31).

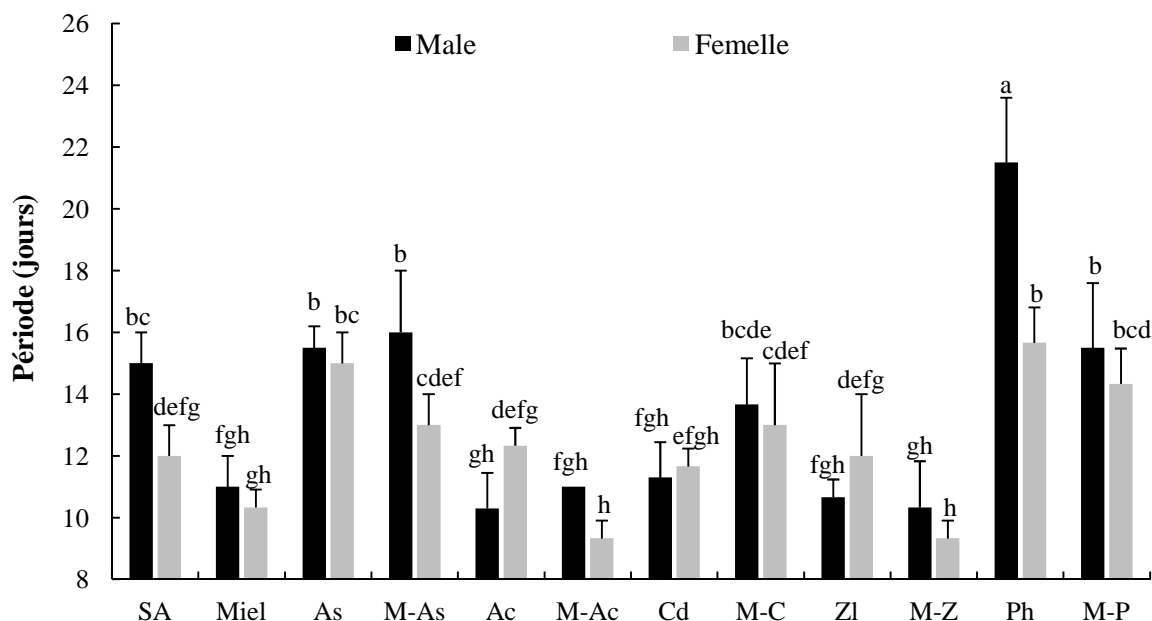


Figure 28. Evolution de la réépithélialisation des plaies de brûlures des mâles et des femelles de souris Balb/C sous les différents traitements.

Il s'avère que les plaies traitées par *P. harmala* et *A. sativum* seuls ou en mélange avec le miel ainsi que la sulfadiazine argentine requièrent une période de réépithélialisation significativement longue par rapport aux autres produits utilisés (Fig. 28). Cependant, le miel, les extraits d'*A. cepa*, *C. dissectum* et *Z. lotus* ainsi que leurs mélanges avec le miel induisent une courte période de réépithélialisation. De la sorte, le meilleur résultat obtenu des mixtures à base de miel est constaté chez les plaies traitées par la mixture 'miel – *Z. lotus* (M-Z)'.

Il est à signaler que, dans l'ensemble, la période de réépithélialisation est plus courte chez les sujets femelles que chez les sujets mâles à l'exception des plaies traitées par *A. cepa* et *C. dissectum* dont l'effet inverse est observé.

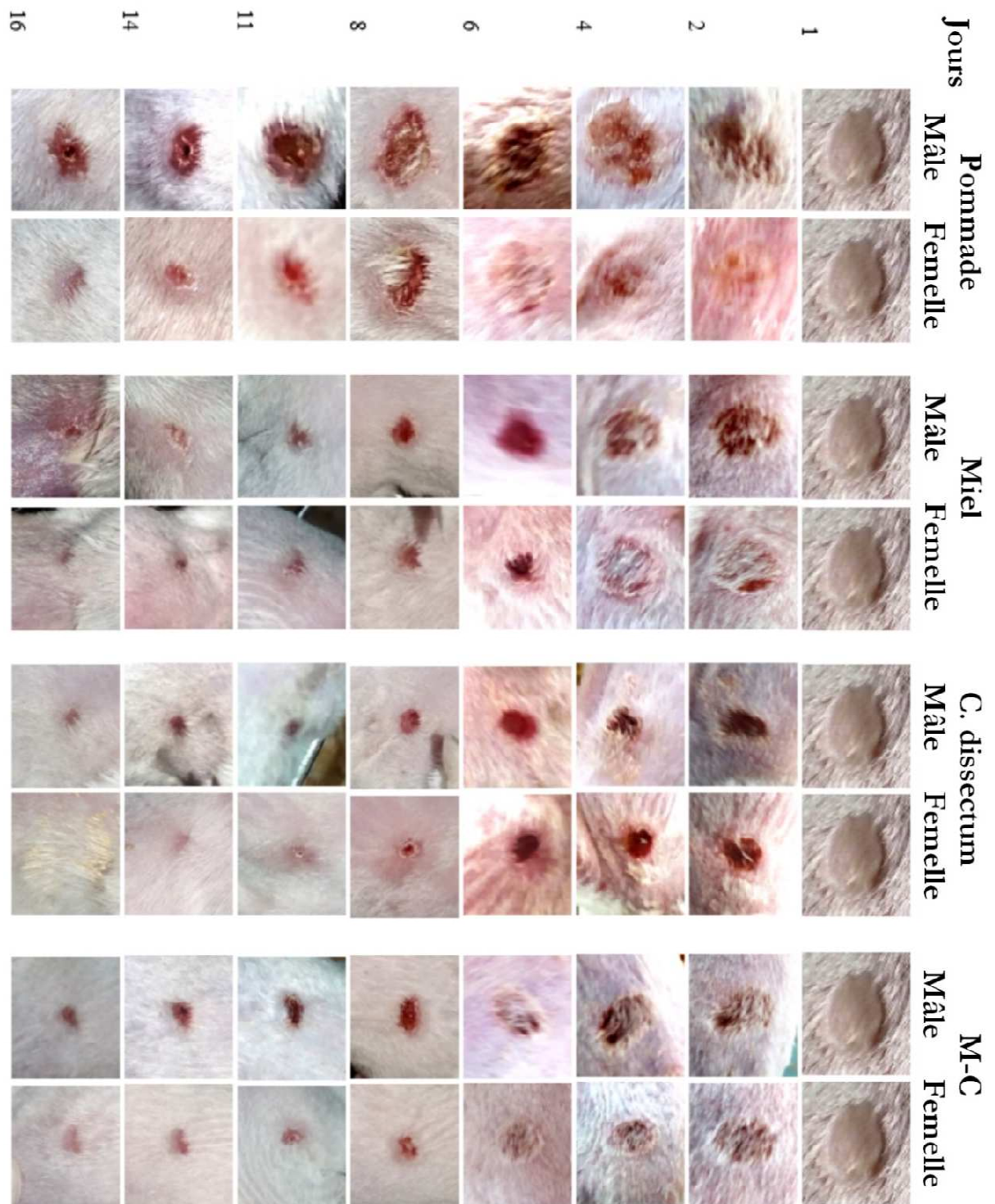


Figure 29. Evolution de la réépithélialisation des plaies de brûlures chez les mâles et les femelles de souris Balb/C traitées par la sulfadiazine argentique, le miel, le gel de *C. dissectum* et la mixture ‘miel – *C. dissectum* (M-C)’.

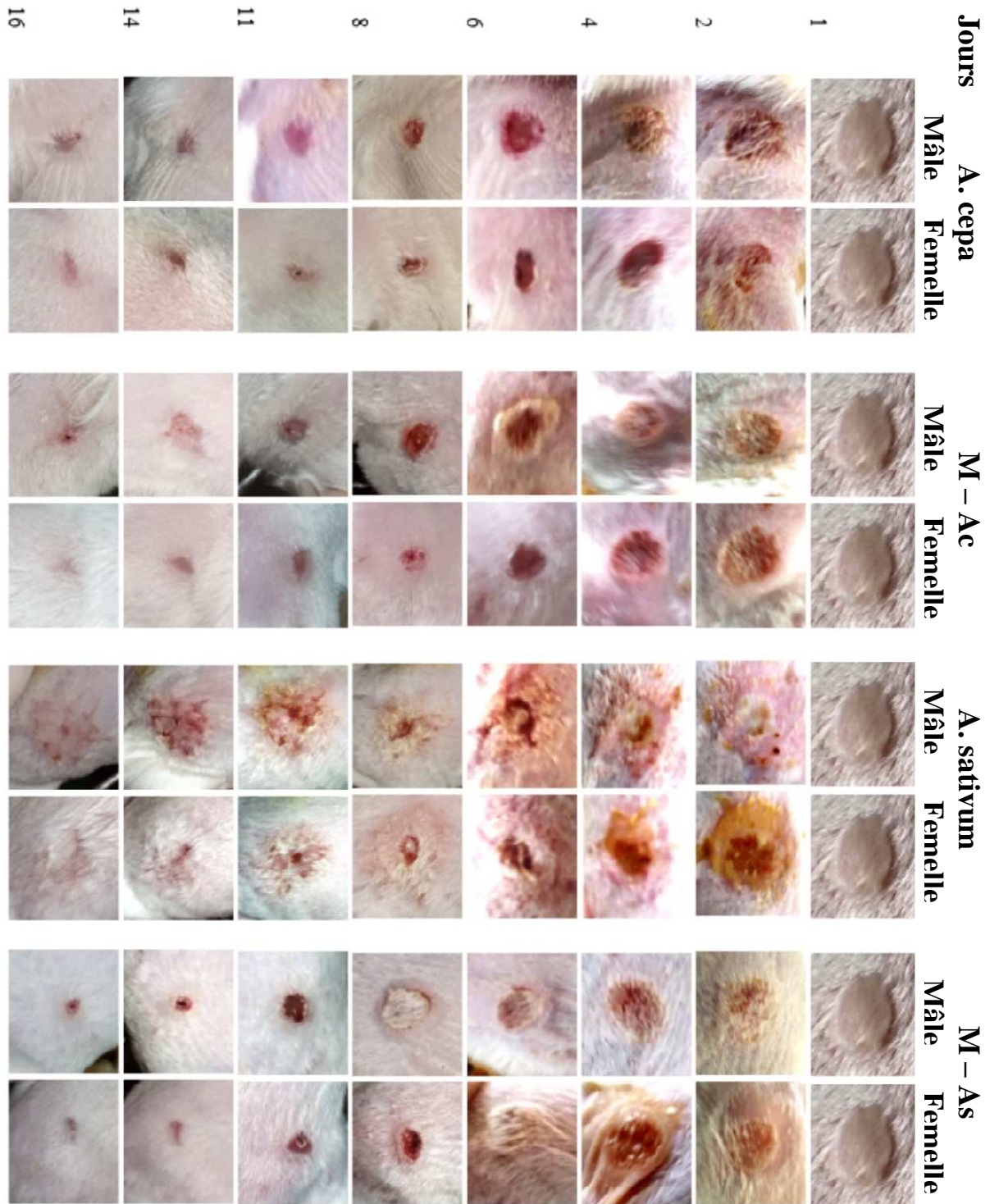


Figure 30. Evolution de la réépithélialisation des plaies de brûlures chez les mâles et les femelles de souris Balb/C traitées par l'*A. sativum*, l'*A. cepa* et les mixtures 'miel- *A. sativum* (M-As)' et 'miel – *A. cepa* (M-Ac)'.

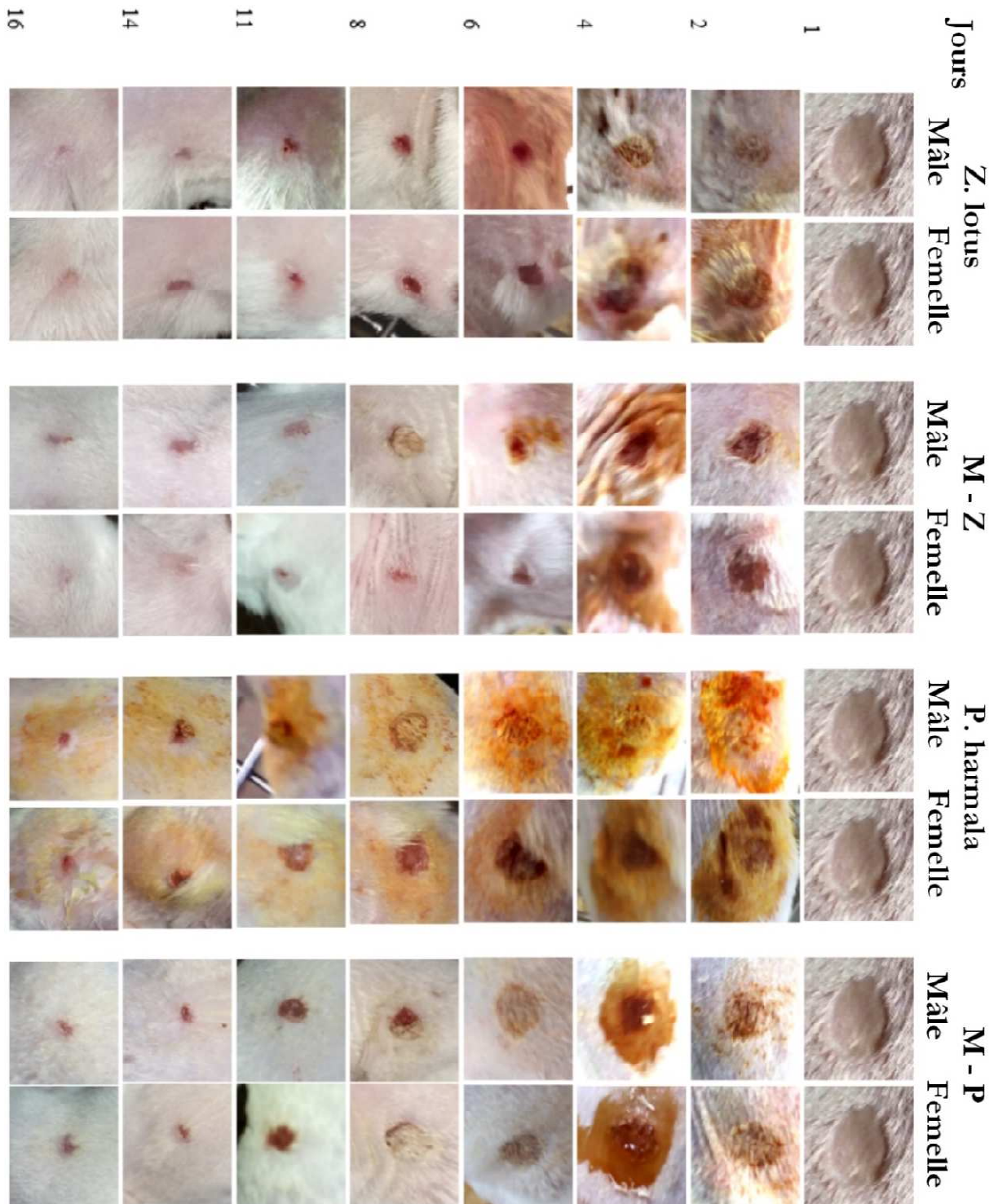


Figure 31. Evolution de la réépithélialisation des plaies de brûlures chez les mâles et les femelles de souris Balb/C traitées par *Z. lotus*, *P. harmala* et les mixtures ‘miel – *Z. lotus* (M-Z)’ et ‘miel – *P. harmala* (M-P)’.

3.2. Cinétique de cicatrisation

• Chez les mâles

Les plaies ont subi une phase inflammatoire durant les quatre premiers jours qui suivent l'induction des brûlures ce qui est constaté par l'augmentation de la surface des plaies de brûlures. Cependant, les plaies traitées par le miel ne semblent pas manifester de réaction inflammatoire. En outre, l'inflammation a été plus marquée dans les plaies traitées par les mixtures 'miel – *P. harmala* (M-P)' et 'miel – *A. sativum* (M-As)' ainsi que l'extrait méthanolique de *P. harmala* et semble persister plus longtemps.

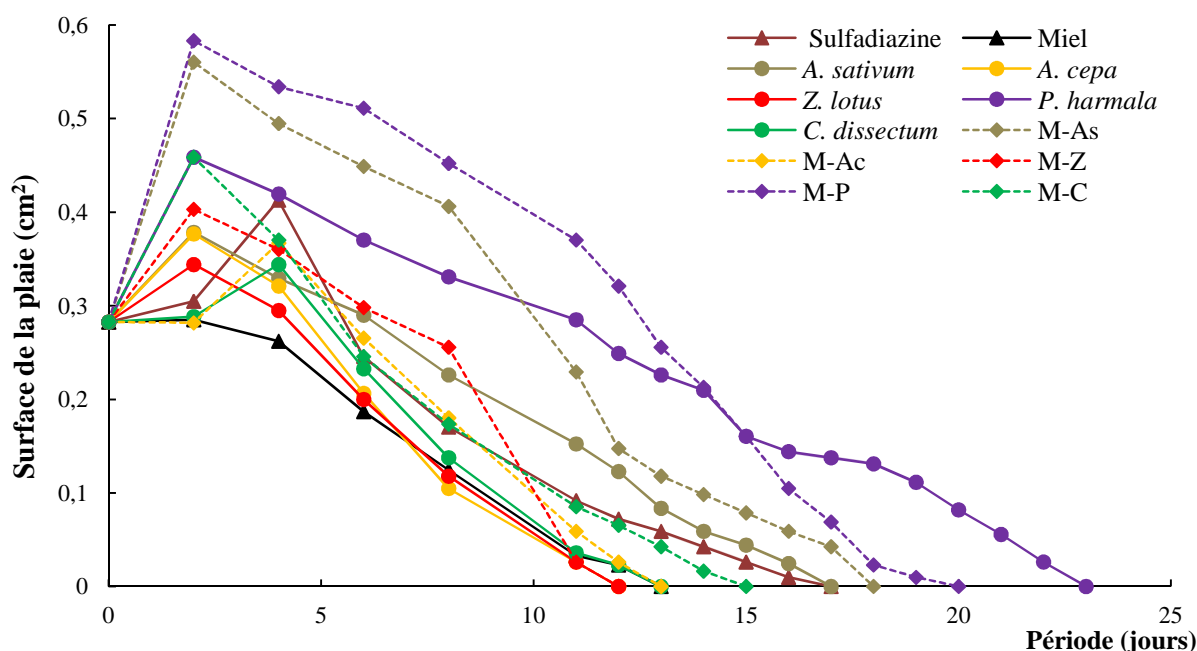


Figure 32. Evolution de la surface de cicatrisation des plaies de brûlures des différents traitements appliqués sur les mâles de souris Balb/C.

Les plaies traitées avec les autres traitements présentent des réactions inflammatoires moins importantes qui s'atténuent au bout du cinquième jour après l'induction des plaies. Les premières plaies à cicatrifier, à l'instar de la réépithélialisation, sont celles traitées par le jus d'*A. cepa*, l'extrait méthanolique de *Z. lotus* et la mixture 'miel – *Z. lotus* (M-Z)' en 12 jours puis celle traitées par le gel de *C. dissectum*, le miel et la mixture 'miel – *A. cepa* (M-Ac)' en 13 jours. Les plaies traitées par la mixture 'miel – *C. dissectum* (M-C)' quant à elles cicatrisent en 15 jours. En outre, les plaies traitées par la sulfadiazine argentique, le jus d'*A. sativum* et la mixture 'miel – *A. sativum* (M-As)' cicatrisent après 17 à 18 jours. Enfin, les dernières plaies à se cicatrifier sont celles traitées par la mixture 'miel – *P. harmala* (M-P)' et l'extrait méthanolique de *P. harmala* au bout de 20 et 23 jours respectivement (Fig. 32).

• Chez les femelles

D'une manière générale, conformément au résultat constaté chez les mâles, les plaies ont subi une phase inflammatoire durant les quatre premiers jours qui suivent l'induction des plaies de brûlures mais à des degrés qui diffèrent d'un traitement à l'autre. L'inflammation la plus marquée a été observée sur les plaies traitées par l'extrait de *P. harmala* alors que celle la plus réduite a été observée chez les plaies traitées par le miel.

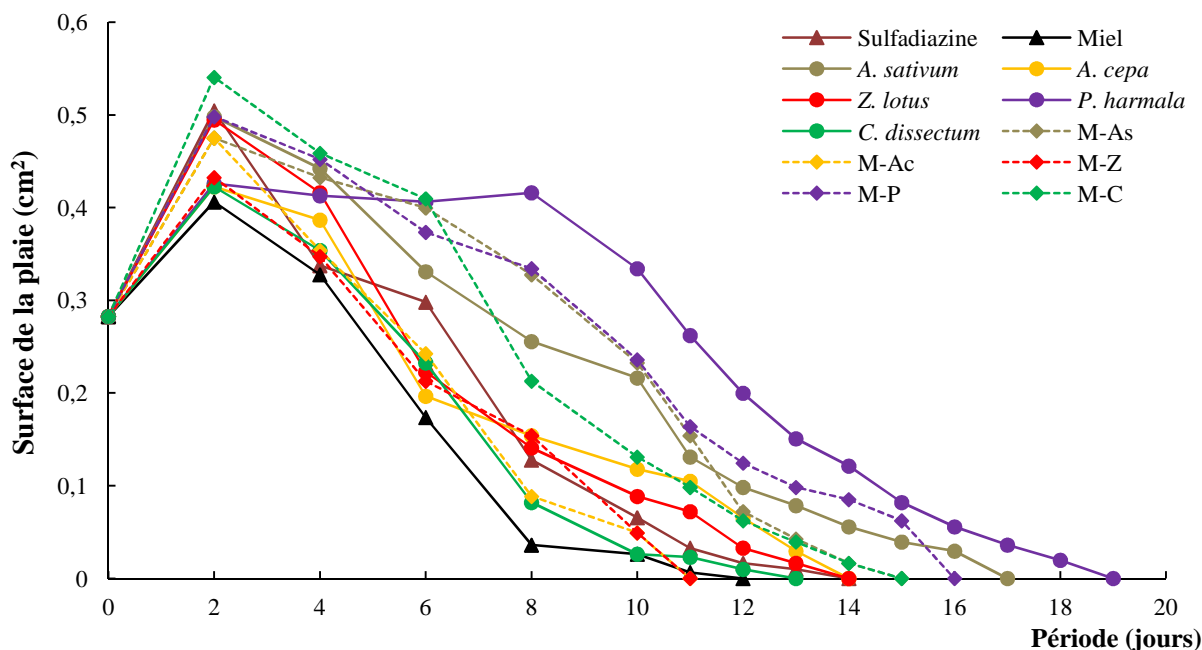


Figure 33. Evolution de la surface de cicatrisation des plaies de brûlures des différents traitements appliqués sur les femelles de souris Balb/C.

L'inflammation commence à s'atténuer au bout du cinquième jour excepté pour les plaies traitées par l'extrait de *P. harmala* dans lesquelles l'inflammation persiste jusqu'au 8^{ème} jour. Les premières plaies à cicatriser sont celles traitées par les mixtures 'miel – *A. cepa* (M-Ac)' et 'miel – *Z. lotus* (M-Z)' (11 jours). Les plaies traitées avec le miel et le *C. dissectum* quant à elles cicatrisent au 12 et 13^{ème} jour respectivement, suivies de *Z. lotus*, *A. cepa* et la sulfadiazine argentine en 14 jours. Les plaies traitées avec les mixtures 'miel – *C. dissectum* (M-C)' et 'miel – *A. sativum* (M-As)' cicatrisent après 15 jours. Par la suite, les plaies traitées avec la mixture 'miel – *P. harmala* (M-P)' et l'*A. sativum* se cicatrisent en 16 à 17 jours. Les dernières plaies à cicatriser sont celles traitées par l'extrait de *P. harmala*, 19 jours (Fig. 33).

Il est à noter que les plaies des femelles présentent une inflammation moins importante que celles des mâles et que celles-ci prennent relativement moins de temps à cicatriser que les mâles (19 vs 23 jours).

Dans l'ensemble, les plaies traitées par l'extrait méthanolique de *P. harmala* ont présenté une inflammation importante chez les souris des deux sexes.

En outre, les traitements appliqués peuvent être classés en trois groupes selon leur efficacité dans la cicatrisation des plaies de brûlures; le groupe de produits naturels les plus efficaces comprend par ordre : les mixtures ‘miel – *Z. lotus* (M-Z)’ et ‘miel – *A. cepa* (M-Ac)’, le miel, le gel de *C. dissectum*, le jus d’*A. cepa*, la mixture ‘miel – *C. dissectum* (M-C)’ et l’extrait méthanolique de *Z. lotus*. Le deuxième groupe comprend par ordre la sulfadiazine argentique, la mixture ‘miel – *A. sativum* (M-As)’ et le jus d’*A. sativum*. Enfin, le troisième groupe présentant le moins d’efficacité se compose de la mixture ‘miel – *P. harmala* (M-P)’ et l’extrait méthanolique de *P. harmala*. Il est à noter également que le jus brut d’*A. sativum* provoque une irritation importante de la peau et retarde ainsi la cicatrisation des plaies de brûlures.

3.3. Etude histologique

L’étude histologique comprend l’analyse des tissus cutanés prélevés pour l’épaisseur de l’épiderme après sa régénération, la structure et l’organisation du collagène, la granulation, l’angiogenèse ainsi que la densité des fibroblastes (Fig. 34 et 35). Les résultats obtenus des plaies cicatrisées sont comparés avec ceux obtenus sur une peau saine d’une souris du même sexe.

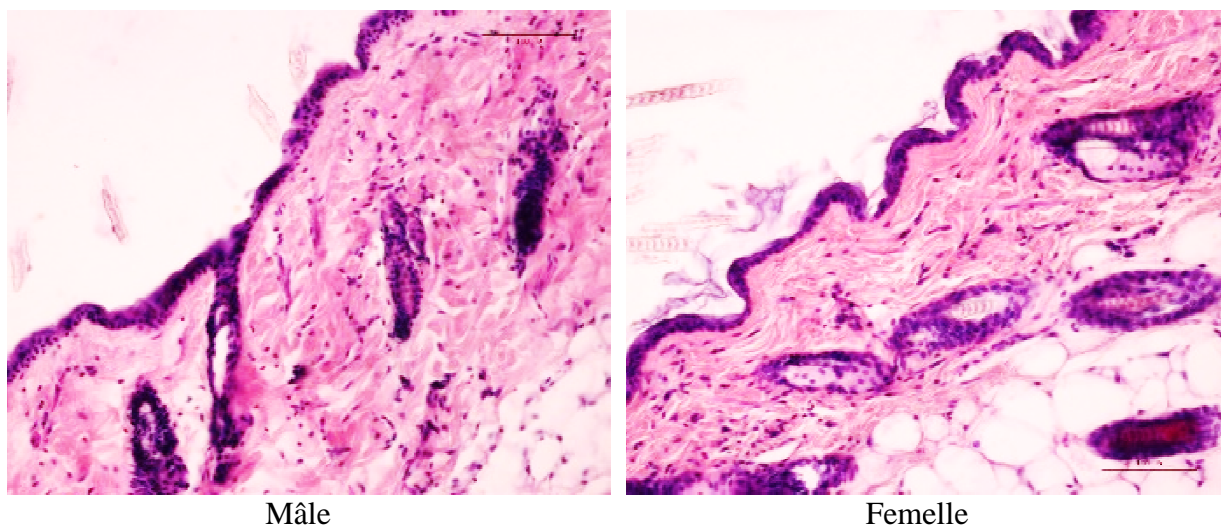


Figure 34. Observation de coupes histologiques de la peau saine chez les souris Balb/C mâles et femelles.

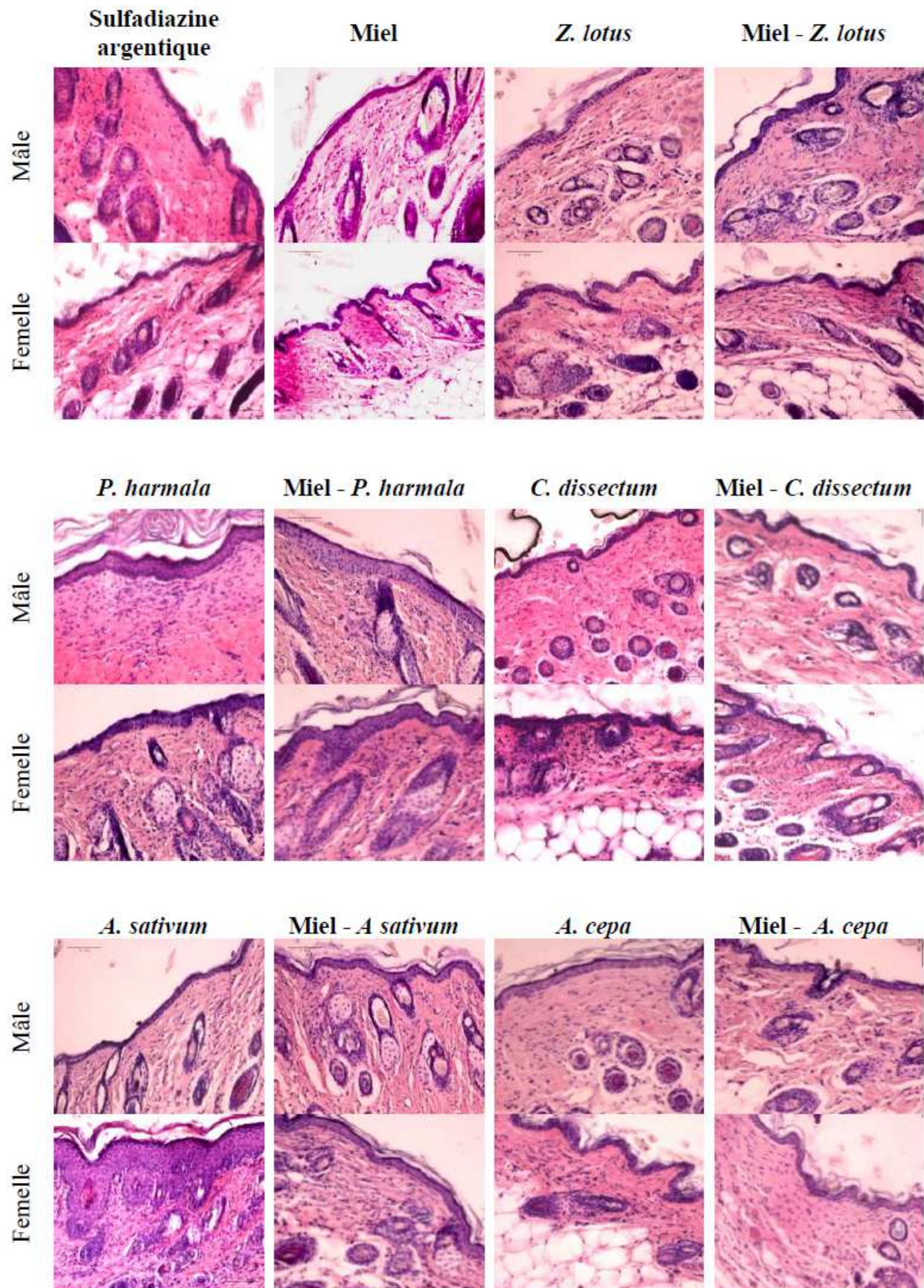


Figure 35. Observation des coupes histologiques des plaies de brûlures induites chez les souris Balb/C traitées par les différents traitements étudiés.

3.3.1. Epaisseur de l'épiderme

L'analyse de données relatives à l'épaisseur de l'épiderme des peaux traitées avec les différents produits naturels ne révèle aucune différence significative entre l'épaisseur de l'épiderme de la peau chez les mâles et les femelles des souris Balb/C. Cependant, une légère supériorité est observée dans l'épaisseur de l'épiderme des souris mâles traitées par *P. harmala* et *A. cepa* seuls et en combinaison avec le miel.

En effet, chez les souris mâles, les plaies ayant un épiderme d'une épaisseur qui ne diffère pas significativement après régénération de celle de la peau saine ($19.4 \pm 4.8 \mu\text{m}$) sont celles traitées par *C. dissectum*, les mixtures 'miel – *Z. lotus* (M-Z)', 'miel – *C. dissectum* (M-C)' et 'miel – *A. cepa* (M-Ac)', le miel, la sulfadiazine argentine, le *Z. lotus* et l'*A. sativum*.

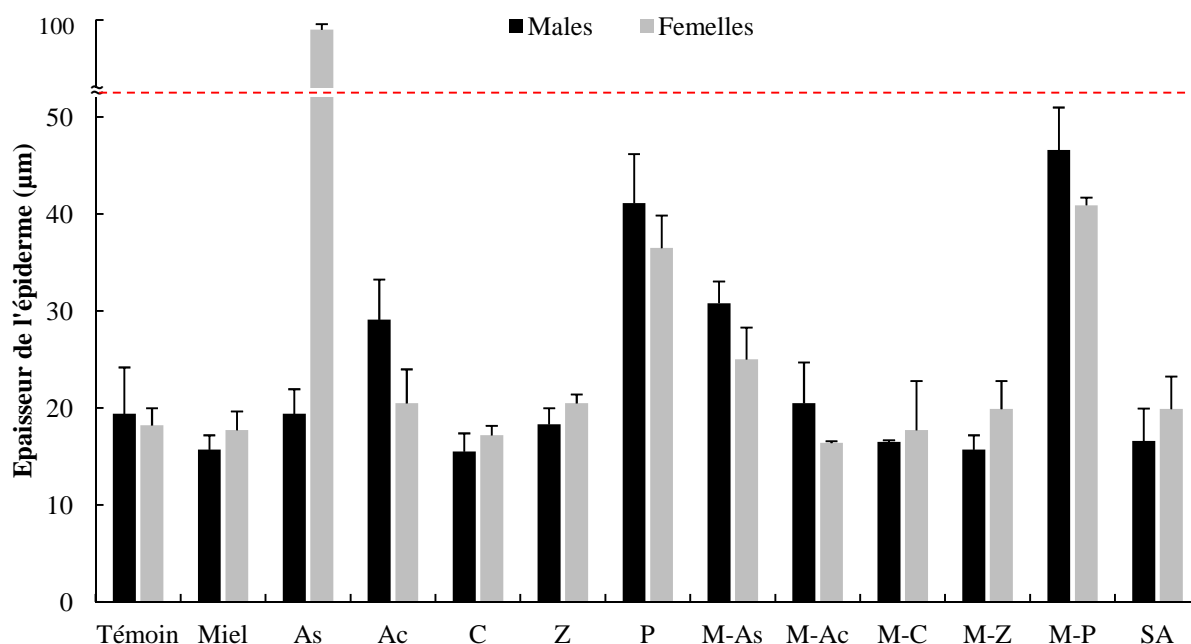


Figure 36. Epaisseur de l'épiderme des plaies de brûlures sous les différents traitements appliqués chez les mâles et les femelles de souris Balb/C.

En outre, les plaies traitées par l'*A. cepa* et la mixture 'miel – *A. sativum* (M-As)' présentent des épidermes significativement épais par rapport à celui de la peau saine. Cependant, les plaies traitées avec le *P. harmala* ($41.1 \pm 5.1 \mu\text{m}$) et la mixture 'miel – *P. harmala* (M-P)' ($46.6 \pm 4.4 \mu\text{m}$) présentent les épidermes les plus épais par rapport à la peau saine (Fig. 36).

3.3.2. Densité des fibroblastes

• Chez les mâles

La densité des fibroblastes est évaluée par unité de surface. Les peaux présentant une densité en fibroblastes qui ne diffère pas significativement de la peau saine sont celles traitées avec l'*A. cepa*, le *C. dissectum*, la sulfadiazine argentique, les mixtures 'miel – *Z. lotus* (M-Z)', 'miel – *A. cepa* (M-Ac)', 'miel – *A. sativum* (M-As)' et 'miel – *P. harmala* (M-P)'. Cependant, celles présentant une densité élevée comme signe d'une forte inflammation sont celles traitées par le *P. harmala* et l'*A. sativum*. Il est à noter que les peaux traitées avec le *Z. lotus*, le miel et la mixture 'miel – *C. dissectum* (M-C)' présentent une densité en fibroblastes relativement faible en comparaison avec celle de la peau saine (Fig. 37).

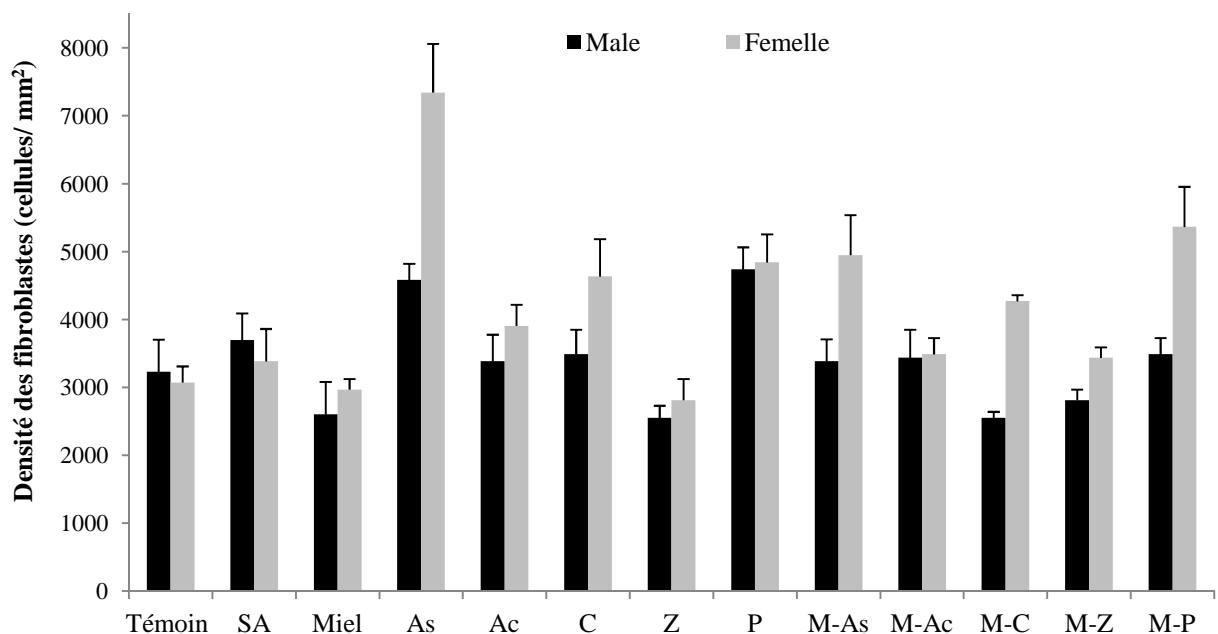


Figure 37. Densité de fibroblastes dans les plaies de brûlures sous les différents traitements appliqués chez les mâles et les femelles de souris Balb/C.

• Chez les femelles

Chez les femelles, la densité des fibroblastes dans les tissus traités par le miel, la sulfadiazine argentique, le *Z. lotus* et les mixtures 'miel – *Z. lotus* (M-Z)' et 'miel – *A. cepa* (M-Ac)' ne diffère pas significativement de celle du tissu sain. Une densité relativement élevée est observée dans les plaies traitées par l'*A. cepa* et la mixture 'miel – *C. dissectum* (M-C)'. Les tissus présentant une densité élevée sont ceux traités par les mixtures 'miel – *P. harmala* (M-P)' et 'miel – *A. sativum* (M-As)' et par le gel de *C. dissectum*. Il est à noter qu'une densité en fibroblastes extrêmement élevée est observée dans les tissus traités par l'*A. sativum* (Fig. 35).

3.3.3. Collagène et structures annexes

Dans l'ensemble, toutes les structures annexes ont été mises en place après cicatrisation des plaies de brûlures traitées par les produits seuls et en combinaison avec le miel. Ainsi, presque toutes les plaies ont subi une bonne régénération caractérisée par une bonne organisation des fibres de collagènes chez les souris des deux sexes. Cependant, les plaies traitées par la sulfadiazine argentique, *P. harmala* et la mixture 'miel – *P. harmala* (M-P)' chez les deux sexes ainsi que celles traitées par *A. sativum* chez les souris femelles présentent des fibres de collagènes superposées et en parallèles, ce qui diffère significativement de ce qui est observé chez les sujets sains. L'inflammation s'avère toujours prononcée chez ces échantillons.

Il est à noter que l'angiogenèse s'avère plus marquée chez les plaies traitées par le miel, *C. dissectum*, *Z. lotus* et *A. cepa* et à moindre degré dans le mélange de ces produits avec le miel. De plus, on note que le gel de *C. dissectum* et l'extrait de *Z. lotus* favorisent significativement le développement des follicules pileux après la cicatrisation des plaies.

Discussion

Discussion

Ce travail porte sur l'étude de l'activité biologique antioxydante, antimicrobienne et cicatrisante de quelques produits naturels à savoir le miel d'euphorbe, les extraits méthanoliques des tiges de *Ziziphus lotus* et des graines de *Peganum harmala*, les jus des bulbes d'*Allium sativum* et *Allium cepa* ainsi que l'extrait aqueux des racines du *Cirsium dissectum*.

Après la préparation des extraits des cinq plantes, le rendement le plus élevé est obtenu à partir du *C. dissectum* (43 %). Les rendements en jus des bulbes à leur tour sont aussi importants avec une quantité plus élevée obtenue à partir de l'*A. cepa* (34.4 %) par rapport à l'*A. sativum* (23 %). Les rendements les plus faibles concernent les extraits méthanoliques avec une quantité plus élevée d'extrait de *P. harmala* (10.7 %) par rapport à l'extrait de *Z. lotus* (5 %).

De manière générale, le rendement d'extraction dépend des procédés d'extraction appliqués et de la composition chimique des plantes. En outre, les composés bioactifs peuvent être présents dans une large variété de plantes mais avec des teneurs variables entre les différentes espèces et les différents tissus (Luczaj et al. 2014). Luczaj et al. (2014) signalent également que la concentration des composés bioactifs peut varier aussi en fonction du climat et des conditions écologiques dans lesquelles poussent les plantes. De même, leurs propriétés peuvent varier en fonction de l'espèce végétale, du tissu végétal, de l'âge de la plante, du temps et de l'endroit de leur collecte. En l'occurrence, l'extraction des composés chimiques du matériel végétal n'est pas affectée seulement par le facteur caractérisant la matière végétale (micro-texture et complexité de la structure du tissu végétal) (Simeonov 1999). Le composé lui-même peut influencer le processus de diffusion et, par conséquent, le rendement de par sa structure moléculaire, sa taille, sa localisation, sa répartition et ses liaisons dans la matière végétale avec d'autres composés (Poirot 2007).

Etant donné que presque tous les éléments identifiés à partir de plantes et qui sont actifs contre les micro-organismes sont des composés aromatiques ou composés organiques saturés, ils sont le plus souvent obtenus par extraction éthanolique ou méthanolique (Naili et al. 2010). En effet, les solvants alcooliques sont capables d'augmenter la perméabilité des parois cellulaires en facilitant l'extraction d'un plus grand nombre de molécules polaires de moyenne et de faible polarité (Benbrinis 2012). Or, le rendement d'extraction ainsi que l'activité antioxydante des extraits des plantes dépendent fortement de la polarité du solvant, ce qui détermine quantitativement et qualitativement les composés antioxydants extraits. Les rendements les plus élevés sont habituellement obtenus avec de l'éthanol et du méthanol et leurs mélanges avec de l'eau, bien que d'autres solvants aient été largement utilisés. Le méthanol et l'éthanol sont

signalés comme solvants d'extraction efficaces pour les saponines et les stérols, les alcaloïdes, les polyphénols et les terpénoïdes. Toutefois, l'eau et l'éthanol sont les solvants les plus utilisés en raison de leur faible toxicité (Franco et al. 2008; Naili et al. 2010). Néanmoins, il est difficile de comparer les résultats obtenus à travers cette étude avec ceux de la littérature ; le rendement n'est qu'une estimation relative qui dépend de la méthode, du solvant et des conditions expérimentales dans lesquelles l'extraction a été effectuée (Poirot 2007).

Concernant l'activité antimicrobienne des produits naturels testés, les résultats révèlent que les concentrations minimales inhibitrices (CMI) diffèrent en fonction du produit naturel d'une part et du microorganisme en étude de l'autre part. En effet, la CMI dépend essentiellement de (a) la nature et la composition de la substance utilisée et (b) du génotype de la souche microbienne (Behidj-Benyounes et al. 2013). En outre, la différence de sensibilité aux agents antimicrobiens peut s'expliquer par la perméabilité, la composition et la charge des structures extérieures des microorganismes (Bhuvaneshwari 2007). Elle peut aussi être due à la variation dans le taux de pénétration des extraits de produits naturels à travers la paroi cellulaire et les structures de la membrane cellulaire (Alnamer et al. 2013). La paroi cellulaire des bactéries Gram positif est constituée par une seule couche contenant 35 à 60 % de polysaccharides et moins de 2 % de lipides alors que la paroi cellulaire des bactéries Gram négatif a une structure multicouche liée par une membrane externe contenant 15 à 20 % de polysaccharides et 10 à 20 % de lipides. Les parois des levures quant à elles sont composées en majeure partie de polysaccharides. Ainsi, en plus de la génétique des microorganismes, la teneur de la paroi en polysaccharides et lipides affecte significativement la perméabilité des différents molécules antimicrobiennes et la réponse des microorganismes vis-à-vis de celles-ci (Egbobor Eja et al. 2007; Djemai 2009).

Le miel, le jus d'*A. sativum* ainsi que l'extrait méthanolique de *P. harmala* ont exhibé une meilleure activité antimicrobienne de par leurs CMI sur tous les microorganismes testés. Cependant, le jus d'*A. cepa* n'a montré aucune inhibition des bactéries Gram négatif testées (*E. coli* et *P. aeruginosa*) alors que l'extrait méthanolique de *Z. lotus* n'a pas démontré d'inhibition sur la levure *C. albicans*.

L'étude méliissopalynologique a révélé que le miel étudié est celui d'euphorbe. Ce type de miel est largement utilisé en médecine traditionnelle de plusieurs pays méditerranéens. Cependant, peu d'études ont été réalisées sur ce dernier (Bettar et al. 2015). C'est un miel très utilisé dans le traitement de l'asthme, des irritations de la gorge, des maladies cardiovasculaires, l'hypertension... et favorise la fertilité chez les femmes. Les miels d'euphorbe sont aussi connus pour leur effet tonifiant, anti-inflammatoire, analgésique et antimicrobien ainsi que leur capacité

à promouvoir la cicatrisation des plaies (Cherbuliez et Domerego 2003 ; Bettar et al. 2015). Les résultats obtenus ont démontré une activité inhibitrice du miel d'euphorbe vis-à-vis de toutes les espèces avec une CMI élevée sur la levure *C. albicans* et basse sur la bactérie *S. aureus*. D'après Merah et al. (2010), l'activité inhibitrice du miel sur *E. coli* et *P. aeruginosa* est semblable à celle des antibiotiques les plus actifs alors que sur *S. aureus*, l'activité inhibitrice du miel naturel est excellente ce qui concorde avec nos résultats.

De nombreuses caractéristiques font du miel un produit antimicrobien; sa viscosité limitant la quantité d'oxygène et d'agents chimiques dissous, sa teneur élevée en sucre faisant de lui un produit hyperosmolaire, sa faible activité d'eau (A_w), sa teneur en acides organiques et son pH acide empêchent la survie et le développement des microbes (Ochoa Sosa 2010). De plus, le miel est composé de plusieurs molécules dites inhibines jouant un rôle dans son activité antimicrobienne telles que le peroxyde d'hydrogène, les lysozymes, les flavonoïdes, les acides aromatiques et d'autres composants indéterminés (Bogdanov et Blumer 2001; Ferreira et al. 2009).

En effet, le pH du miel d'euphorbe étudié s'est révélé acide (pH = 3.6) ce qui lui confère un bon effet antimicrobien. Par contre, le taux d'humidité, étant faible en comparaison aux taux habituels des miels, peut s'expliquer par la méthode de sa conservation. Cependant, l'activité réduite de l'eau empêche ainsi la multiplication des microorganismes. De nombreux travaux ont démontré l'activité inhibitrice du miel sur plusieurs bactéries anaérobies, Gram positif et Gram négatif (Molan 1992), ainsi que sur les champignons tels que *C. albicans* (Irish et al. 2006). Wasihun et Kasa (2016) ont signalé l'inhibition de la croissance des souches de *S. aureus*, *E. coli* et *P. aeruginosa*, résistantes à plusieurs antibiotiques, par le miel. Les résultats obtenus dans cette étude révèlent une grande sensibilité des bactéries vis-à-vis du miel d'euphorbe testé par rapport à la levure *C. albicans*. Les raisons possibles peuvent résider dans la structure et l'organisation de ces cellules microbiennes (Wasihun et Kasa 2016). *S. aureus* s'avère la bactérie la plus sensible au miel testé ce qui est déjà confirmé par les travaux de Molan (1992) ayant montré que cette espèce est très sensible à l'activité du miel.

L'extrait d'*A. sativum* a manifesté une activité antimicrobienne importante sur toutes les souches testées avec des CMI semblables (2 %) sur *S. aureus*, *E. coli* et *C. albicans* et une CMI relativement élevée (4 %) sur *P. aeruginosa*. En effet, Al Masaudi et Al Bureikan (2013) ont signalé l'activité antimicrobienne du jus d'*A. sativum* sur, entre autres, les mêmes espèces testées dans cette étude. Feldberg et al. (1988) ont prouvé que l'allicine est la principale molécule responsable de l'activité antimicrobienne d'*A. sativum* en retardant et inhibant partiellement ou complètement la réplication de l'ADN, la synthèse de l'ARN (sa principale cible) et la synthèse

des protéines. De plus, le jus d'*A. sativum* empêche la synthèse et la formation de la paroi cellulaire en inhibant les enzymes de transpeptidation impliquées dans la liaison des chaînes de polysaccharides de la paroi bactérienne en parallèle de l'activation des enzymes lytiques (Al Masaudi et Al Bureikan 2013). Joe et al. (2009) attribuent aussi l'activité antimicrobienne de l'ail à l'inhibition de la succinate deshydrogénase, enzyme intervenant dans le cycle de Krebs et dans la phosphorylation oxydative, par l'inhibition du groupe thiol. Les autres composés sulfurés ont aussi été démontré possédant une action antimicrobienne.

D'autre part, on remarque une résistance des bactéries Gram négatif vis-à-vis du jus d'*A. cepa* qui est une plante du même genre d'*A. sativum* alors que la bactérie Gram positif *S. aureus* et la levure *C. albicans* semblent être inhibées mais sous des concentrations relativement élevées. Les études ont montré l'activité antimicrobienne du jus d'*A. cepa* contre les bactéries Gram positif *S. aureus*, *Streptococcus milleri*, *Bacillus subtilis* et *Bacillus cereus* et contre les bactéries Gram négatif *Salmonella typhi*, *Salmonella typhimurium* et *E. coli* ce qui n'est pas le cas dans notre étude. Concernant l'activité antifongique, son efficacité a été déjà démontrée envers *C. albicans* et *Saccharomyces cerevisiae* (Augustik 1990). L'activité antimicrobienne de l'oignon est liée à la présence des composés soufrés, y compris les allicines, et des flavonoïdes (polyphénols) principalement les quercétines qui représentent 85 % des flavonoïdes totaux. En outre, les variétés d'*A. cepa* rouges sont riches en anthocyanines principalement les dérivés des cyanidines (Festy 2003; Fredotovic et al. 2017). Les flavonoïdes sont actifs sur les cellules bactériennes et provoquent d'importants dommages sur leurs parois (Ladam 2002). La meilleure action inhibitrice de l'oignon sur les bactéries Gram positif peut s'expliquer par la structure et la composition de leurs parois qui sont pauvres en lipides, ce qui a un effet sur la perméabilité des agents antimicrobiens (Daka 2007). D'autre part, plusieurs travaux ont mis en évidence la grande sensibilité des bactéries Gram positif par rapport aux bactéries Gram négatif (Benikhlef 2014; Al Namer 2014) ce qui concorde avec nos résultats. Or, la résistance bactérienne peut être expliquée par une faible perméabilité de la paroi, l'expression génétique des mécanismes de résistance et/ou une mutation des gènes régulant la résistance (Wasihun et Kasa 2016).

Toutefois, la bactérie *P. aeruginosa* est bien connue pour être très résistante à de nombreux agents antimicrobiens et aux antibiotiques en général ce qui est probablement dû à sa capacité à former un biofilm. En effet, le biofilm protège les bactéries et leur permet de survivre dans des conditions environnementales hostiles et donc résister aux désinfectants et aux antibiotiques. Ainsi, ces bactéries requièrent des concentrations élevées d'agents antimicrobiens (Trembley et al. 2014).

D'après Irkin et Korukluoglu (2007), les extraits des plantes du genre *Allium* possèdent une activité antifongique due à l'interaction des différents composants chimiques de la plante avec les membranes microbiennes. Yin et Taso (1999) ont rapporté que l'action inhibitrice sur les champignons peut être due à la formation de liaisons d'hydrogène entre le groupe hydroxyle des composés et les sites actifs des enzymes. En outre, la diversité structurale des polyphénols (molécules les plus répandues chez les végétaux) leur confère leurs propriétés antimicrobiennes. Les sites et le nombre des groupes hydroxyles sur les groupes phénoliques sont supposés être reliés à leur relative toxicité envers les microorganismes, avec l'évidence que le taux d'hydroxylation est directement proportionnel à la toxicité (Cowan 1999). Il a été aussi rapporté que plus les composés phénoliques sont oxydés et plus ils sont inhibiteurs des microorganismes (Scalbert 1991). Les mécanismes d'action des polyphénols sur les microorganismes sont très complexes; parmi les hypothèses les plus avancées figurent leur action sur les acides nucléiques, les enveloppes cellulaires et sur le métabolisme microbien tel que l'inhibition de la phosphorylation oxydative. Ainsi, ils inhibent les fonctions de la membrane cytoplasmique, interagissent avec les protéines et enzymes extracellulaires de la paroi microbienne, séquestrent le substrat nécessaire à la croissance microbienne (ou la chélation de métaux tels que le fer) et dénaturent les protéines agissant comme des agents tensioactifs (Scalbert 1991; Anyanwu 2012; Rsaissi et al. 2013; Al Namer 2014).

Il est à noter que cette étude rapporte pour la première fois l'activité biologique de l'extrait méthanolique des tiges de *Z. lotus*. Nos résultats ont révélé que celui-ci a inhibé toutes les bactéries testées alors qu'aucune inhibition n'a été constatée sur *C. albicans*. L'activité antimicrobienne du *Z. lotus* est principalement attribuée à ses ingrédients les plus actifs ; polyphénols, alcaloïdes et saponines. Il a été rapporté que les tanins sont aussi présents dans les différentes parties du jujubier (Rsaissi et al. 2013). Les différents mécanismes proposés jusqu'ici pour expliquer l'activité antimicrobienne des tanins sont ceux des polyphénols (Scalbert 1991).

Plusieurs mécanismes d'action des alcaloïdes ont été proposés parmi lesquels l'inhibition de la synthèse des acides nucléiques, inhibition des pompes à efflux, perturbation de l'équilibre homéostatique, perturbation de la membrane externe et de l'intégrité de la membrane cytoplasmique, fuite du contenu cytoplasmique...etc. (Cushnie et al. 2014). En outre, les saponines possèdent des propriétés ressemblant à celles des détergents et peuvent augmenter la perméabilité des membranes cellulaires bactériennes sans les détruire. Environ 90 % de la surface des membranes externes de la paroi des bactéries Gram-négatif sont couvertes par les lipopolysaccharides (LPS). Les saponines pourraient interagir avec la partie lipide A des LPS et augmenter ainsi la perméabilité de la paroi cellulaire bactérienne. Le complexe lipide A-saponine

pourrait favoriser l'absorption de l'agent antimicrobien par des cellules bactériennes intrinsèquement résistantes (Soetan et al. 2006).

Des études antérieures ont confirmé l'activité antimicrobienne des extraits des fruits et des feuilles du *Ziziphus* sur *S. aureus*, *Bacillus subtilis*, *E. coli*, *Salmonella typhi*, *P. aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* et *Proteus vulgaris* (Abdulla et al. 2016). De plus, les travaux de Mohammed et al. (2012) n'ont pas démontré d'inhibition de la levure *C. albicans* avec l'extrait aqueux de l'écorce de *Ziziphus spina-Christi*. Ces résultats concordent parfaitement avec ceux obtenus dans notre étude. Toutefois, d'autres études ont montré que l'extrait du fruit de *Z. lotus* possède un effet antifongique significatif (Lahlou et al. 2002; Rsaissi et al. 2013). Il a été rapporté également que le fruit et les feuilles de *Z. lotus* sont plus riches en polyphénols et flavonoïdes par rapport aux racines et aux graines. Cependant aucune étude à notre connaissance n'a été entreprise sur l'activité antimicrobienne et antioxydante des tiges de *Z. lotus*.

Or, *P. harmala* a exhibé une activité antimicrobienne remarquable sur toutes les espèces étudiées. L'activité antimicrobienne du *P. harmala*, comme celle du *Z. lotus*, est aussi attribuée à ses ingrédients les plus actifs : les polyphénols et surtout les alcaloïdes en plus des tannins et des saponines. En effet, les graines de *P. harmala* sont riches en certains alcaloïdes comme l'harmaline, l'harmine et l'harmane. Ces alcaloïdes ont des propriétés cytotoxiques (Behidj-Benyounes et al. 2013). Darabpour et al. (2011) ont démontré l'effet inhibiteur de l'extrait alcoolique de *P. harmala* sur, entre autres, les mêmes bactéries testées dans cette étude. Mohsenipour et Hassanshahian (2016) ont observé que les bactéries Gram positif sont plus sensibles à l'extrait alcoolique de cette plante en comparaison avec les bactéries Gram négatif ce qui concorde avec nos résultats. De plus, Aboualigalehdari et al. (2016) ont rapporté que *P. harmala* inhibe la formation de biofilm chez des souches de *C. albicans*. Les alcaloïdes retrouvés principalement dans les graines et les racines de cette plante en plus des autres composés phytochimiques comme les polyphénols sont responsables des propriétés pharmacologiques de cette plante (Asgarpanah et Ramezanloo 2012).

Après avoir déterminé les CMI des différents produits naturels testés, l'activité antimicrobienne synergique entre le miel et les différents extraits de plantes étudiées a été déterminée sur la base des CMI obtenues c'est-à-dire que les microorganismes ayant présenté une résistance vis-à-vis d'un produit ne seront pas testés pour l'activité antimicrobienne synergique.

La synergie résulte d'une interaction positive entre deux substances dont l'action antimicrobienne conjointe est supérieure à la somme des actions de chacune des deux substances prises isolément (Van Bambeke et Tulkens 2008). Les résultats obtenus démontrent un effet antimicrobien synergique remarquable entre le miel et l'*A. sativum* sur tous les microorganismes

testés. Ces résultats sont en concordances avec ceux de Andualem (2013) qui a démontré l'activité antibactérienne synergique du mélange *A. sativum* et miel de *Trigona iridipennis* sur entre autres les mêmes souches testées dans cette étude. La mixture miel-*Z. lotus* quant à elle ne présente un effet synergique que sur *S. aureus* et *P. aeruginosa* mais aucun effet sur *E. coli*. La mixture miel-*A. cepa* n'a d'effet synergique que sur *S. aureus* alors qu'un effet additif est observé sur *P. aeruginosa*. Toutefois, malgré que l'extrait de *P. harmala* ait présenté un excellent effet antimicrobien sur toutes les espèces microbiennes testées, aucun effet synergique n'a été obtenu et on pense même qu'un effet antagoniste existe entre le miel et le *P. harmala*.

Plusieurs études ont démontré l'effet synergique entre le miel et les huiles essentielles de diverses plantes. Par la combinaison à la fois du miel et l'huile essentielle, un effet synergique se produit entre les deux substances ou l'une facilite l'action de la seconde en combinant leurs propriétés. Les substances actives agissent toutes les deux sur la membrane cellulaire des microorganismes et agissent sur les constituants cellulaires. Les effets antimicrobiens de l'huile essentielle et du miel sont le résultat de nombreux composés agissant en synergie. Cela permet de diminuer la quantité utilisée de chaque produit tout en gardant les mêmes propriétés antimicrobiennes si ce n'est pas encore plus renforcées car l'une stimule l'activité de l'autre (Boukraa et al. 2013). Ceci demeure valable dans le cas de la synergie entre le miel et les différents extraits de plantes.

Excepté pour la combinaison miel-*A. sativum*, aucune étude n'a été réalisée dans ce sens et donc cette étude reste la première de ce genre concernant la détermination de l'effet synergique des mélanges à base de miel et des extraits de tiges de *Z. lotus* et des graines de *P. harmala* ainsi que le jus d'*A. cepa*.

En ce qui est de l'activité antioxydante, celle-ci a été testée sur tous les produits naturels en plus des mélanges à 50 – 50 % du miel avec chacun des extraits des plantes à travers la réduction des radicaux DPPH ainsi que la quantification des teneurs en polyphénols totaux et en flavonoïdes totaux. Les extraits méthanoliques de *P. harmala* et *Z. lotus* ont exhibé l'activité antioxydante la plus élevée de par leur activité antiradicalaire élevée comparable à celle de l'acide ascorbique et leur forte teneur en polyphénols et flavonoïdes totaux. La mixture 'miel-*Z. lotus*' a elle aussi exhibée une activité antiradicalaire relativement élevée suivie des mixtures 'miel-*C. dissectum*' et 'miel-*P. harmala*' ainsi que le miel seul.

Toutefois, les teneurs en polyphénols totaux sont relativement élevés dans la mixture 'miel-*P. harmala*' suivi du miel seul et en combinaison avec le *Z. lotus* puis la mixture 'miel-*C. dissectum*'. Quant à la teneur en flavonoïdes totaux, les mixtures 'miel-*P. harmala*' et 'miel-*Z.*

lotus' présentent des taux élevés par rapport au reste des produits naturels, suivis de l'*A. sativum*, le miel seul, l'*A. cepa* et la mixture 'miel-*A. cepa*'.

En effet, plusieurs études ont établi une relation directe entre l'activité antioxydante et la teneur en polyphénols (Li et al. 2005). Par ailleurs, d'autres molécules bioactives telles que les fibres alimentaires et les micronutriments et autres substances phytochimiques telles que les alcaloïdes et les terpènes contribuent à l'activité antioxydante (Capasso 2013).

Cette étude rapporte pour la première fois l'effet cicatrisant de l'application topique de quelques mixtures à base du miel en mélange avec les extraits de quelques plantes, déjà utilisées en médecine traditionnelle, sur des plaies de brûlures induites chez des souris Balb/C. Bien que certains de ces produits naturels aient été déjà étudiés, certains d'entre eux sont cités pour la première fois à savoir le *C. dissectum* qui a été peu étudié notamment en Grande Bretagne alors qu'aucune étude à notre connaissance n'a été rapportée ailleurs.

L'étude de l'activité cicatrisante n'a montré aucune toxicité ou mortalité des sujets jusqu'à la fin de l'expérience. L'application des différents produits naturels étudiés sur les souris des deux sexes a révélé une bonne activité cicatrisante des mixtures 'miel-*Z. lotus*', 'miel-*A. cepa*', miel seul, *Z. lotus* et *C. dissectum* en plus d'une activité cicatrisante non négligeable de l'*A. cepa* et de la mixture 'miel-*C. dissectum*'. En effet, ces produits ont présenté un temps de cicatrisation réduit par rapport au traitement conventionnel par la sulfadiazine argentine (dans cette étude) en plus d'une réduction significative du temps de réépithélialisation. L'analyse histologique a aussi confirmé ces résultats en démontrant une bonne régénération des tissus en parallèle avec la mise en place de toutes les structures annexes habituelles après cicatrisation complète.

Le processus complexe de cicatrisation des plaies consiste à remplacer les structures cellulaires et les couches tissulaires lésées par de nouvelles cellules et tissus sains. Ce processus comporte 3 phases; inflammation, prolifération et remodelage. Ces phases ne sont pas strictement séparées dans le temps mais se chevauchent (Osman et al. 2013). Néanmoins, la réponse inflammatoire est un facteur limitant de la cicatrisation des plaies. Malgré qu'elle soit nécessaire dans le processus de nettoyage de la plaie et de recrutement des cellules nécessaires à la réparation de la plaie, une inflammation importante cause la destruction de la zone lésée et réduit la prolifération des fibroblastes, la synthèse de la matrice extracellulaire ainsi que l'angiogenèse. Par conséquent, les agents anti-inflammatoires favoriseraient la cicatrisation (Marinho et al. 2013; Fahimi et al. 2015).

Selon les chercheurs, un produit naturel possédant une activité cicatrisante doit au moins présenter deux des propriétés suivantes : stimulation de la prolifération des fibroblastes, induction de la prolifération et de la différenciation des kératinocytes, augmentation de la

production de collagène, effets angiogéniques, posséder une activité antimicrobienne, antioxydante et/ou anti-inflammatoire (Abdeldjelil 2016; Agyare et al. 2016).

Généralement, les molécules bioactives des produits naturels agissent sur la cicatrisation des plaies à travers la coagulation du sang et par leurs activités antimicrobienne, antioxydante et mitogène ainsi qu'en augmentant l'expression des facteurs de croissance des cellules endothéliales et l'induction de la différenciation des kératinocytes (Agyare et al. 2016).

En outre, la prévention de l'infection constitue la première étape à préconiser lors des brûlures (Astrid 2004). De plus, les molécules oxydantes limitent la cicatrisation de la plaie en raison des dégâts qu'ils occasionnent aux cellules. Les études réalisées sur l'application topique d'agents antioxydants ayant la capacité de neutraliser ces molécules ont démontré leur action sur la cicatrisation des plaies, ceux-ci inhibent l'action des radicaux libres formés lors de la réaction inflammatoire améliorant ainsi le processus de cicatrisation. D'autres mécanismes d'action des antioxydants comme l'amélioration de la prolifération des cellules épithéliales ainsi que la synthèse de collagène ont été rapportés (Lee et al. 2012; Fahimi et al. 2015). A titre d'exemple, les études ont montré que les tannins agissent en stimulant la prolifération des kératinocytes et des fibroblastes. Les flavonoïdes, en neutralisant les radicaux libres, réduisent la peroxydation des lipides ainsi prolongeant la viabilité et la résistance des fibres de collagène. Ils préviennent ou retardent la nécrose cellulaire et améliorent la vascularisation de la plaie. Ils possèdent aussi un effet astringent responsable de la contraction de la plaie (Agyare et al. 2015).

De nombreuses études ont démontré que les produits naturels, principalement le miel et les plantes médicinales, constituent de potentiels agents favorisant la cicatrisation (Sheeba et al. 2009). Le miel est utilisé comme un pansement naturel sur les plaies créant un environnement humide et nutritif pour la plaie favorisant ainsi sa cicatrisation. Outre ses propriétés antimicrobiennes, le miel agit sur la cicatrisation des différents types de plaies y compris les brûlures en réduisant l'œdème et l'inflammation, améliorant la réépithélialisation et la contraction de la plaie, favorisant la formation du tissu de granulation et en augmentant la synthèse de collagène et le développement de nouveaux vaisseaux sanguins (Agyare et al. 2016; Pereira et Bartolo 2016). En effet, sa teneur élevée en sucre lui confère une propriété hygroscopique qui en plus de l'inhibition de la croissance microbienne absorbe le liquide formant l'œdème. De même, l'enzyme glucose oxydase s'active par la dilution du miel et produit du peroxyde d'hydrogène qui joue son rôle d'antiseptique. Son pH acide aide la libération d'oxygène par l'hémoglobine et entrave l'activité des protéases qui sont fréquemment formées par les neutrophiles lors de la phase d'inflammation et qui peuvent détruire les fibroblastes et les autres cellules rendant la peau moins flexible (Barku et al. 2013). Des études ont démontré que le

miel promeut la granulation et la réépithélialisation des tissus à partir des bords de la plaie (Sidik et al. 2006).

D'autres part, les plaies traitées par l'extrait aqueux de *C. dissectum* ont présenté le processus inflammatoire le moins marqué et le processus de réparation le plus précoce comme en témoigne la fibrose plus dense et l'importante angiogenèse. Kulac et al. (2013) attribuent la néovascularisation à l'activité antioxydante du produit naturel utilisé en améliorant la perméabilité vasculaire, en diminuant la peroxydation des lipides et en contrôlant systématiquement le processus de l'inflammation (Martin 1996).

Des études ont démontré également l'activité cicatrisante des plantes du genre *Ziziphus* (Naz et al. 2013). En effet, la présence de polyphénols, acides triterpéniques et saponines ainsi que d'autres molécules bioactives leur confèrent plusieurs propriétés thérapeutiques dont les propriétés antiinflammatoire, antioxydante antimicrobienne et cicatrisante (Hovanet et al. 2016).

De même, d'autres études ont démontré l'effet cicatrisant de l'*A. cepa* sur la cicatrisation des plaies d'incision. Les différents constituants chimiques d'*A. cepa* en font un agent antimicrobien, antioxydant et anti-inflammatoire qui permet de réduire le temps nécessaire à la cicatrisation (Durmus et al. 2012). De plus, des travaux ont démontré l'efficacité de l'*A. cepa* dans la promotion de la néovascularisation, étant une plante riche en flavonoïdes (Chuangsuwanich et al. 2014), ce qui a été constaté également à travers nos résultats.

Sidik et al. (2006) ont rapporté une meilleure activité cicatrisante d'une préparation combinant le miel avec l'*A. sativum* par rapport au miel seul. Ces résultats ne sont pas en concordance avec les résultats obtenus à travers cette étude qui a démontré un meilleur effet cicatrisant du miel seul alors que l'*A. sativum* seul et en mélange avec le miel ont démontré un temps de cicatrisation plus long accompagné par des signes d'irritation de la peau. L'explication plausible réside dans les concentrations utilisées, en effet lors de cette étude une concentration de 50 % des mixtures à base de miel avec les différents extraits de plantes ont été utilisées alors que dans l'étude de Sidik et al. (2006), la concentration était de 10 % concernant l'*A. sativum* en combinaison avec miel. En effet, le jus d'*A. sativum* malgré ses propriétés thérapeutiques nombreuses, en solution pure peut provoquer des irritations de la peau (Gambillara et al. 2010).

Or, les résultats ont démontré une réaction inflammatoire importante vis-à-vis de l'extrait de *P. harmala* et de la mixture 'miel-*P. harmala*' avec un retard important de cicatrisation par rapport aux autres produits testés. Ces résultats ne concordent pas avec ceux de Derakhshanfar et al. (2010) qui ont démontré l'efficacité de l'extrait de *P. harmala* dans la cicatrisation des plaies d'incisions.

La sulfadiazine d'argent, quant à elle, est l'un des agents topiques les plus utilisés dans le traitement des brûlures et s'est imposée comme le traitement de choix des brûlures en raison de son large spectre antimicrobien, y compris ceux résistants aux antibiotiques, ceci en interférant avec leur métabolisme. De plus, elle présente une action antalgique grâce au milieu humide qu'elle engendre au niveau de la plaie. Cela peut expliquer le décalage de la réépithélialisation déjà remarqué. Néanmoins, son usage est limité en raison de son effet cytotoxique sur les cellules des mammifères (Pereira et Bartolo 2016). Les sels d'argents ont été accusés de retarder la cicatrisation en cas d'application prolongée et de se fixer autour des follicules pileux causant par la suite une réaction inflammatoire prolongée (Raffoul et Berger 2006). Des études ont rapporté la toxicité de la sulfadiazine argentique sur les neutrophiles ainsi que sur les autres cellules inflammatoires, sur les fibroblastes et les kératinocytes ainsi que sur la flore normale de la peau, interférant ainsi avec le bon déroulement de la cicatrisation (Hé 2006; Abdeldjelil 2016).

Lors de cette étude une nette différence a été remarquée dans la cicatrisation des plaies entre les souris males et femelles en faveur des femelles. Les scientifiques attribuent cette hétérogénéité entre les deux sexes à la différence des hormones sexuelles entre autres à l'œstrogène, une hormone sexuelle primaire chez les femelles qui protègerait les femelles de plusieurs pathologies (Viguié 2017).

Ainsi, la recherche d'agents naturels aux propriétés biologiques diverses d'intérêt thérapeutique n'induisant pas d'effets secondaires est l'une des priorités des sciences biomédicales modernes. Plusieurs praticiens de la médecine traditionnelle à travers le monde possèdent des informations précieuses sur plusieurs plantes ou autres produits naturels qui peuvent servir dans la médecine moderne.

Conclusion et perspectives

Conclusion et perspectives

L'utilisation des substances naturelles a suscité un grand intérêt dans la recherche biomédicale. Leur utilisation thérapeutique prévient l'apparition des effets secondaires observés lors de l'utilisation des médicaments de synthèse chimique.

La présente étude a pour but de fournir un soutien à l'efficacité de la thérapie basée sur les produits naturels, seuls ou en combinaison, à la lumière de la tendance actuelle à trouver des remèdes alternatifs accessibles et efficaces présentant un effet antioxydant limitant les dommages induits par le stress oxydatif et agissant contre de nombreux microorganismes pathogènes résistants aux antibiotiques ainsi qu'ayant un effet sur la cicatrisation des plaies de brûlures responsables des taux élevés de mortalité.

Ce travail a visé un approfondissement des données existantes sur les vertus du miel et de quelques plantes utilisées en médecine traditionnelle locale, par des essais *in vitro* et *in vivo* pour déterminer trois grands aspects de leurs propriétés biologiques thérapeutiques qui sont l'effet antimicrobien, l'effet antioxydant et l'activité cicatrisante sur les plaies de brûlures cutanées.

Les résultats ont permis de mettre en évidence un meilleur effet antimicrobien des extraits d'*A. sativum*, *P. harmala* et du miel sur toutes les souches testées. En revanche, l'extrait de *Z. lotus* a présenté seulement un effet antibactérien alors qu'aucune inhibition n'a été observée sur la levure *C. albicans*. De plus, l'extrait d'*A. cepa* n'a pas inhibé les bactéries Gram négatif.

Concernant l'activité antimicrobienne synergique des mixtures à base de miel et des extraits des plantes médicinales, la mixture 'miel-*A. sativum*' s'est révélée la plus efficace sur toutes les souches testées alors qu'aucune synergie n'a été constatée dans la mixture 'miel-*P. harmala*'.

En outre, les résultats de l'activité antioxydante ont révélé une meilleure activité antiradicalaire, comparable à celle de l'acide ascorbique, corrélée significativement avec des teneurs élevées en polyphénols et en flavonoïdes totaux des extraits de *Z. lotus* et *P. harmala*. Toutefois, le miel seul ainsi que les mixtures 'miel-*Z. lotus*', 'miel-*P. harmala*' et 'miel-*C. dissectum*' ont démontré une activité antioxydante relativement élevée par rapport aux restes des extraits de plantes médicinales testées seuls ou en combinaison avec le miel.

L'activité cicatrisante est évaluée dans l'ensemble par le temps de réépithélialisation, le suivi de la cinétique de cicatrisation et l'analyse histologique. Les plaies de brûlures ayant

manifesté une meilleure cicatrisation, chez les souris des deux sexes, sont celles traitées par l'extrait de *Z. lotus*, le gel de *C. dissectum*, le miel et les mixtures 'miel-*Z. lotus*' et 'miel-*A. cepa*'. Le jus d'*A. cepa* et la mixture 'miel-*C. dissectum*' ont également démontré une bonne activité cicatrisante. Cependant, l'extrait de *P. harmala* seul ou en mélange avec le miel a induit une inflammation importante et un retard dans la cicatrisation complète des plaies.

Ces résultats soutiennent le principe d'une synergie entre les extraits de plantes médicinales et le miel qui va au-delà de l'activité antimicrobienne seule mais qui est aussi reflétée sur l'activité cicatrisante.

Les résultats ont prouvé plusieurs propriétés biologiques des produits naturels étudiés. Partant du principe de la préférence des produits naturels par rapport aux produits industriels chimiques et aux antibiotiques conventionnels, il s'avère prometteur de remplacer les produits chimiques synthétiques utilisés pour leur activité antimicrobienne, antioxydante ou dans la cicatrisation des plaies de brûlures par le miel, les extraits des plantes aromatiques et médicinales ou par leur combinaison.

Cette étude promeut la valorisation des savoirs traditionnels locaux du fait que ces produits sont aussi efficaces, moins onéreux et donc accessibles aux populations à faible revenu.

En perspective, la détermination des concentrations ayant un effet optimal sur la cicatrisation des plaies est à envisager en plus d'une étude plus approfondie sur les molécules interagissant en synergie sur celles-ci. Les mécanismes d'action de ces molécules en combinaison sur la cicatrisation des plaies de brûlures et de manière générale en thérapeutique sont aussi à entreprendre. Ceci dans le but d'obtenir des produits naturels, à effet thérapeutique certifié, commercialisés et accessibles à tous.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- Abbassi K., Mergaoui L., Kadiri ZA., Stambouli A. et Ghaout S. 2003. Effets des extraits de *Peganum harmala* (Zygophyllaceae) sur le criquet pèlerin (*Schistocerca gregaria* Forskål, 1775). *Zoologica Baetica*. 13/14: 203-217.
- Abbott R. 2014. Documenting traditional medical knowledge. World Intellectual Property Organization.
- Abdeldjelil MC. 2016. Effets cicatrisants de produits à base d'huile de lentisque (*Pistacia lentiscus* L.) sur les brûlures expérimentales chez le rat. Thèse de Doctorat. Université des Frères Mentouri, Constantine, Algérie.
- Abdulla G., Abdel-Samie MAS. and Zaki D. 2016. Evaluation of the antioxidant and antimicrobial effects of Ziziphus leaves extract in sausage during cold storage. *Pakistan Journal of Food Sciences*. 26(1): 10-20.
- Abdullahi A., Amini-Nik S. and Jeschke MG. 2014. Models in Burn Research. *Cellular and Molecular Life Sciences*. 71(17): 3241–3255.
- Aboualigalehdari E., Sadeghifard N., Taherikalani M., Zargoush Z., Tahmasebi Z., Badakhsh B., Rostamzad A., Ghafourian S. and Pakzad I. 2016. Anti-biofilm properties of *Peganum harmala* against *Candida albicans*. *Osong Public Health and Research Perspectives* 7(2): 116 – 118.
- Acharya N., Barai P., Katariya H., Acharya S. and Santani D. 2015. Evaluation of antidiabetic potential of roots and stems of *G. Arborea*. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 7(8): 355-362.
- Afzal M., Ali M., Thomson M. and Armstrong D. 2000. *Allium sativum* and its medicinal potential. *Inflammopharmacology*. 8: 123 – 148.
- Agbo MO., Uzor PF, Akazie-Nneji UN., Eze-Odurukwe CU., Ogbatue UB. and Mbaaji EC. 2015. Antioxidant, total phenolic and flavonoid content of selected Nigerian medicinal plants. *The Dhaka University Journal of Pharmaceutical Sciences*. 14(1): 35-41.
- Agyare C., Oppong Bekoe E., Duah Boakye Y., Oteng Dapaah S., Appiah T. and Oppong Bekoe S. 2016. Medicinal plants and natural products with demonstrated wound healing properties. Chapter in: Alexandrescu VA. Wound healing - New insights into ancient challenges. InTech. <http://dx.doi.org/10.5772/63574>

- Al Bayaty F., Abdulla M., Abu Hassan MI. and Masud M. 2010. Wound healing potential by hyaluronate gel in streptozotocin-induced diabetic rats. *Scientific Research and Essays*. 5(18): 2756-2760.
- Al Masaudi SB. and Al Bureikan MO. 2013. Antimicrobial activity of garlic juice (*Allium Sativum*), honey and garlic-honey mixture on some sensitive and multiresistant microorganisms. *Life Science Journal*. 10: 2429-2435.
- Al Namer RMM. 2014. Valorisation pharmacologique de *Rosmarinus officinalis* et de *Lavandula officinalis*: toxicité aiguë, potentiel psychotrope et antibactérien. Thèse de Doctorat. Université Mohammed VI – Agdal. Rabat, Maroc.
- Alnamer R., Alaoui K., Doudach L., Boudida EH., Chibani F., AL-Sobarry M, Benjouad A. and Cherrah Y. 2013. In vitro antibacterial activity of *Rosmarinus officinalis* methanolic and aqueous extracts. *International Journal of Pharmaceutics*. 3(1): 1-6.
- Amonkar SV. and Banerji A. 1971. Isolation and characterization of larvicidal principle of garlic. *Science*. 174(4016): 1343-1344.
- Andualet B. 2013. Synergistic antimicrobial effect of tenege honey (*Trigona iridipennis*) and garlic against standard and clinical pathogenic bacterial isolates. *International Journal of Microbiology Research*. 4: 16-22.
- Anyanwu CU. 2012. Investigation of *in vitro* antifungal activity of honey. *Journal of Medicinal Plants Research*. 6: 3512-3516.
- Asgarpanah J. and Ramezanloo F. 2012. Chemistry, pharmacology and medicinal properties of *Peganum harmala* L. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 6(22): 1573-1580.
- Ashwini M. and Sathishkumar R. 2014. Onion (*Allium cepa*) – Ethnomedicinal and therapeutic properties. Handbook of medicinal plants and their bioactive compounds. 27-34 Research Signpost. Kerala, India.
- Augusti KT. 1990. Therapeutic and medicinal values of onions and garlics. In: Rabinowitch HD. and Brewster JL. Onions and allied crops. CRC Press, Boca Raton, FL.
- Bairy KL. 2002. Wound healing potentials of plant products. *Journal of Natural Remedies*. 2/1: 11 – 20.
- Balouiri M., Sadiki M. and Koraichi Ibsouda S. 2016. Methods for *in vitro* evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*. 6: 71-79.
- Barku VYA., Boye A. and Quansah N. 2013. Antioxidant and wound healing studies on the extracts of *Corchorus olitorius* leaf. *World Essays Journal*. 1(3): 67-73.
- Barnes J., Anderson LA and Phillipson JD. 2007. Herbal Medicines. Third edition. Pharmaceutical Press.

- Behidj-Benyounes N., Dahmane T., Aknouche F. et Demmouche K. 2013. Screening phytochimique et évaluation de l'activité antimicrobienne des alcaloïdes des feuilles de *Peganum harmala* L. récoltées dans la région de M'sila. *Sciences et Technologie*. 38: 27-37.
- Benammar C. 2011. Effets antioxydants et immunomodulateurs d'une plante médicinale Nord Africaine, *Zizyphus lotus* L. (Sedra): Etude des différents extraits. Thèse de Doctorat. Université Abou Bekr Belkaid, Tlemcen.
- Benammar C., Baghdad C., Belarbi M., Subramaniam S., Hichami A. and Khan NA. 2010. Antidiabetic and Antioxidant Activities of *Zizyphus lotus* L. Aqueous Extracts in Wistar Rats. *Journal of Nutrition and Food Sciences*. DOI:10.4172/2155-9600.S8-004
- Benbrinis S. 2012. Evaluation des activités antioxydante et antibactérienne des extraits de *Santolina chamaecyparissus*. Mémoire de Magistère. Université Ferhat Abbas, Sétif, Algérie.
- Benikhlef A. 2014. Comparaison entre les huiles essentielles et leurs effets antibactériens sur *Rosmarinus officinalis* de la région de Bechar et Ouergla. Mémoire de Master. Université Abou Bakr Belkaid, Tlemcen, Algérie.
- Benson A., Dickson WA. and Boyce DE. 2006. ABC of wound healing. Burns. *British Medical Journal*. 332: 649-652.
- Berenbaum MC. 1977. Synergy, additivism and antagonism in immunosuppression. A critical review. *Clinical and Experimental Immunology*. 28: 1-18.
- Bettar I., Gonzalez-Miret M., Lourdes HD., Marconi A., Heredia FJ. and Terrab A. 2015. Characterisation of moroccan spurge (*Euphorbia*) honeys by their physicochemical characteristics, mineral contents and colour. *Arabian Journal of Chemistry*. <http://dx.doi.org/10.1016/j.arabjc.2015.01.003>
- Bhuvaneshwari L., Arthy E., Anitha C., Dhanabalan K. and Meena M. 2007 Phytochemical analysis and antibacterial activity of *Nerium oleander*. *Ancient Science of Life*. 26(4): 24-28.
- Birben E., Sahiner UM. Sackesen C. Erzurum S. and Kalayci O. 2012. Oxidative stress and antioxidant defense. *World Allergy Organization Journal*. 5(1): 9-19.
- Bodeker GC., Ryan TJ. and Ong C. 1999. Traditional approaches to wound healing. *Clinics in dermatology*. 17(1): 93-98.
- Bogdanov S. 1999. Stockage, cristallisation et liquéfaction du miel. Centre Suisse de Recherche Apicoles.
- Bogdanov S. 2016. Royal jelly, bee brood: composition, nutrition, health. Chapter in: The royal jelly book.

- Bogdanov S. et Blumer P. 2001. Propriétés antibiotiques naturelles du miel. Centre Suisse de Recherches Apicoles. RSA. 98(3): 107-114.
- Boucher E. 2005. Effets d'un dextran substitué sur la production de feuillets dermiques et du gel de fibrine sur la qualité des feuillets d'épidermes cultivés. Maîtrise en biologie cellulaire et moléculaire. Université Laval, Canada.
- Boukraâ L., Alzahrani H., Abdellah F., Bakhtomah B. and Hammoudi M. 2013. Synergistic effect of monofloral honeys and essential oils against *Pseudomonas aeruginosa*. *British Microbiology Research*. 3(4): 564-573.
- Boullard B. 2003. Plantes médicinales du monde : réalités et croyances. Estem Editions. Paris.
- Boutonnat J. 2007. La peau. Histologie. Etude des tissus. PCEM 1. Faculté de médecine de Grenoble. France.
- Bouziane N. 2011. Toxicité comparée des extraits d'*Euphorbia guyoniana* Boiss. & Reut. (Euphorbiaceae) et de *Peganum harmala* L. (Zygophyllaceae) récoltés au Sahara Septentrional Est algérien sur les larves et les adultes de *Schistocerca gregaria* (Forskål, 1775). Mémoire de Magistère. Université Kasdi Merbah-Ouargla, Algérie.
- Breden Toulouse A. 2006. Brûlures graves : premiers soins et critères de transfert en centre spécialisé. DESC Réanimation médicale. Clermont Ferrand.
- Burlando B. and Cornara L. 2013. Honey in dermatology and skin care: a review. *Journal of Cosmetology and Dermatology*. 12(4):306–13.
- Capasso A. 2013. Antioxidant action and therapeutic efficacy of *Allium sativum* L. *Molecules*. 18: 690-700.
- Cavelier E. 2013. Le miel : composition et techniques de production. Mémoire de Master. ESIT – Université Sorbonne Nouvelle – Paris 3, France.
- Chafiki N., Fassi Fihri J. et Boukind EH. 2007. Les séquelles de brûlures: épidémiologie et traitements. *Annals of Burns and Fire Disasters*. 20(3): 129-136.
- Chanda S. and Rakholiya K. 2011. Combination therapy: Synergism between natural plant extracts and antibiotics against infectious diseases. Science against microbial pathogens: communicating current research and technological advances. A. Méndez-Vilas (Ed). FORMATEX .
- Cherbuliez T. et Domerego R. 2003. L'Apithérapie, médecine des abeilles. Edition Amyris.
- Chevalier A. 1947. Les Jujubiers ou Ziziphus de l'ancien monde et l'utilisation de leurs fruits. *Revue Internationale de Botanique Appliquée et d'Agriculture Tropicale*. 27(301): 470-483.

- Choi MK., Chae KY., Kyung KH. and Numagani L. 2005. Antimicrobial activity of chemical substances derived from s-alk(en) yl L-cysteine sulfoxide(allin) in garlic, *Allium sativum*. *Food Science Biotechnology*. 16 : 1-7.
- Chow PKH., Ng RTH. and Ogden BE. 2007. Using animal models in biomedical reaserch. A primer for the investigator. *World Scientific Publishing*. Singapore.
- Chuangsuwanich A. and Jongjamfa K. 2014. The efficacy of combined herbal extracts gel preparation in the prevention of postsurgical hypertrophic scar formation. *Dermatology and Therapy*. 4(2): 187–195.
- Church D., Elsayed S., Reid O., Winston B. and Lindsay R. 2006. Burn wound infections. *Clinical Microbiology Reviews*. 19(2): 403-434.
- Coban YK. 2012. Infection control in severely burned patients. *World Journal of Critical Care Medicine*. 1(4): 94-101.
- Codex Stan 12-1981. Codex Alimentarius: Normes pour le miel.
- Cowan M. 1999. Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews*. 12(4): 564-582.
- Cushnie TPT., Cushnie B. and Lamb AJ. 2014. Alkaloids, an overview of their antibacterial, antibiotic-enhancing and antivirulence activities. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 44: 377-386.
- Dahiya P. 2009. Burns as a model of SIRS. *Frontiers in Bioscience* 14: 4962-4967.
- Dahiya P. 2009. Burns as a model of SIRS. *Frontiers in Bioscience*. 14: 4962-4967.
- Daka D. 2011. Antibacterial effect of garlic on *S. aureus*: an in vitro study. *Journal of Biotechnology*. 10(4): 666-669.
- Darabpour E., Bavi AP., Motamedi H. and Seyyed Nejad SM. 2011. Antibacterial activity of different parts of *Peganum harmala* L. growing in Iran against multi-drug resistant bacteria. *Experimental and Clinical Sciences Journal*. 10: 252-263.
- Davis SC. and Perez R. 2009. Cosmeceuticals and natural products: wound healing. *Clinics in Dermatology*. 27(5): 502–506
- De Vere N. 2007(a). Biological flora of the British Isles: *Cirsium dissectum* (L.) Hill (*Cirsium tuberosum* (L.) All. subsp. anglicum (Lam.) Bonnier; *Cnicus pratensis* (Huds.) Willd., non Lam.; *Cirsium anglicum* (Lam.) DC. *Journal of Ecology*. 95: 876–894.
- De Vere N. 2007(b). The ecology and genetics of *Cirsium dissectum* (L.) Hill in the British Isles and implications for its conservation. Doctorat thesis. University of Plymouth. England.
- Delarras C. 2007. Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou de contrôle sanitaire. Edition Tec & Doc. Lavoisier, Paris, France.

- Demain AL. and Fang A. 2000. The natural functions of secondary metabolites". *Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology. Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology*. 69: 1–39. ISBN 978-3-540-67793-2.
- Démarchez M. 2011. La peau humaine normale. In: *Biologie de la peau*.
- Démarchez M. 2015. La phase de prolifération et de réparation de la cicatrisation cutanée. In: *Biologie de la peau*.
- Demidova-Rice TN., Hamblin MR. and Herman IM. Acute and impaired wound healing: pathophysiology and current methods for drug delivery, Part 1: Normal and chronic wounds: biology, causes, and approaches to care. *Advances in Skin and Wound Care*. 25(7): 304-314.
- Derakhshanfar A., Oloumi MM., Mirzaie M. 2010. Study on the effect of *Peganum harmala* extract on experimental skin wound healing in rat: pathological and biomechanical findings. *Comparative Clinical Pathology*. 19(2): 169-172.
- Dewick PM. 2009. Medicinal Natural Products: A biosynthetic approach. Third edition. John Wiley edition. ISBN 978-0-470-74167-2
- Diwan SY. 2013. Effect of *Peganum Harmala* methanol extract on liver and kidney of mice administered MTX drug. *Journal of Al-Nahrain University*. 16(4): 161-166.
- Djahra A. 2014. Etude photochimique et activité antimicrobienne, antioxydante, anti hépatotoxique du Marrube blanc ou *Marrubium vulgare*. Thèse de doctorat. Université Badji Mokhtar, Annaba, Algérie.
- Djebaili S. 1984. Recherches phytosociologiques et écologiques sur la végétation des Hautes Plaines Steppiques et de l'Atlas saharien algérien : annexes, tableaux et cartes. Mémoire : OPU, Alger (Algérie).
- Dorai AA. 2012. Wound care with traditional, complementary and alternative medicine. *Indian Journal of Plastic Surgery*. 45: 418–424.
- Dorman HJD. and Deans SG. 2000. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of Applied Microbiology*. 88(2): 308-316.
- Durmus AS., Yaman M. and Can HN. 2012. Effects of *Extractum cepae*, heparin, allantoin gel and silver sulfadiazine on burn wound healing: an experimental study in a rat model. *Veterinarni Medicina*. 57(6): 287–292.
- Eckhart L, Lippens S., Tschachler E. and Declercq W. 2013. Cell death by cornification. *Biochimica et Biophysica Acta*. 1833: 3471–3480.

- Egbobor Eja M., Asikong BE., Abriba C., Arikpo GE., Anwan EE. and Enyi-Idoh KH. 2007. A comparative assessment of the antimicrobial effects of garlic (*Allium sativum*) and antibiotics on diarrheagenic organisms. *The Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health*. 38(2): 343 – 348.
- El Sohaimy SA., Masry SHD. and Shehata MG. 2015. Physicochemical characteristics of honey from different origins. *Annals of Agricultural Science*. 60(2): 279–287.
- Enoch S. and Leaper DJ. 2007. Basic science of wound healing. *Surgery*. 26(2): 31-37.
- Essayagh T. 2013. Epidémiologie de l'infection chez les brulés hospitalisés à l'unité des brûlés de l'hôpital militaire d'instruction. Thèse de doctorat. Université Mohamed V. Souissi. Faculté de médecine et de pharmacie de Rabat, Maroc.
- Essman EJ. 1984. The medical uses of herbs. *Fitoterapia*. 55: 279-289.
- Eteraf-Oskouei T. and Najafi M. 2013. Traditional and modern uses of natural honey in human diseases: A Review. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*. 16: 731-742.
- Ewnetu Y., Lemma W. and Birhane N. 2014. Synergetic antimicrobial effects of mixtures of Ethiopian honeys and ginger powder extracts on standard and resistant clinical bacteria isolates. *Journal of Evidence Based Complementary and Alternative Medicine* <http://dx.doi.org/10.1155/2014/562804>.
- Fahimi S., Abdollahi M., Mortazavi SA., Hajimehdipoor H., Abdolghaffari AH. and Rezvanfar MA. 2015. Wound healing activity of a traditionally used poly herbal product in a burn wound model in rats. *Iranian Red Crescent Medical Journal*. 17(9): e19960.
- Farnsworth NR., Akerele O., Bingel AS., Soejarto DD. et Guo Z. 1986. Places des plantes médicinales dans la thérapeutique. *Bulletin de l'Organisation Mondiale de la Santé*. 64(2): 159-164.
- Feldberg RS., Chang SC., Kotik AN., Nadler M., Neuwirth Z., Sundstrom DC. and Thompson NH. 1988. In vitro mechanism of inhibition of bacterial cell growth by allicin. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 32: 1763-1768.
- Ferreira ICFR., Aires E., Barreira JCM. and Estevinho LM. 2009. Antioxidant activity of Portuguese honey samples: Different contributions of the entire honey and phenolic extract. *Food Chemistry*. 114: 1438–1443.
- Festy D. 2003. Antioxydants, guide pratique. Leduc S. éditions. Paris.
- Fish RE., Brown MJ., Danneman PJ. and Karas AZ. 2008. Anesthesia and analgesia in laboratory animals, 2nd Edition. American College of Laboratory Animal Medicine. San Diego: Academic Press.

- Fleurentin J. 2012. L'ethnopharmacologie au service de la thérapeutique : sources et méthodes. *Hegel*. 2(2): 12-18.
- Franco D., Sineiro J., Rubilar M., Sánchez M., Jerez M., Pinelo M., Costoya N. and Núñez MJ. 2008. Polyphenols from plant materials: extraction and antioxidant power. *Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry*. 7(8): 3210-3216.
- Fredotovic Ž., Šprung M, Soldo B., Ljubenkovic I., Budić-Leto I., Bilušić T., Cikeš- Culic V. and Puizina J. 2017. Chemical composition and biological activity of *Allium cepa* L. and *Allium × cornutum* (Clementi ex Visiani 1842) methanolic extracts. *Molecules*, 22(3): 448. Doi: 10.3390/molecules22030448.
- Galcone C., Levi F., Negri E., Franceschi S., Talamini R., Bosetti C., Giacosa A. and La Vecchia C. 2006. Dietary acrylamide and human cancer. *International Journal of Cancer*. 118: 467- 471.
- Gambillara E., Spertini F. et Leimgruber A. 2010. Réactions cutanées allergiques et toxiques aux plantes. *Revue Médicale Suisse*. 6 : 824-829.
- Geslin J. 2008. Bilan descriptif pour l'identification de *Cirsium dissectum*, *C. filipendulum* et *C. tuberosum*. Conservatoire botanique national de Brest.
- Ghasemi Pirbalouti A., Azizi S., Koohpayeh A. and Golparvar A. 2011. Evaluation of the burn healing properties of *Arnebia Euchroma* Rolye (Johnst) in diabetic rats. *International Conference on Bioscience, Biochemistry and Bioinformatics*. IPCBEE vol.5. IACSIT Press, Singapore.
- Ghosh S. and Playford RJ. 2003. Bioactive natural compounds for the treatment of gastrointestinal disorders. *Clinical Science*. 104: 547–556
- Gueda Ba SH. 2005. Etude de la phytochimie et des activités biologiques de *Ziziphus mauritiana* Lam. (Rhamnaceae) utilisée dans le traitement traditionnel du diabète et de l'hypertension artérielle en Mauritanie. Thèse de Doctorat. Université de Bamako, Mali.
- Guo S. and Dipietro LA. 2010. Factors affecting wound healing. *Journal of Dental Research*. 89(3): 219–229.
- Gyawali R. and Ibrahim SA. 2014. Natural products as antimicrobial agents. *Food Control*. 46: 412–429.
- Habbachi W., benhissen S1., Ouakid ML. et Farine JP. 2013. Effets biologiques d'extraits aqueux de *Peganum harmala* (L.) (Zygophyllaceae) sur la mortalité et le développement larvaire de *Drosophila melanogaster* (Diptera-Drosophilidae). *Algerian Journal of Arid Environment*. 3(1): 82-88.

- Haleng J., Pincemail J., Defraigne JO., Charlier C. et Chapelle JP. 2007. Le stress oxydant. *Revue Médicale De Liège*. 62(10): 628-638.
- Hamdini S. 2009. La culture d'oignon. Mémoire d'Ingénieur d'Etat. Université Sidi Med Ben Abdellah, Fès, Maroc
- Hamza N. 2011. Effets préventif et curatif de trois plantes médicinales utilisées dans la Wilaya de Constantine pour le traitement du diabète de type 2 expérimental induit par le régime « high fat » chez la souris C57BL/6J. Thèse de Doctorat. Université Mentouri de Constantine, Algérie.
- Hanson JR. 2003. Natural products: the secondary metabolite. Cambridge: Royal Society of Chemistry. ISBN 0-85404-490-6.
- Hart T. et Shears P. 1997. Atlas de poche de microbiologie. Flammarion. Médecine- Science. Paris, France.
- Havsteen BH. 2002. The biochemistry and medical significance of the flavonoids. *Pharmacology and Therapeutics*. 96: 67–202.
- Hé D. 2006. Bilan des connaissances actuelles sur la cicatrisation des plaies cutanées chez le chien et le chat. Thèse de Docteur Vétérinaire. Université Paul-Sabatier de Toulouse, France.
- Hellner M., Winter D., von Georgi R. and Munstedt K. 2008. Apitherapy: Usage and experience in German beekeepers. *Apitherapy and Beekeepers*. 5(4): 475–479.
- Hovanet MV., Oprea E., Ancuceanu RV., Duțu LE., Budura EA., Șeremet O., Ancu I. and Moroșan E. 2016. Wound Healing Properties of *Ziziphus jujuba* Mill. leaves. *Romanian Biotechnological Letters*. 21(5): 11842- 11849.
- Hseini S. et Kahouadji A. 2007. Étude ethnobotanique de la flore médicinale dans la région de Rabat (Maroc occidental). LAZAROA 28: 79-93. 2007 ISSN: 0210-9778
- Huguette M. 2008. La route des épices naturelles : Mélanges d'épices, aromates, et condiments naturels. Ed Sang de la terre- Paris.
- IHC (International Honey Commission). 2009. Harmonised methods of the International honey commission. <http://www.bee-hexagon.net/en/network.htm>
- Irish J., Carter Dee A., Shokohi T. and Blair SF. 2006. Honey has an antifungal effect against *Candida* species. *Medical Mycology*. 44: 289-291.
- Irkin R. and Koruluoglu M. 2007. Control of *Aspergillus niger* with garlic, onion and leek extracts. *African journal of Biotechnology*. 6(4): 780-785.

- Jain DP., Pancholi SS. and Patel R. 2011. Synergistic antioxidant activity of green tea with some herbs. *Journal of Advanced Pharmaceutical Technology and Research*. 2: 177–183. Doi: 10.4103/2231-4040.85538.
- Jaiswal S., Singh SV., Singh B. and Singh HN. 2004. Plants used for tissue healing of animals. *Natural Product Radiance*. 3(4): 284-292.
- Javadian F., Bagheri G., Sepehri Z., Anbari M., Shahi Z., Baigi GS. and Gholipour N. 2014. Activity of *Peganum harmala* extract against antibiotic resistant *Staphylococcus aureus*. *Bulletin of Environment, Pharmacology and Life Sciences*. 3(Special Issue V): 14-16.
- Joe MM., Jayaraman J. and Vijayapriya M. 2009. Antimicrobial activity of some common spices against certain human pathogens. *Journal of Medicinal Plants Research*. 3: 1134-1136.
- Jongejans E. 2004. Life history strategies and biomass allocation: the population dynamics of perennial plants in a regional perspective. PhD Thesis. Wageningen University, Netherlands.
- Jongejans E., Soons MB. and de Kroon H. 2006. Bottlenecks and spatiotemporal variation in the sexual reproduction pathway of perennial meadow plants. *Basic and Applied Ecology*. 7: 71–81.
- Jull AB., Cullum N., Dumville JC., Westby MJ., Deshpande S. and Walker N. 2015. Honey as a topical treatment for wounds. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. (3):Cd005083. doi:10.1002/14651858.CD005083.pub4
- Kasilo Ossy MJ. and Trapsida JM. 2010. Regulation of traditional medicine in the WHO african region. *The African Health Monitor*. 13: 25–31.
- Kliebenstein, D. 2004. Secondary metabolites and plant/environment interactions: A view through *Arabidopsis thaliana* tinted glasses. *Plant, Cell and Environment*. 27: 675-684.
- Kulac M., Aktas C., Tulubas F., Uygur R., Kanter M., Erboğa M., Ceber M., Topcu B. and Ozen OA. 2013. The effects of topical treatment with Curcumin on burn wound healing in rats. *Journal of Molecular Histology*. 44:83–90. DOI 10.1007/s10735-012-9452-9
- Kumar S., Kumar D., Singh N. and Vasisht BD. 2007. In vitro free radicals scavenging and antioxidant activity of *Moringa oleifera* pods. *Journal of Herbal Medicine and Toxicology*. 1(2): 17-22.

- Ladam A. 2002. L'oignon protège-t-il le rat contre la cancérogenèse du colon ? Effet sur les foyers des cryptes aberrantes. Thèse de Doctorat. Université Paul –Sabatier de Toulouse, France.
- Lahlou M., El Mahi M. and Hamamouchi J. 2002. Evaluation of antifungal and mollusicidal activities of Moroccan *Zizyphus lotus* (L.) Desf. *Annales Pharmaceutiques Françaises*. 60(6): 410 – 414.
- Lanzotti V. 2006. The analysis of onion and garlic. *Journal of Chromatography*. 1112 (1-2): 3-22.
- Laplanche A. 2002. Mécanismes de réépithélialisation des plaies cutanées : expression des protéines de stress chez la souris et analyse à l'aide d'un nouveau modèle tridimensionnel humain développé par génie tissulaire. Thèse de Doctorat. Université Laval, Canada.
- Larousse, 2001. Encyclopédie des plantes médicinales: Identification, préparations, soins. Larousse, France.
- Larpent JP. et Larpent-Gourgaud M. 1985. Elément de microbiologie. Edition Hermann, Paris, France.
- Lee YH., Chang JJ., Chien CT., Yang MC. and Chien HF. 2012. Antioxidant sol-gel improves cutaneous wound healing in streptozotocin-induced diabetic rats. *Experimental Diabetes Research*. doi:10.1155/2012/504693
- Levy SB. and Marshall B. 2004. Antibacterial resistance worldwide: causes, challenges and responses. *Nature Medicine*. 10(12): 122-129.
- Li JW., Ding SD. and Ding X. 2005. Comparison of antioxidant capacities of extracts from five cultivars of Chinese jujube. *Process Biochemistry*. 40: 3607-3613.
- Lieutaghi P. 1983. L'ethnobotanique au péril du gazon. *Les savoirs naturalistes populaires*. 4-10.
- Logeeswari K. and Sripathi SK. 2012. Wound healing medicinal plants: A Review. *International Journal of Chemical, Environmental and Pharmaceutical Research*. 3(3): 199-218.
- Louveaux J., Maurizio A. et Vorwohl G. 1970. Commission Internationale de Botanique apicole de l'U.I.S.B. : les méthodes de la méélisso-palynologie. *Apidologie*. 1(2): 211-227.
- Luczaj L., Adamczak A. and Duda M. 2014. Tannin content in acorns (*Quercus* spp.) from Poland. *Dendrobiologie*. 72: 103-111.
- Madigan M. et Martinko J. 2007. Biologie des micro-organismes. Pearson.

- Mak S. and Newton GE. 2001. The oxidative stress hypothesis of congestive heart failure. *Chest Journal*. 120: 2035-1046.
- Marieb EN. 2008. Biologie humaine. Principes d'anatomie et de physiologie. 8^{ème} édition. Nouveaux Horizons.
- Marinho PC., Neto-Ferreira R. and de Carvalho JJ. 2013. Evaluation of therapeutic intervention with a natural product in cutaneous wound healing: The use of Cagybara oil. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. <http://dx.doi.org/10.1155/2013/217198>
- Martin A. 1996. The use of antioxidants in healing. *Dermatologic surgery*. 22: 156-160.
- Masoud E., Alqurashi A. and Alamin M. 2015. Synergistic effects of honeys and commonly used antibiotics on Gram positive bacteria. *Wulfenia*. 22: 421–430.
- Mau JL., Huang PN., Huang SJ. and C-C Chen. (2004) Antioxydant properties of methanolic extracts from two kinds of *Antrodia camphorata* mycelia. *Food Chemistry*. 86(1): 25-31.
- McNulty C., Rodgers GL. and Mortensen JE. 2004. An overview of the topical antimicrobial agents used in the treatment of burn wounds. *Continuing Education Topics and Issues*. 273: 74-78.
- Meena K., Mohan AV., Sharath B., Somayaji SN. and Bairy KL. 2011. Effect of topical phenytoin on burn wound healing in rats. *Indian Journal of Experimental Biology*. 49: 56-59.
- Merah M., Bensaci Bachagha M. et Boudershem A. 2010. Etude de l'effet antimicrobien de trois échantillons du miel naturel récoltés du territoire Algérien. *Annales des Sciences et Technologie*. Université Kasdi Merbah, Ouargla. 2(2).
- Mesáros N., Nordmann P., Plesiat P., Roussel-Delvallez M., Van Eldere J., Glupczynski Y., Van Laethem Y., Jacobs F., Malfroot A., Tulkens PM. and Van Bambeke F. 2007. *Pseudomonas aeruginosa*: resistance and therapeutic options at the turn of the new millennium. *Clinical Microbiology and Infection*. In press.
- Mesfin K., Tekle G. and Tesfay T. 2013. Ethnobotanical study of traditional medicinal plants used by indigenous people of Gemad District, Northern Ethiopia. *Journal of Medicinal Plants Studies*. 1(4): 32-37. 2013.
- Metzler DE. 2003. Biochemistry the chemical reactions of living cells. Elsevier Academic Press. Volumes 1 and 2 second Edition.

- Mikaili P., Maadirad S., Moloudizargari M., Aghajanshakeri S. and Sarahroodi S. 2013. Therapeutic uses and pharmacological properties of garlic, shallot, and their biologically active compounds. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*. 16: 1031–1048.
- Mogoşanu GD., Popescu FC., Busuioc CJ., Pârvănescu H. and Lascăr I. 2012. Natural products locally modulators of the cellular response: therapeutic perspectives in skin burns. *Romanian Journal of Morphology and Embryology*. 53(2): 249-62.
- Mohammed G., Yesufu H., Abdulrahman F., Muazu J., Yakubu SI., Sadiq G. and Wazis C. 2012. Antimicrobial and toxicological screening of the aqueous stem bark extract of *Ziziphus spina Christi* (Linnaeus Desf). *Journal of Microbiological and Biotechnological Research*. 2(2): 337-342.
- Mohsenipour Z. and Hassanshahian M. 2016. Antibacterial activity of *Espanol* (*Peganum harmala*) alcoholic extracts against six pathogenic bacteria in planktonic and biofilm forms. *Biological Journal of Microorganism*. 4(16): 109-120.
- Molan PC. 1992. The antibacterial activity of honey: 1. The nature of the antibacterial activity. *Bee World*. 73: 5-28.
- Molas C. 2009. Intoxication des carnivores domestiques dues aux denrées alimentaires. Thèse de Docteur Vétérinaires. Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, France.
- Moloudizargari M., Mikaili P., Aghajanshakeri S., Asghari MH. and Shayegh J. 2013. Pharmacological and therapeutic effects of *Peganum harmala* and its main alkaloids. *Pharmacognosy Reviews*. 7(14): 199–212.
- Muller P., Dagmar GA., Turnbull L., Schlothauer RC., Carter DA., Whitchurch CE. and Harry EJ. 2013. Synergism between medihoney and rifampicin against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *PLOS ONE*. 8: e57679.
- Münstedt K. and Bogdanov S. 2009. Bee products and their potential use in modern medicine. *Journal of ApiProduct and ApiMedical Science*. 1(3): 57-63.
- Naili MB., Alghazeer RO., Saleh NA. and Al-Najjar AY. 2010. Evaluation of antibacterial and antioxidant activities of *Artemisia campestris* (Astraceae) and *Ziziphus lotus* (Rhamnaceae). *Arabian Journal of Chemistry*. 3: 79 – 84.
- Nair S. 2014. Identification des plantes mellifères et analyses physico-chimiques des miels Algériens. Thèse de Doctorat. Université d'Oran, Algérie.
- Naz S., Sultana B., Shahid M. and Khalil-ur-Rehman. 2013. Alteration in antioxidant and antimicrobial attributes of leaves of *Zizyphus* species in response to maturation. *Journal of Medicinal Plants Research*. 7(2): 61-70.

- Nazari Formagio AS., Ferreira Volobuff CR., Santiago M., Lima Cardoso CA., Do Carmo Vieira M. and Valdevina Pereira Z. 2014. Evaluation of antioxidant activity, total flavonoids, tannins and phenolic compounds in Psychotria leaf extracts. *Antioxidants*. 3: 745-757.
- Nedjraoui D. 2013. The ethics of common biodiversity: the Algerian case. *International Social Science Journal*. 64: 159–164. doi:10.1111/issj.12045
- Neu HC. and Gootz TD. 1996. Antimicrobial Chemotherapy. Chapitre dans : Baron S. Medical Microbiology, 4th edition. The University of Texas Medical Branch at Galveston. Galveston, Texas, USA.
- NHB (The National Honey Board). Honey–Health and Therapeutic Qualities. *Compendium Honey*. 1-28.
- Nicolay J. 2014. Perspectives d’avenir en Apithérapie à l’officine. Thèse de Doctorat. Université d’Angers, France.
- Noori S. 2012. An overview of oxidative stress and antioxidant defensive system. 1(8): 413. Doi:10.4172/scientificreports.413.
- Ochoa Sosa S. 2010. The effect of honey on treatment for chronic wounds compared to standard therapy: A Systematic Review. School of Physician Assistant Studies. <http://commons.pacificu.edu/pa/200>.
- Orsted HL., Keast D., Forest-Lalande L. and Mégie MF. Basic principles of wound healing. *Wound Care Canada*. 9(2): 4-12.
- Osbourn A., Goss RJ. and Carter GT. 2014. Natural products: Discourse, diversity and design. DOI: 10.1002/9781118794623
- Osman AH., Kamel MM., Wahdan MH. and Al- gazaly M. 2013. Assessment to the effects of low power diode laser on wound healing in diabetic rats. *Life Science Journal*. 10(2): 1313-1321.
- Pereira RF. and Bartolo PJ. 2016. Traditional therapies for skin wound healing. *Advances in Wound Care*. 5(5): 208-229.
- Plata K., Rosato AE. and Wegrzyn G. 2009. *Staphylococcus aureus* as an infectious agent: overview of biochemistry and molecular genetics of its pathogenicity. *Acta Biochimica Polonica*. 56: 597–612.
- Poirot R. 2007. Méthodologie pour le passage en continu d’extraction de soluté à partir de matière végétale. Thèse de Doctorat. L’institut national polytechnique de Toulouse, France.

- Popovici C., Saykova I., Tylkowski B. 2009. Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. *Revue de Génie Industriel*. 4: 25-39.
- Probst ID., Sforcin JM., Rall VL., Fernandes AH. and Fernandes JA. 2011. Antimicrobial activity of propolis and essential oils and synergism between these natural products. *Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases*. 17: 159-167.
- Qidwai W. and Ashfaq T. 2013. Role of garlic usage in cardiovascular disease prevention: An evidence-based approach. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. <http://dx.doi.org/10.1155/2013/125649>
- Raffoul W. et Berger MM. 2006. Les brûlures: de l'ébouillamment à l'électrisation – définitions et traitement. *Forum Médical Suisse*. 6: 243–250.
- Rakotondraparany ML. 2011. Caractérisation alimentaire des miels Malgaches en vue d'une authentification : cas du miel de Litchi. Mémoire pour l'obtention du Diplôme d'Etudes Approfondies. Université d'Antananarivo, Madagascar.
- Rasoanaivo P, Wright CW., Willcox ML. and Gilbert B. 2011. Whole plant extracts versus single compounds for the treatment of Malaria: synergy and positive interactions. *Malaria Journal*. 10(Suppl 1): S4.
- Ross J. 1999. The autecology of the meadow thistle (*Cirsium dissectum* L. Hill) on Devon Rhos Pastures, with particular reference to the effect of major environmental variables on the population dynamics. PhD Thesis. University of Plymouth, Plymouth, UK.
- Rossant A. 2011. Le miel, un composé complexe aux propriétés surprenantes. Thèse de Doctorat. Université de Limoges, France.
- Rsaissi N., EL Kamili, Bencharki B., Hillali L. and Bouhache M. 2013. Antimicrobial activity of fruits extracts of the wild jujube « *Ziziphus lotus* (L.) Desf ». *Journal International of Scientific and Engineering Research*. 4(9): 1521-1528.
- Sahi L. 2016. La dynamique des plantes aromatiques et médicinales en Algérie (Troisième partie). In: Ilbert H., Hoxha V., Sahi L., Courivaud A. et Chailan C. Le marché des plantes aromatiques et médicinales : analyse des tendances du marché mondial et des stratégies économiques en Albanie et en Algérie. Montpellier. CIHEAM. France.
- Samuelson G. 1999. Drugs of natural origin: A textbook of pharmacognosy. Taylor & Francis Ltd. ISBN 9789186274818.
- Scalbert A. 1991. Antimicrobial properties of tannins. *Phytochemistry*. 30(12): 3875-3883.
- Schäfer M. and Werner S. 2008. Cancer as an overhealing wound: an old hypothesis revisited. *Nature Reviews. Molecular Cell Biology*. 9(8): 628-638.

- Schweizer P. 2005. Un miel étrange. La revue l'abeille de France. Laboratoire d'analyses et d'écologie apicole CETAM.
- Sévenet T. 1994. Plantes, molécules et médicaments. Editions Nathan – CNRS.
- SFETB. Société Française d'Etude et de Traitement des Brûlures. 2006. Fiche de recommandation et détermination de la profondeur d'une brûlure.
- Sheeba M., Emmanuel S., Revathi K. and Ignacimuthu S. 2009. Wound healing activity of *Cassia occidentalis* L. in albino Wistar rats. *International Journal of Integrative Biology*. 8(1): 1-6.
- Sher A. 2009. Antimicrobial activity of natural products from medicinal plants. *Gomal Journal of Medical Sciences*. 7(1): 72-78.
- Shohaib HM., Nawaz S. and Matin A. 2016. Methanolic extract of *Peganum harmala* exhibit potent activity against *Acanthamoeba castellanii* cysts and its encystment in vitro. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*. 29(6): 1993-1996.
- Shrestha H. 2004. A plant monograph on onion (*Allium cepa* L.). The School of Pharmaceutical and Biomedical Sciences. Pokhara University, Simalchaur, Pokhara, Nepal.
- Sidik K., Mahmood AA. And Salmah I. 2006. Acceleration of wound healing by aqueous extract of *Allium sativum* in combination with honey on cutaneous wound healing in rats. *International Journal of Molecular Medicine and Advance Sciences*. 2(2): 231-235.
- Simeonov E., Tsibranska I. and Minchev A. 1999. Solid-liquid extraction from plants experimental kinetics and modelling. *Chemical Engineering Journal*. 73: 255-259.
- Sivam GP. 2001. Protection against *Helicobacter pylori* and other bacterial infections by garlic. *Journal of Nutrition*. 131: 1106S-1108S.
- Soetan KO., Oyekunle MA., Aiyelaagbe OO., and Fafunso MA. 2006. Evaluation of the antimicrobial activity of saponins extract of *Sorghum Bicolor* L. Moench. *African Journal of Biotechnology*. 5(23): 2405-2407.
- Somboonwong J., Kankaisre M., Tantisira B. and Tantisira MH. 2012. Wound healing activities of different extracts of *Centella asiatica* in incision and burn wound models: an experimental animal study. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 12(103): 1-7.
- Song XY., Yao YF. and Yang WD. 2012. Pollen analysis of natural honeys from the central region of Shanxi, North China. *PLOS ONE*. 7(11): e49545. Doi:10.1371/journal.pone.0049545

- Stavělková H. 2008. Morphological characteristics of garlic (*Allium sativum* L.) genetic resources collection Information. *Horticultural Science* (Prague). 35(3): 130–135.
- Sterling JP., Heimbach DM. and Gibran NS. 2010. Management of the burn wound. Management of the burn wound. In: ACS surgery: principles and practice. Decker Intellectual Properties. DOI. 10.2310/7800.S07C15.
- Tahrouch S., Rapior S., Mondolot-Cosson L., Idrissi-Hassani LA., Bessière JM. et Andary C. 2002. *Peganum harmala*: source combinée d'arômes et colorants. *Reviews in Biology and Biotechnology by the Moroccan Society of Biology in Canada*. 2(2): 33-37.
- Tardivon JC. et Si-Mohamed C. 2012. Un exemple de développement humain au Maroc la coopérative féminine de Ben Karrich, Tétouan. Exposition photographique. Maroc.
- Teuscher E., Anton R. et Lobstein A. Plantes aromatiques. Epices, aromates, condiments et leurs huiles essentielles. Edition Tec & Doc. Lavoisier.
- Thakur R., Jain N., Pathak R. and Sandhu SS. 2011. Practices in wound healing studies of plants. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. doi:10.1155/2011/438056
- Tiwari VK. 2012. Burn wound: how it differs from other wounds. *Indian Journal of Plastic Surgery*. 45(2): 364-373.
- Tortora GG. et Derrickson BH. Manuel d'anatomie et de physiologie humaines. 2^{ème} édition. Deboeck supérieur.
- Tran HV. 2008. Caractérisation des propriétés mécaniques de la peau humaine in vivo via l'IRM. Thèse de Doctorat. Université de Technologie de Compiègne, France.
- Tremblay YDN., Hathroubi S. et Jacques M. 2014. Les biofilms bactériens: leur importance en santé animale et en santé publique. *Canadian Journal of Veterinary Research*. 78(2): 110-116.
- Udegbunam SO., Udegbunam RI., Muogbo CC., Anyanwu MU. and Nwaehujor CO. 2014. Wound healing and antibacterial properties of methanolic extract of *Pupalia lappacea* Juss in rats. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 14(157): 1-8.
- Ulrich-Merzenich G., Panek D., Zeitler H., Vetter H. and Wagner H. 2010. Drug development from natural products: Exploiting synergistic effects. *Indian Journal of Experimental Biology*. 48: 208-219.
- Valadeau C. 2010. De l'ethnobotanique à l'articulation du soin : une approche anthropologique du système nosologique chez les yanesha de Haute Amazonie péruvienne. Thèse de Doctorat. Université Toulouse III - Paul Sabatie. France.

- Van Bambeke F. et Tulkens P. 2008. Pharmacologie et pharmacothérapie anti-infectieuse: antibiotiques, antifongiques. Unité de pharmacologie cellulaire et moléculaire. Université Catholique de Louvain, Belgique.
- Vandal J., Leduc LG., Ferroni G. et Abou-Zaid M. 2015. Activité antimicrobienne de produits naturels originaires du Nord de l'Ontario. Actes de la 21ème Journée Sciences et Savoirs.
- Vanwijck R. 2003. Du pansement à la chirurgie. Guide (broché).
- Viguié C. 2017. Les études scientifiques favorisent les souris males, et c'est un vrai problème pour les femmes. <http://mashable.france24.com/monde/20170628-souris-male-femelle-sexe-medicament>
- Wagner H. and Ulrich-Merzenich G. 2009. Synergy research: Approaching a new generation of phytopharmaceuticals. *Journal of Natural Remedies*. 9: 121-141.
- Wasihun AG., Kasa BG. 2016. Evaluation of antibacterial activity of honey against multidrug resistant bacteria in Ayder referral and teaching hospital, northern Ethiopia. *Springerplus*. 5(1): 842. Doi: 10.1186/s40064-016-2493-x.
- Wiles MR., Williams J. and Ahmad KA. 2010. Basic biology of the skin. Chapter in: Essentials of Dermatology for Chiropractors. Dean College of Chiropractic Northwestern Health Sciences University. Jones and Bartlett Publishers.
- Wood MW. and Hart LA. 2007. Selecting appropriate animal models and strains: Making the best use of research, information and outreach. AATEX 14, Special Issue, 303-306. Proceedings of the 6th World Congress on Alternatives & Animal Use in the Life Sciences, Tokyo, Japan.
- Yakhlef G. 2010. Etude de l'activité biologique des extraits de feuilles de *Thymus vulgaris* L. et *Laurus nobilis* L. Mémoire de Magistère. Université El Hadj Lakhdar, Batna, Algérie.
- Yastı AC, Şenel E, Saydam M, Özok G, Çoruh A and Yorgancı K. 2015. Guideline and treatment algorithm for burn injuries. *Ulusal travma ve acil cerrahi dergisi*. 21(2): 79 – 89.
- Yin MC. and Tsao SM. 1999. Inhibitory effect of seven Allium plants upon three Aspergillus species. *International Journal of Food Microbiology*. 49: 49-56.
- Zhang L., Xu SG., Liang W., Mei J., Di YY., Lan HH., Yang Y., Wang WW., Luo YY. and Wang HZ. 2015. Antibacterial activity and mode of action of *Mentha arvensis* ethanol extract against multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*. 14: 2099-2106.
- Zitouni G., Hamaidi L. et El Khedim. 2014. Comment identifier l'origine botanique d'un miel ? Institut Technique des élevages.

Annexes

Annexes

Annexe 1

Tableau A1. Table de CHATAWAY (IHC 2009).

Water Content, g/100 g	Refractive Index 20°C	Water Content g/100 g	Refractive Index 20°C
13.0	1.5044	19.0	1.4890
13.2	1.5038	19.2	1.4885
13.4	1.5033	19.4	1.4880
13.6	1.5028	19.6	1.4875
13.8	1.5023	19.8	1.4870
14.0	1.5018	20.0	1.4865
14.2	1.5012	20.2	1.4860
14.4	1.5007	20.4	1.4855
14.6	1.5002	20.6	1.4850
14.8	1.4997	20.8	1.4845
15.0	1.4992	21.0	1.4840
15.2	1.4987	21.2	1.4835
15.4	1.4982	21.4	1.4830
15.6	1.4976	21.6	1.4825
15.8	1.4971	21.8	1.4820
16.0	1.4966	22.0	1.4815
16.2	1.4961	22.2	1.4810
16.4	1.4956	22.4	1.4805
16.6	1.4951	22.6	1.4800
16.8	1.4946	22.8	1.4795
17.0	1.4940	23.0	1.4790
17.2	1.4935	23.2	1.4785
17.4	1.4930	23.4	1.4780
17.6	1.4925	23.6	1.4775
17.8	1.4920	23.8	1.4770
18.0	1.4915	24.0	1.4765
18.2	1.4910	24.2	1.4760
18.4	1.4905	24.4	1.4755
18.6	1.4900	24.6	1.4750
18.8	1.4895	24.8	1.4745
		25.0	1.4740

Annexe 2

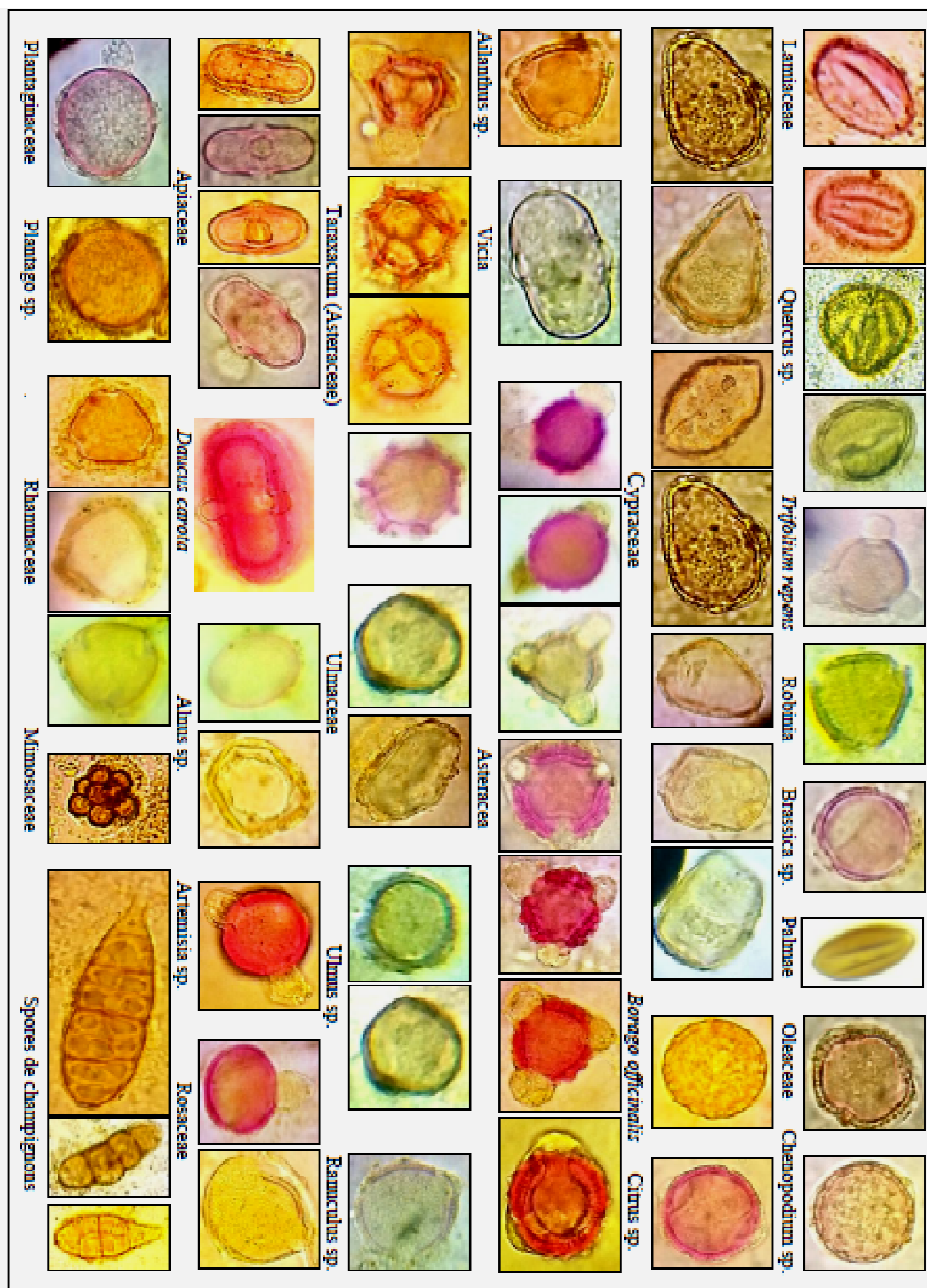


Figure A1. Pollens et spores de champignons identifiés dans le miel.