

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou
Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques
Département de Biochimie et Microbiologie



Mémoire

De fin d'études en vue de l'obtention du Diplôme de Master
Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie
Filière : Biotechnologies
Spécialité : Biotechnologie Microbienne

THEME

**Étude comparative de l'effet antimicrobien et cicatrisant des
miels additionnés d'huiles essentielles**

Soutenu publiquement, le 19/ 09 /23

Présenté par :

M^{elle} : BENTALEB Lilia

M^{elle} : BOUZIDI Thilelli

Devant le jury composé de :

Présidente : BOUACEM Khelifa

MCA

UMMTO

Examinatrice : ASMANI Katia Louiza

MCA

UMMTO

Promoteur : SEMRI Mohamed Lounes

DR. Pharmacie

IPA

Co-Promoteur: AFIF CHAOUCHE Thanina

MCA

UMMTO

2022-2023

Remerciements

« Louange à Allah qui nous a guidé à ceci. Nous n'aurions pas été guidés, si Allah ne nous
Avait pas guidés.» [Sourate Al Araf verset 43]

D'abord, nous remercions avant tout Allah, le tout puissant de nous avoir guidés tous les
Années d'études et qui nous à donner la force, la volonté, la patience et le courage pour
Continuer et terminer ce modeste travaille.

Les travaux réalisés dans ce mémoire ont été effectués au sein du laboratoire des milieux de
culture de l'Institut Pasteur, annexe El HAMMA, Alger, de l'Institut Pasteur d'Algérie (IPA).

En premier lieu, nous remercions d'abord le dieu « Allah » le tout puissant de nous avoir donné la
santé, le courage, la volonté et la patience de terminer nos études et de réaliser ce modeste travail.

En second lieu, Nous tenons à exprimer notre reconnaissance à notre promoteur **Mr. SEMRI
Mohamed Lounes** et notre Co-promotrice **Mme. AFIF CHAUCHE Thanina**. Nous les
remercions de nous avoir encadré, orienté, conseillé et pour les efforts considérables qu'ils ont
déployés pour la réalisation de ce travail.

Nous les remercions de tous cœur pour leur disponibilité et leur patience qu'elles ont bien voulu
nous témoigner.

Nous remercions les membres du jury : **Mr BOUACEM Khelifa et Mme ASMANI Louiza**
De vouloir présider notre modeste travail et de bien vouloir étudier et examiner avec attention
notre travail.

Nous adressons nos sincères remerciements à tous nos professeurs de la faculté de biologie qui
nous ont encadrés durant nos années d'études et qui ont su enrichir nos connaissances
scientifiques, avec leur enseignement de qualité et leurs conseils et qui ont contribué à
l'accomplissement de notre itinéraire académique.

Tous nos remerciements venant de tout cœur à toutes les personnes qui nous ont donné de l'aide et
conseils durant la réalisation de ce travail

Dédicace

Je dédie ce travail, à ma famille qui m'a transmis une éducation digne avec de fortes valeurs, qui ont fait de moi ce que je suis aujourd'hui.

*Particulièrement à mes deux grands-pères feu **Mohand Saïd** et feu **Makhlouf**, pour le goût à l'effort, qu'ils ont suscité en moi, de par leur rigueur et leur courage dans la vie.*

*A vous deux, mes chères parents **Rachid et Sabrina**, ceci est ma profonde gratitude pour votre éternel amour, que ce rapport soit l'un des meilleurs cadeaux que je puisse vous offrir, qui j'espère vous rendra fiers.*

*A vous mes frères **Samir et Mohand** et ma sœur **Meriem**, qui m'avez toujours soutenu et encouragé durant ces années de dur labeur.*

Enfin, je tiens à témoigner toute ma reconnaissance et gratitude, pour leur soutien inestimable durant cette phase de ma vie, aux personnes suivantes : Nassim, Katia, Amira, Amina, Asma, Melissa, Tinhinane, Lydia, Maya, Mohamed et Saïd, Laetitia, Thilelli, Dassine

Avec une mention très spéciale pour mes acolytes de toujours, sans qui rien n'aurait été pareil, j'ai nommé : Katia et Milou.

Lilia

Dédicace

Je remercie tout d'abord « ALLAH » le tout puissant de m'avoir donné, la patience et la volonté pour réaliser ce modeste travail.

Du profond du mon cœur, je dédie ce travail à :

Mon cher père "YOUCEF ", dont je porte le nom avec fierté, couronne et honneur, qui grâce à lui j'ai trouvé mon chemin.

Ma chère maman" ZAHIA " qui m'a encouragée, et qui m'a entourée d'amour, que Dieu la garde et la protège.

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude et mon amour infini envers vous.

J'espère que Dieu vous accorde une longue vie et une excellente santé, et que vous soyez toujours fiers de moi.

Ma douce sœur "KENZA" et Mon aimé frère "AMAZIGH", je tiens à vous remercier pour tous ce que vous avez fait à mon égard, votre amour, vos encouragements, votre disponibilité, votre soutien et surtout votre compréhension.

Je vous remercie d'avoir cru en moi et de m'avoir poussé à aller plus loin.

Mon cher grand père "BELAID" et Ma grande mère "FADHEMA"

Mes oncles, mes tantes, mes cousins et cousines,

Mes chères tantes : "DJAMILA", "ANISSA" et leurs petites familles, "KARIMA" et son mari.

Mon oncle aimé "FARID" et mon âme frère " Youguerthen"

Ma binôme Lilia, Mes chères copines : Laetitia – Zakia – Lisa – Radia, merci d'avoir été toujours là à mes coté.

Pour toutes personnes qui m'a aidé, encouragé, soutenue de pris ou de loin

Thilelli

Table des matières

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction	1
Synthese bibliographique	
Chapitre 1: Miel	
1. Définition	3
2. Classification.....	3
2.1. Selon la source naturelle	3
2.2. Selon l'origine botanique.....	4
3. Composition chimique	4
4. Propriétés organoleptiques.....	6
4.1. Couleur.....	6
4.2. Texture	7
4.3. Goût et arôme.....	7
5. Propriétés biologiques.....	8
Chapitre 2 : Huiles essentielles	
1. Définition	10
2. Composition chimique	10
2.1. Terpènes et terpénoïdes.....	10
2.2. Groupe des composés aromatiques dérivés du phénylpropane	11
3. Propriétés biologiques	12
Chapitre 3 : Peau, brûlure et cicatrisation	
1. Définition de la peau.....	15
2. Composition chimique de la peau	15
3. Anatomie et physiologie de la peau.....	15
4. Rôle de la matrice extracellulaire dans la cicatrisation	17
5. Flore cutanée.....	18
6. Brûlure de la peau.....	19
6.1. Définition de brûlure	19
6.2. Degré de brûlure	19

7.	Infection chez le brûlé	20
7.1.	Infection cutanée.....	21
7.2.	Microorganismes en cause.....	21
8.	Processus de cicatrisation	22
8.1.	Définition de la cicatrisation.....	22
8.2.	Mécanisme de cicatrisation	22
Partie Expérimentale		
Chapitre 1 : Matériel et Méthodes		
1.	Matériel	25
1.1.	Matériel biologique.....	25
1.1.1.	Miels utilisés	25
1.1.2.	Huile essentielle de thym	26
1.1.3.	Matériel animal	26
1.1.4.	Les souches microbiennes.....	27
1.2.	Matériels non biologique	27
2.	Méthodes.....	28
2.1.	Analyses physico-chimiques des miels.....	28
2.1.1.	Détermination de la conductivité électrique	28
2.1.2.	Détermination du potentiel d'hydrogène (pH).....	29
2.1.3.	Détermination de taux de la matière sèche	30
2.1.4.	Acidité libre	31
2.1.5.	Dosage des glucides réducteurs	32
2.2.	Préparation des miels additionnés.....	35
2.4.	Etudes <i>in vitro</i>	41
2.4.1.	Tests d'évaluation de sensibilité en milieu solide.....	41
2.4.1.1.	Tests d'évaluation de sensibilité aux miels et aux miels additionnés.....	41
2.4.1.2.	Tests d'évaluation de sensibilité à l'huile de thym	42
2.4.2.	Évaluation de l'activité antimicrobienne en milieu liquide	43
2.5.	Etude <i>in vivo</i>	44
Chapitre 2 : Résultats et Discussion		
1.	Résultats.....	47
1.1.	Analyses physico-chimique des miels	47

1.2.	Étude <i>in vitro</i>	51
1.2.1.	Tests d'évaluation de sensibilité en milieu solide	51
1.2.1.1.	Test d'évaluation de sensibilité aux miels et aux miels additionnés	51
1.2.1.2.	Tests d'évaluation de sensibilité à l'HE de thym	55
1.2.2.	Test d'évaluation de sensibilité en milieu liquide	57
1.3.	Études <i>in vivo</i>	62
1.3.1.	Évolution des bruleurs	62
2.	Discussion.....	65
	Conclusion et perspectives	66
	Références bibliographiques	68
	ANNEXES	

Liste des abréviations

ATCC American type culture collection

HE Huile essentielle

HEs huiles essentielles

HET Huile essentielle de thym

IPA Institut Pasteur d'Algérie

J jours

MSS Miel semi-synthétique

MT Miel de thym

MTF miel toutes fleurs

pH potentiel hydrique

T témoin

T- Témoin négatif

T+ Témoin positif

Liste des figures

Figure 1: Composition moyenne du miel	6
Figure 2: Diversité des miels	7
Figure 3: Structures chimiques de certains composants d'huile essentielle.....	11
Figure 4: Principales localisations des sites d'action des constituants des huiles essentielles	12
Figure 5: Coupe transversale de l'épiderme.....	16
Figure 6: Anatomie fonctionnel de la peau.....	17
Figure 7: Illustration des phases du processus de la cicatrisation.....	24
Figure 8: A) Induction de la brûlure, B) Aspect de la brûlure immédiatement après induction ...	45
Figure 10: Histogramme représentatif des diamètres des zones d'inhibition des miel et miels additionnés vis-à-vis les souches microbiennes utilisées.....	53
Figure 11: Zones d'inhibition obtenues par l'action des différents miels (A : MT , B : MTF, C : SSM) vis-à-vis de <i>Staphylococcus aureus</i> ; <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ; <i>Escherichia coli</i> ; <i>Candida albicans</i> , par ordre.	54
Figure 12: Zones d'inhibition obtenues par l'action des différents miels additionnés (A : SSM + HET, B : MTF +HET) vis-à-vis de <i>Staphylococcus aureus</i> ; <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ; <i>Escherichia coli</i> ; <i>Candida albicans</i> , par ordre.	54
Figure 13: Zones d'inhibition obtenues par l'action de l'huile essentielle vis-à-vis les souches testés (A: <i>Staphylococcus aureus</i> ; B : <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ; C : <i>Escherichia coli</i> ; D: <i>Candida albicans</i>).....	56
Figure 14: Histogramme représentatif des diamètres des brûlures chez les souris dans les quatre lots expérimentaux.	64

Liste des tableaux

Tableau 1: Caractéristiques des brûlures selon leurs degrés	20
Tableau 2: Milieux et matériels non biologiques utilisé.....	28
Tableau 3: Différents volumes utilisés pour chaque concentration.....	44
Tableau 4: Répartition des lots de souris selon les différents traitements pour l'étude des brûlures	45
Tableau 5: Résultats de l'analyse physico-chimique des différents miels.....	47
Tableau 6: Tests biochimiques	49
Tableau 7: Diamètres des zones d'inhibition	52
Tableau 8: Résultats d'incubation des témoins positifs.....	57
Tableau 9: Résultats d'incubation des suspensions microbiennes avec l'huile essentielle de thym	57
Tableau 10: Incubation de la suspension de la bactérie <i>E. coli</i> dans des milieux contenant différentes concentrations des miels et des miels additionnés à l'huile de Thym	58
Tableau 11: Incubation de la suspension de la bactérie <i>S. aureus</i> dans des milieux contenant différentes concentrations des miels et des miels additionnés à l'huile de Thym	59
Tableau 12: incubation de la suspension de la bactérie <i>P. aeruginosa</i> dans des milieux contenant différentes concentrations des miels et des miels additionnés à l'huile de Thym	60
Tableau 13: incubation de la suspension de la levure <i>C. albicans</i> dans des milieux contenant différentes concentrations des miels et des miels additionnés à l'huile de Thym	61
Tableau 14: Diamètres des brûlures chez les souris dans les quatre lots expérimentaux.....	62
Tableau 15: Evaluation de la cicatrisation par photographie des brûlures	63

Introduction

Le miel, cette substance précieuse offerte par la nature, compte parmi les produits les plus appréciés par l'Homme depuis les temps les plus reculés. D'une part, pour ses qualités gustatives et d'autre part, pour ses nombreuses propriétés inhibitrices et thérapeutiques (antimicrobiennes, cicatrisantes, antiseptiques, antioxydants et thérapeutiques) démontrées à plusieurs reprises par des études scientifiques. C'est un traitement naturel, efficace et facile, il agit contre un large éventail de microorganismes, comme il favorise la croissance des tissus et la cicatrisation des brûlures. Ces propriétés sont dû, principalement, à la présence des composés bactériostatiques, ainsi que sa forte teneur en sucres et son acidité (**Israili, 2014**).

Les huiles essentielles de plantes, sont l'un des métabolites les plus importants, auxquels les chercheurs se sont intéressés. Celles-ci sont des mélanges naturels, complexes et volatils, synthétisés par plusieurs espèces de plantes. En fait, ces huiles sont connues pour plusieurs propriétés biologiques intéressantes (antimicrobiennes, antiseptiques, antiseptiques et cicatrisantes). Ils présentent un effet cicatrisant et contribuent aux différents stades de la cicatrisation (synthèse de collagène, angiogenèse et stimulation de la prolifération fibroblastique), comme ils ont doué d'une forte activité antimicrobienne et une forte capacité à éradiquer les biofilms microbiens. Ces propriétés sont attribuées à la présence de certaines fonctions chimiques tels que l'eugénol, le thymol et le carvacrol (**Labioud et Aouadi, 2016**).

La peau est l'organe qui constitue la barrière physique externe protectrice du corps humain de toute agression extérieure, une rupture de l'intégrité structurelle de cette dernière peut survenir lors de chirurgies, après exposition à des radiations, de coupure, ou de brûlure.

La brûlure se définit comme une destruction du revêtement cutané, dont le degré de gravité varie selon l'étendue, la profondeur. Elle constitue un terrain idéal pour la prolifération bactérienne. Du fait, l'infection cutanée reste la complication la plus fréquente et la cause majeure de la mort des patients brûlés (**Lafourcade, 2015**). La zone du brûleur est rapidement colonisée après 48 heures par les bactéries Gram positives présentes sur la flore de la peau, dont les staphylocoques sont les plus fréquemment rencontrés, puis après 72 heures, la brûlure se voit coloniser par des bactéries Gram négative.

La cicatrisation est un processus de cicatrisation naturel par lequel le corps répare l'intégrité des tissus endommagés. Il se déroule en trois étapes essentielles : l'hémostase, l'inflammation et la réparation.

En dermatologie, les objectifs des remèdes à visée cicatrisante sont multiples, mais sont souvent d'utilisation limitée à cause de leur efficacité variable et leurs éventuels effets indésirables, en raison de phénomène de l'antibio-résistance, ainsi que, leur indisponibilité et leur prix jugé élevé notamment dans les pays en développement (**Abdeldjelil, 2016**).

Pour ces raisons des études récentes s'intéressent aux vertus thérapeutiques et à la combinaison des produits naturels, qui ont été utilisés en médecine traditionnelle et démontrés une activité synergique avec une efficacité accrue, sans effets secondaires dans le traitement de diverses affections. Le miel et les huiles essentielles sont parmi les produits les plus convoités. En raison de leurs propriétés inhibitrices et thérapeutiques.

De ce fait l'objectif de notre travail l'évaluation comparative des effets cicatrisants et antimicrobiens entre différents types de miel (miel de thym, miel toutes fleurs et miel semi synthétique), d'huile essentielle de thym, ainsi que des miels additionnés à l'huile essentielle de thym, pour le traitement des brûlures de 2^{ème} degré appliqué sur des souris.

Notre travail comporte deux parties :

La première partie est consacrée à une synthèse bibliographique qui est composée de trois chapitres, le premier chapitre sur le miel, le deuxième chapitre porte sur les huiles essentielles et le troisième chapitre sur la peau, la brûlure et la cicatrisation.

Dans la deuxième partie une étude expérimentale a été présentée, cette dernière est composée de deux chapitres : le premier est consacré du matériel utilisé dans ce travail et les méthodes expérimentales adoptées. Le deuxième chapitre présente les résultats obtenus.

Enfin, une conclusion avec les différentes perspectives envisageables seront présentées à la fin de ce manuscrit.

Synthèse bibliographique

Chapitre 1: Miel

1. Définition

Parmi les nombreuses définitions du miel qui ont été formulées, nous en retiendrons deux :

La première étant la plus simple est formulée comme suit : « Le miel est la matière sucrée recueillie par l'abeille sur les plantes vivantes et qu'en modifiant l'emmagasine dans ses rayons de cire » (**Donadieu, 1978**).

La seconde, du fait de son actualité correspond à celle du législateur : **Le codex Alimentarius (2019)**, le miel a été défini comme étant la substance naturelle sucrée produite par l'abeille *Apis mellifer*, à partir du nectar des plantes ou à partir d'excrétions d'insectes butineurs laissées sur les parties vivantes de plantes, que les abeilles butinent, transforment en les combinant avec des substances spécifiques qu'elles sécrètent elles-mêmes, déposent, déshydratent, emmagasinent et laissent affiner et mûrir dans les rayons de la ruche.

2. Classification

2.1. Selon la source naturelle

Le miel peut être classifié en deux grandes classes :

➤ Miel de nectar

Il s'agit du miel provenant directement des nectars de plantes. Ce dernier est recueilli dans les fleurs au niveau des petites glandes végétales. Sa production dépend de l'âge, de la taille, de la position et de sexe des fleurs, ainsi que de l'espèce et le milieu environnant (**Sanz et al., 2005**).

Le nectar est une substance douce et parfumée. Il peut contenir jusqu'à 80% d'eau, 7 à 60% sucre, des traces d'acides aminés, d'hormones végétales, de vitamines (**Alphandéry, 1992**).

➤ Miel de miellat

Il s'agit du miel provenant principalement d'excrétions d'insectes butineurs laissées sur les parties vivantes de plantes ou de sécrétions de parties vivantes de plantes est appelé miellat.

D'après **Loiriche, (1984)**, le miellat est un produit plus complexe que le nectar d'aspect visqueux, d'une couleur sombre, souvent d'un goût désagréable et d'un faible parfum, sa saveur est douceâtre. Il est plus riche en azote, en acides organiques, en minéraux et sucres complexes.

2.2. Selon l'origine botanique

Les abeilles peuvent produire divers types de miel suivant la région dans laquelle elles vivent et les fleurs (plantes et arbres) qui y sont présentes.

➤ Miels mono floraux (uni floraux)

Les miels dits « mono floraux » sont élaborés à partir du nectar et/ou du miellat provenant d'une seule espèce végétale (**Bonte et Desmouliere, 2013**).

Il n'existe pas de miel mono floral pur à 100 %. En pratique ; il est impossible de certifier que les abeilles ont bien butiné le nectar de ce seul et unique genre à 100% (**Barbara, 2009**).

➤ Miel poly floral (multi floral)

Les miels poly floraux, dits aussi miels de toutes fleurs ou miels multi floraux, élaborés par les abeilles à partir du nectar et/ou du miellat provenant de plusieurs sources florales. Les propriétés de ces miels sont beaucoup plus variables, par rapport aux espèces d'abeille, la floraison respective et les facteurs climatiques (**Altman, 2010**).

3. Composition chimique

3.1. Sucres

Les glucides forment la plus grande partie du miel (78 à 80 %), ils comptent pour 90-99% de la matière sèche dont leurs natures dépendent des types de plantes butinant par les abeilles. (**Hoyet, 2005**). Les miels sont formés de quatre à plus de dix sucres différents, dont le glucose et le fructose sont les deux principaux sucres simples du miel puisqu'ils forment plus de 85 % de la matière sèche. En proportions moindres, les disaccharides et en dernière position on trouve des traces de polysaccharides (**Isabelle, 2014**).

3.2. Eau

L'eau est le deuxième ingrédient en terme d'importance dans le miel, constitue l'un des critères de pureté et qui détermine la qualité et la durée de conservation du produit. La teneur en humidité varie entre 14% et 25%, l'optimum est de l'ordre de 17-18%. Elle influence sur les propriétés physiques et organoleptique du miel, telles que la couleur, le gout, la cristallisation, la viscosité...etc. (**Delphine , 2004**)

3.3. Composés phénoliques

Les composés phénoliques sont des métabolites secondaires d'origine végétales présents dans le miel. Ils sont responsables d'une importante capacité antioxydante, et servent comme indicateurs de l'origine botanique de miel et renseigne sur sa qualité ; et contribuent aussi à sa coloration. (AL-Mamary *et al.*, 2002; Barcelo, 2013).

3.4. Hydroxyméthylfurfural (HMF)

La dégradation des monosaccharides, en particulier le fructose, en milieu acide et en température élevée donne naissance à l'Hydroxyméthylfurfural (HMF). Ni les nectars, ni les miellats, ni les miels frais ne contiennent cette molécule, sa production est favorisée par la forte teneur en fructose et par l'acidité du milieu, donc elle est considérée comme marqueur d'âge de miel ; plus il vieillit, plus la teneur est importante (Descottes, 2004).

3.5. Protéines, lipides et Enzymes

Le miel contient environ 0,2 % de protéines. L'origine de cette dernière est soit de la plante ou de l'abeille, mais le pollen reste la principale source de se composé. A côté des protéines, on trouve les acides aminés dont la proline est le plus dominant (Da Silva *et al.*, 2016).

Le miel est pauvre en lipides, mais peut être contaminé par des microparticules de cire ayant échappé à la filtration. Il est essentiellement composé des glycérides et des acides gras (Huchet *et al.*, 1996).

Selon White *et Doner* (1980), le miel renferme plusieurs enzymes qui sont d'origine externe. Les plus connues sont : la gluco-invertase, les amylases, la catalase, la phosphatase, des enzymes acidifiantes. La thermolabilité de ces enzymes les rend un indicateur de surchauffage du miel est ainsi un paramètre de contrôle qualité (Hoyet, 2005).

3.6. Substances aromatiques

Le miel est riche en substances aromatiques telles que les alcools, acides, aldéhydes, ...etc. Elles offrent l'odeur sucrée et le goût spécifique d'un miel, mais qui ont par ailleurs des vertus thérapeutiques. (Isabelle, 2014). Elles sont mieux conservées si le miel est stocké au froid dans des conteneurs fermés (Amri, 2006).

3.7. Vitamines

Le miel est relativement pauvre en vitamines si on le compare à d'autres aliments. Les vitamines liposolubles (vitamine A et D) sont totalement absentes, les principales présentes sont celles du groupe B (B1, B2, B3, B5, B6) provenant des grains de pollen (**Isabelle, 2014**).

3.8. Oligoéléments

Les oligoéléments sont présents de 0,4% dans le miel foncé et de 0,02% dans le miel de couleur claire. Il s'agit surtout des sels potassiques qui constituent près de la moitié de la matière minérale, mais on trouve aussi du calcium, du sodium, du magnésium, du cuivre... etc. Le miel peut renfermer de très petites quantités de polluants, tels que le plomb et le cadmium (Fig.1) (**Morse et Lisk, 1980**).

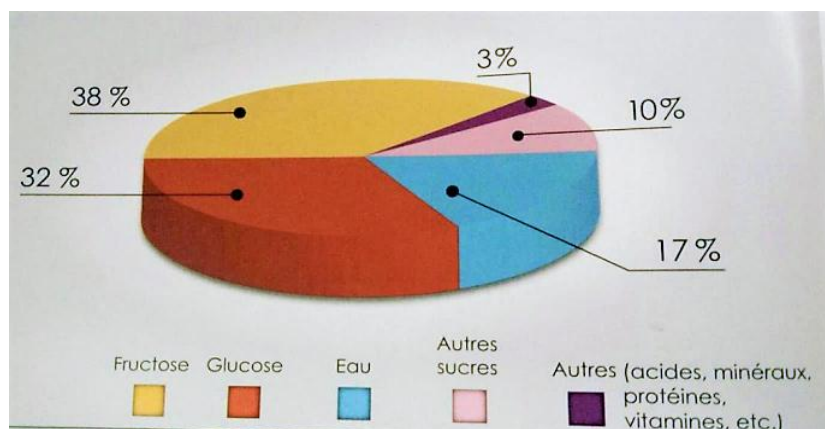


Figure 1: Composition moyenne du miel (**Couplan et al., 2014**)

4. Propriétés organoleptiques

Selon l'origine florale et leur localisation, les miels récoltés sont diversifiés et se distinguent par leur couleur, texture, arôme, odeur et leur goût caractéristique.

4.1. Couleur

Selon **Blanc (2010)**, la couleur est l'un des critères essentiels de classification des miels notamment d'un point de vue commercial. Les caroténoïdes et les flavonoïdes, sont les pigments responsables de cette coloration. Plus le miel est riche en flavonoïdes, plus sa couleur est foncée (**Irina et al., 2010**). Ils peuvent se diviser en sept catégories de couleurs, et cela en fonction de ses

origines florales et géographique. Elle va du jaune très pâle au brun très foncé en passant par toute la gamme des jaunes, oranges, marrons et même parfois des verts. Toutefois, le vieillissement de miel et son exposition soit à des températures élevées ou à la lumière provoque une intensification de la coloration du miel (**Lequet, 2010**) (**fig. 2**).



Figure 2: Diversité des miels (**Cavelier, 2013**)

4.2. Texture

Le miel peut avoir une texture dure ou douce, pâteuse ou liquide, finement ou grossièrement cristallisée. S'il est parfaitement fluide au moment de son extraction, le miel ne reste, cependant, pas dans cet état de façon indéfinie. La texture dépend surtout de la teneur de miel en glucose, mais aussi de sa composition globale en sucre, la teneur en eau et la température (**Koehler, 2015**).

4.3. Goût et arôme

Le miel présente une grande variété de saveurs et d'arômes selon l'origine florale.

➤ Goût

La saveur du miel est largement influencée par les parfums et les arômes, on trouve parfois le goût très fort, parfois plus doux, ou amer et même très sucré. (**Clement et al., 2000**). Les miels ont souvent des goûts multiples et que par cristallisation, certains goûts ou arômes disparaissent alors que d'autres apparaissent (**Lequet, 2010**).

➤ Arôme

Dans les différents miels, les odeurs varient sensiblement selon les variétés, en fonction des essences aromatiques communiquées aux nectars initiaux par les fleurs butinées. A chaque variété de miel correspond une odeur prédominante. Les arômes peuvent être soit végétales, florales ou fruitées, puissantes ou non, fines, lourdes, vulgaires (**Jean-Luv, 2007**).

5. Propriétés biologiques

Le miel est considéré comme un aliment-médicament doté de multiples propriétés biologiques telles que nutritionnelles, antibactériennes, antioxydantes et thérapeutiques...etc.

5.1. Propriétés diététiques et nutritionnelles

- Étant donné sa richesse en fructose et glucose (plus de 3/4 de son poids), des glucides immédiatement assimilables, Le miel procure l'énergie (304 Cal/100 g) à court terme de sa consommation et offre une importante action dynamogénique et stimulante pour les gens fatigués et les sportifs (**Darrigol, 2007**).

- Le miel est particulièrement conseillé dans la diététique du nourrisson et de l'enfant en stimulant leurs croissances par sa capacité à favoriser la fixation des sels minéraux : calcium, magnésium... Qui sont essentiels pendant cette phase (**Darrigol, 2007**).

5.2. Activité antimicrobienne

Il est largement reconnu que le miel possède des propriétés antimicrobiennes, qu'elle soit antibactérienne, antivirale, antifongique ou antiparasitaire.

Des études cliniques ont démontré que l'application de miel sur des plaies cutanées infectées permet de lutter contre l'infection et favorise une guérison plus rapide des tissus. Cette activité est attribuée à plusieurs facteurs présents dans le miel, notamment son acidité, sa forte concentration en sucres qui crée un effet osmotique, ainsi que la présence de composés bactériostatiques et bactéricides tels que le peroxyde d'hydrogène, les polyphénols, les acides phénoliques, les flavonoïdes, les antioxydants, le lysozyme, etc. (**Israïli, 2014**).

5.3. Activité anti inflammatoire

Selon **Abuharfeil (1999)**, il a été constaté que le miel peut stimuler la production et la multiplication des lymphocytes B et T, ainsi que l'activation des phagocytes qui sont les défenseurs immunitaires de notre corps. Lorsque l'inflammation devient excessive, elle peut entraver le processus de guérison en augmentant la production de radicaux libres dans les tissus. Cependant, les antioxydants présents dans le miel ont la capacité d'éliminer les radicaux libres et ainsi prévenir leurs effets néfastes. L'application de miel sur les plaies peut aider à réduire l'inflammation, ce qui se traduit par une diminution de l'œdème et de l'exsudat, ainsi qu'un soulagement de la douleur.

5.4. Activité cicatrisante

Depuis l'Antiquité, le miel est réputé pour ses propriétés cicatrisantes, qui se traduisent par une accélération du processus de guérison, une réduction du risque d'infection, une diminution de la douleur et une amélioration de l'apparence de la cicatrice finale. Ces effets sont attribuables à différentes actions du miel sur les différentes phases de la cicatrisation, notamment les phases inflammatoires, prolifératives et de remodelage. (Couquet *et al.*, 2013)

5.5. Propriétés antioxydantes

Les antioxydants sont des substances qui agissent à faible concentration pour supprimer, retarder ou empêcher les processus d'oxydation et leurs conséquences. Les composés phénoliques, présents dans le miel, sont des antioxydants primaires qui neutralisent les radicaux libres en inhibant leur propagation à l'aide d'hydrogènes. D'autres composants sont considérés comme des antioxydants secondaires, ils prévoient la formation de radicaux libres par différents mécanismes. Certains de ces composants chélatent les ions métalliques, réduisant ainsi leur effet pro-oxydant, tandis que d'autres piègent l'oxygène, tels que l'acide ascorbique et certains systèmes enzymatiques (Meda *et al.*, 2005) .

Chapitre 2 : Huiles essentielles

1. Définition

Les huiles essentielles (HEs), appelées aussi essences, sont définies comme étant des mélanges complexes de composés naturels, volatiles et aromatiques, Elles sont synthétisées par un grand nombre de plantes comme sous-produits du métabolisme secondaire, et isolées de celles-ci par distillation ou par une méthode mécanique sans chauffage (**Kalemba et Kunicka, 2003; Ugarte et al., 2019**). Elles sont contenues dans différentes parties de la plante comme, les fleurs, feuilles, racine, fruit, graine...etc. (**Parthasarathy et al.,2008**).

L'organisme de normalisation **AFNOR** (association française de normalisation) a défini l'huile essentielle comme un : « Produit obtenu à partir d'une matière première végétale, soit par entraînement à la vapeur, soit par des procédés mécaniques, soit par distillation à sec. L'huile essentielle est ensuite séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques ».

2. Composition chimique

L'étude de la composition chimique des huiles essentielles est effectuée, généralement, par, chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG-SM) (**Bakkali et al., 2008, Khoddami et al., 2018**).

Les HEs sont des mélanges plus au moins complexes qui peuvent contenir environ 20 à 60 composants aux concentrations différentes. Ces derniers varient en fonction de différents facteurs, incluant le stade de développement des plantes, les organes prélevés, la période et la zone géographique de récolte (**Kalemba et Kunicka, 2003; Burt, 2004**).

Généralement, les composés des HEs appartiennent à deux groupes caractérisés par des origines biosynthétiques distinctes (**Croteau et al., 2000; Betts, 2001 ; Pichersky et al., 2006**) :

2.1. Terpènes et terpénoïdes

Les terpènes sont une classe d'hydrocarbures très varié au niveau fonctionnel et structural. Ils sont issus du couplage de plusieurs unités à cinq carbones (C5) appelé « isoprène » (C₅H₈). Soit deux unités pour les monoterpènes (C₁₀H₁₆) et trois pour les sesquiterpènes (C₁₅H₂₄) (**Piochon, 2008**). Des modifications biochimiques des terpènes par des enzymes, entraînent la formation des terpénoïdes (**Caballero et Trugo, 2003**), et selon la fonction biochimique formée, on distingue : Alcool (Linalol), aldéhyde (citronnellal), phénol (carvacrol, thymol), ...etc. (**Bakkali et al., 2008**).

- **Les monoterpènes** : Sont constitués de deux unités d'isoprène, leur formule chimique brute est C₁₀H₁₆ (Rahal, 2004).
- **Les sesquiterpènes** : Ils comportent trois unités d'isoprène, leur formule est C₁₅H₂₄ (Belaiche, 1979).

2.2. Groupe des composés aromatiques dérivés du phénylpropane

Les HEs renferment aussi des composés aromatiques dérivés du phénylpropane (C₆- C₃), mais qui sont beaucoup moins fréquents que les terpènes. Cette classe comprend des composés odorants comme la vanilline, l'eugénol, et bien d'autres. Ces composés sont généralement responsables des caractères olfactifs et organoleptiques des huiles essentielles (Paris et Hurabielle, 1981). Certains composants d'HEs connus, ainsi que leur structure, sont illustrés dans la figure 3.

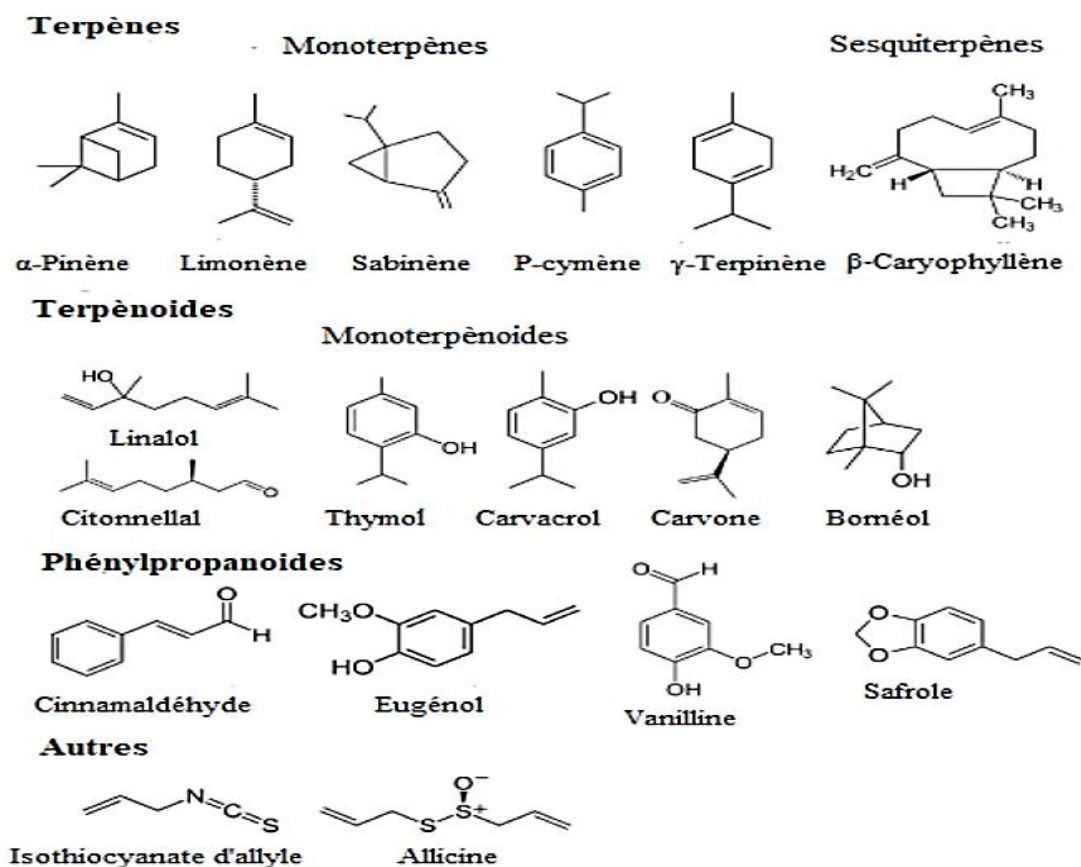


Figure 3: Structures chimiques de certains composants d'huile essentielle (Hyldgaard et al., 2012).

3. Propriétés biologiques

Les HEs sont connues pour être douées de propriétés antiseptiques et antimicrobiennes. Beaucoup d'entre elles, ont des propriétés antitoxiques, antivirales, antioxydantes, et antiparasitaires. Plus récemment, on leur reconnaît également des propriétés anticancéreuses (Lahlou,2004).

3.1. Activité antibactérienne

Depuis la première mise en évidence de l'action des HEs contre les bactéries, par **Delacroix en 1881**, de nombreuses études ont été réalisées, et plusieurs huiles ont été définies comme antimicrobiennes (**Brut, 2004; Bakkali et al., 2008**). Les HEs agissent contre un large éventail de bactéries, y compris celles qui développent des résistances aux antibiotiques. Cette activité est par ailleurs variable d'une huile essentielle à l'autre et d'une souche bactérienne à l'autre (**Guinoiseau, 2010**). L'eugénol, le thymol et le carvacrol, sont des composés à forte activité antibactérienne. Le carvacrol est le plus actif de tous (**Labioud et Aouadi, 2016**).

D'une manière générale, l'activité antibactérienne se déroule en trois phases (Figure 4) :

- Attaque de la paroi bactérienne par l'huile essentielle, provoquant une augmentation de la perméabilité puis la perte des constituants cellulaires ;
- Acidification de l'intérieur de la cellule, bloquant la production de l'énergie cellulaire et la synthèse des composants de structure ;
- Inhibition de la synthèse du matériel génétique, conduisant à la mort de la bactérie. (**Benaziza et Benhalima, 2017**).

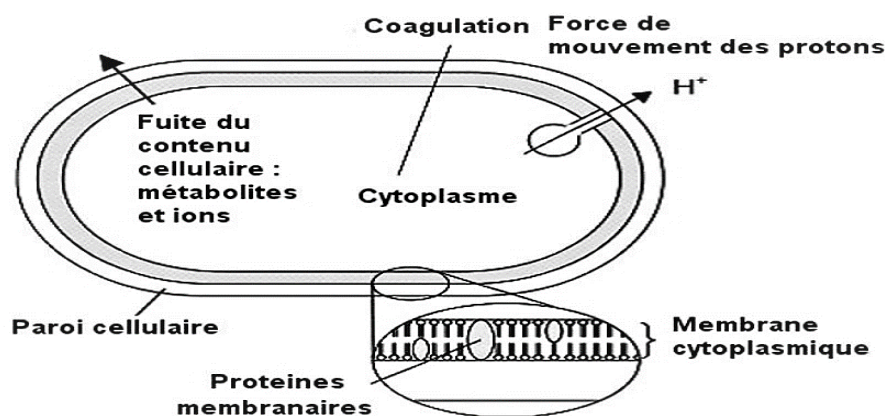


Figure 4: Principales localisations des sites d'action des constituants des huiles essentielles (**Ziti-Freville, 2019**)

3.2. Activité antifongique

Les HEs sont connues pour avoir un pouvoir antifongique. Pour les levures, elles agissent sur la biomasse et la production du pseudo mycélium, elles inhibent la germination des spores, l'élongation du mycélium, la sporulation et la production de toxine chez les moisissures (**Gouizi et Ghellab, 2019**). Ce pouvoir est attribué à la présence de certaines fonctions chimiques dans leurs compositions tels que le thymol et le carvacrol, les alcools terpéniques, les aldéhydes et les cétones. (**Voukou et al., 1988**).

3.3. Activité anti-biofilm

Les huiles essentielles sont avérées très efficaces contre les biofilms microbiens. Il est connu que ces derniers sont difficiles à éradiquer par les agents antimicrobiens standards, tels que les antiseptiques, les désinfectants et les antibiotiques.

Les HEs à faible concentration inhibent la formation des biofilms bactériens par plusieurs mécanismes. Elles peuvent interagir avec les protéines des surfaces bactériennes ce qui inhibe leur fixation et du coup, la formation du biofilm. Comme elles ont la particularité d'agir directement sur des biofilms déjà formés, les éradiquer par solubilisation de leur matrice extracellulaire (**Niu et Gilbert, 2004; Benbelaid, 2015**).

3.4. Activité antioxydante

Les cellules et tissus humains peuvent être soumis à une grande variété d'agressions, qui débouchent sur une expression commune appelée stress oxydant, dues à la production de radicaux dérivés de l'oxygène. (**Walker et al, 1982**). Un antioxydant est un agent qui empêche ou ralentit l'oxydation en neutralisant des radicaux libres. (**Rahman et al, 2013**).

Lorsque l'on parle d'activité antioxydante, on distingue deux sortes selon le niveau de leur action : une activité primaire et une activité préventive (indirecte). Les composés qui ont une activité primaire sont capables de donner des électrons à l'oxygène radicalaire afin qu'ils puissent le piéger (agir comme agents réducteurs) (**Kohen et Nyska, 2002**). En revanche, les composés qui ont une activité préventive sont capables de retarder l'oxydation par des mécanismes indirects tels que la complication des ions métalliques ou la réduction d'oxygène... etc. (**Madhavi et al.,1995**).

3.5. Activité antivirale

Les huiles essentielles des différentes familles botaniques ont des actions antivirales, mais le degré d'efficacité est variable en fonction de la souche et de la structure virale (**Davidson et al., 2005**). Certains composés spécifiques des HEs sont responsables de cette activité, il s'agit de l'acétate d'anéthole, carvone, bêta-caryophyllène, citral, eugénol, limonène, linalol et linalyle (**Belaiche, 1979**).

3.6. Propriété anti-inflammatoire et antiseptique

Lors d'une réponse à des dommages aux tissus, l'inflammation et la douleur sont les deux principaux symptômes qui se produisent. Les médicaments anti-inflammatoires sont encore un élément clé du traitement de ces symptômes. (**Brune et Patrignani, 2015**). Des études ont montré que certaines HEs telles que *S. officinalis*, ont des propriétés anti-inflammatoires. Les composés actifs agissent en réduisant la libération d'histamine et influençant sur les voies de signalisation liées aux cytokines et aux facteurs de transcription régulateurs. De plus, leur capacité à ajuster l'expression de gènes pro-inflammatoires joue un rôle important dans cet effet. (**Abad et al., 2011**).

Chapitre 3 : Peau, brûlure et cicatrisation

1. Définition de la peau

La peau est l'organe du corps humain à la fois le plus grand et le plus lourd pesant environ 5 kilos chez les adultes (représente 16 % de son poids total) et couvrant une surface d'environ 2 m² (Marina, 2011).

Elle assume diverses fonctions essentielles, incluant la préservation contre les agressions extérieures (impacts, contaminants, micro-organismes, rayons ultraviolets...), la régulation de la température corporelle, la production d'hormones vitales (comme la vitamine D et diverses hormones). La peau englobe également des rôles dans l'immunité et joue un rôle psychosocial (Benedetti, 2021).

2. Composition chimique de la peau

La peau est principalement composée des éléments suivants :(Toomedical, 2019).

- **Eau** : La peau contient environ 70% d'eau, ce qui contribue à maintenir son hydratation et son élasticité.
- **Protéines** (27,5%), notamment le collagène et l'élastine. Elles fournissent sa structure, sa fermeté et sa souplesse.
- **Lipides** (2%), tels que les triglycérides, les céramides et les acides gras, sont présents dans la couche supérieure de la peau (l'épiderme) et jouent un rôle crucial dans la barrière cutanée, en empêchant la perte d'eau et en protégeant la peau des agressions extérieures.
- **Vitamines et minéraux** : vitamines (Vitamine C, vitamine E) et des minéraux (Zinc, cuivre, sodium, magnésium, potassium, fer...)

3. Anatomie et physiologie de la peau

La peau comprend trois couches superposées, l'épiderme, le derme et l'hypoderme, et forme, avec ses annexes (poils, cheveux, ongles et glandes).

3.1. L'épiderme

L'épiderme, est la couche la plus superficielle de la peau en renouvellement constant d'une épaisseur varie selon les parties du corps. C'est un épithélium stratifié, squameux et kératinisé, dépourvu de vaisseaux sanguins, mais renferme de nombreuses terminaisons nerveuses. Il est recouvert d'un film hydrolipidique (Mélissopoulos et al., 2012)(fig.5)

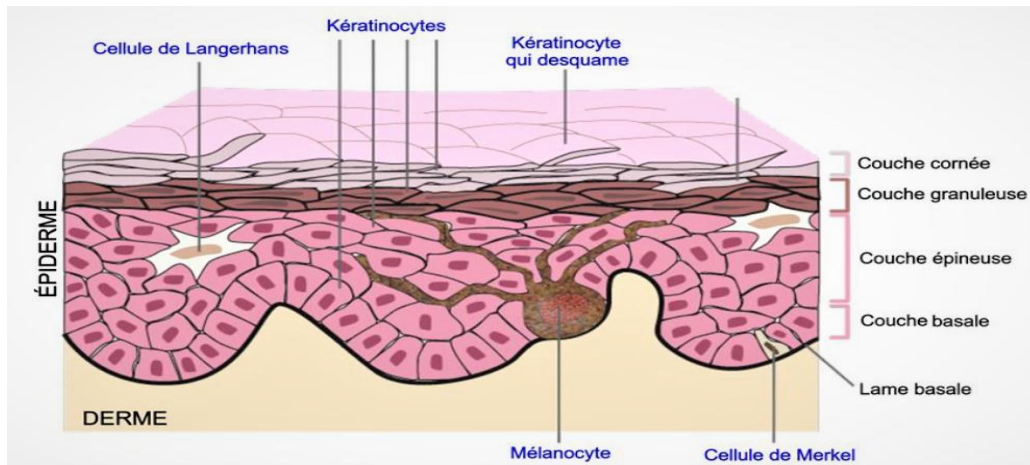


Figure 5: Coupe transversale de l'épiderme (Lafourcade, 2015).

3.2. Le derme

Le derme, est un tissu conjonctif fibreux et élastique très vascularisé, plus épais que l'épiderme. Il est séparé de l'épiderme par la jonction dermo-épidermique qui assure la cohésion et les échanges entre ces deux tissus. Il joue un rôle de soutien, et un rôle nutritif. Il est constitué principalement de fibroblastes (Mélissopoulos *et al.*, 2012).

Le derme est composé de deux couches : le derme papillaire et le derme (Stevens *et al.*, 2006).

3.3. L'hypoderme

L'hypoderme est la couche la plus profonde et la plus épaisse de la peau. Il est formé d'un tissu conjonctif adipeux très vascularisé. Son épaisseur varie en fonction de sa localisation et du sexe de la personne. Ce tissu a une fonction endocrine puisqu'il synthétise et libère des hormones, il sert d'interface entre le derme et les structures mobiles situées en dessous de lui, comme les muscles et les tendons. Il protège également l'organisme des chocs physiques, des variations de température et sert aussi de réserve adipeuse (Martini et Marie-Claude, 2011).

3.4. Annexes

Ils comprennent les phanères (poils, cheveux, ongles), très riches en kératine ; les glandes sudoripares ou sudorales, les glandes sébacées (Stevens *et al.*, 2006).

➤ **Matrice extra cellulaire (MEC) :**

La matrice extracellulaire correspond à un ensemble de macromolécules extracellulaires sécrétées localement par les cellules d'un tissu et organisé en un réseau complexe autour de ces cellules. Elle se compose des protéoglycanes, des protéines fibreuses (collagène et élastine), glycoprotéines de structure, de l'acide hyaluronique ainsi une quantité significative d'enzymes protéolytiques responsables de la dégradation de la MEC. En fonction de l'abondance relative de ces macromolécules, on obtient une structure plus ou moins lâche qui donne sa morphologie au tissu (Maquart, 2015) (fig.6).

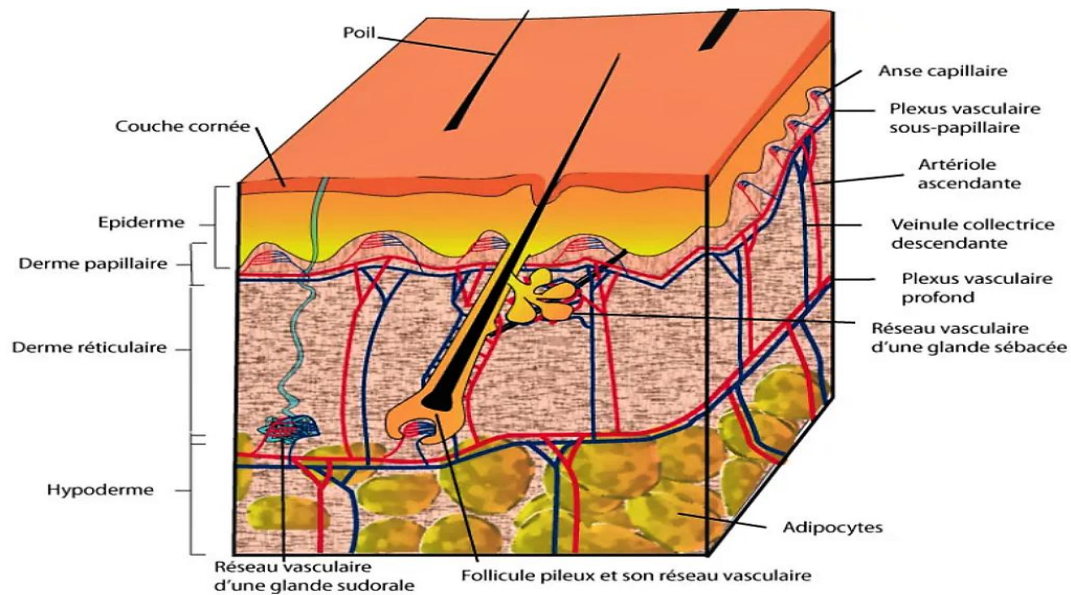


Figure 6: Anatomie fonctionnel de la peau (Lafourcade, 2015).

4. Rôle de la matrice extracellulaire dans la cicatrisation

La matrice extracellulaire et ses constituants macromoléculaires constituent un partenaire essentiel pour la cicatrisation des plaies. Chacune de ses molécules constitutives peut, soit directement, soit après protéolyse partielle réguler l'activité des cellules impliquées dans le processus de réparation tissulaire (Maquart, 2015).

L'acide hyaluronique est un glycosaminoglycane abondant dans la peau. Il interagit avec les récepteurs de la membrane cellulaire, en particulier CD-44, ce qui favorise le processus cicatriciel. Il est capable, notamment, de moduler la réaction inflammatoire, d'induire la migration cellulaire, la sécrétion de collagène et la néoangiogénèse (Frenkel, 2012).

La décorine, protéoglycane majeur de la peau, est capable de réguler la production du TGF- β (Transforming Growth Factor- β), cytokine activatrice de la production de matrice extracellulaire par les fibroblastes (Yamaguchi et al., 1990). L'isoforme V₃ est capable de stimuler la production d'élastine, et d'induire la différenciation des fibroblastes en myofibroblastes. Le perlecanne, gros protéoglycane des membranes basales, stimule la formation des néo-vaisseaux dans les plaies expérimentales de la souris (Zhou et al., 2004)

La fibronectine est la glycoprotéine de structure la plus abondante dans les tissus conjonctifs, joue un rôle dans la cohésion de la matrice extracellulaire, et dans la cicatrisation puisqu'elle stimule la migration des kératinocytes et des fibroblastes. D'autres glycoprotéines stimulent la production de matrice extracellulaire et la contraction des plaies par les myofibroblastes, sont les thrombospondine-1 (Murphy-Ullrich et Poczatek, 2000)

Les intégrines sont des protéines transmembranaires formées de deux sous-unités, jouent un rôle majeur dans les interactions entre cellules et matrice extracellulaire. L'intégrine β 1, en particulier est nécessaire pour la fermeture des plaies expérimentales chez la souris et permet la migration des kératinocytes *in vivo* (Grose et al., 2002)

5. Flore cutanée

Le microbiote cutané ou la flore cutanée, est l'ensemble d'espèces bactériennes et fongiques qui colonise la peau humaine, soit sur la surface ou dans la profondeur de l'épiderme. (Mokni et al., 2014). Elle se répartit en deux populations :

5.1. Flore résidente

Elle contient des microorganismes avec une quantité et une répartition qui est relativement stable, et résistante aux modifications de l'environnement. Les bactéries à Gram positif sont les dominantes dans cette flore, avec deux familles principales : les staphylocoques, sont les plus fréquemment trouvées, et les bactéries coryneformes. Les seules bactéries à Gram négatif résidentes sont du genre *Acinetobacter*. D'autres germes sont également associés à cette flore : des levures, des parasites et certains virus (Mokni et al., 2014 ; Teyssou et al., 1997).

5.2. Flore transitoire

Elle est d'origine exogène ou d'autres flores commensales. Cette flore est composée de germes profitant d'une modification de l'habitat pour proliférer. Elle est composée de germes

pouvant contaminer temporairement la peau. Il s'agit en particulier : *Staphylococcus aureus* (20 % de porteurs sains), les streptocoques, *Bacillus* sp., *Neisseria* sp., *Pseudomonas* sp. et de levures telles que des *Candida* sp. (Mokni et al., 2014 ; Teyssou et al., 1997).

6. Brûlure de la peau

6.1. Définition de brûlure

La brûlure est définie comme une destruction tissulaire suite à l'agression de la couche cutanée, voire même des structures sous-jacentes ; consécutive à l'action d'agents thermiques, électriques, chimiques ou même radiologique (Lafourcade, 2015).

6.2. Degré de brûlure

Il existe quatre degrés pour classifier la profondeur de la brûlure. Cependant, sur le plan chirurgical, on classe les brûlures en deux catégories : les superficielles (premier et deuxième degré superficiel) et le profond (deuxième degré profond et troisième degré) (Wassermann, 2002 ; Echinard & Latarjet, 2010)

Le tableau suivant représente la classification des brûlures selon leurs profondeurs, et leurs caractéristiques au niveau anatomique, clinique ainsi leurs évolutions au fil de temps.

Tableau 1: Caractéristiques des brûlures selon leurs degrés (Wassermann, 2002 ; Echinard et Latarjet, 2010)

Profondeur	Anatomie	Aspect clinique	Evolution
Brûlure du 1^{er} degré	Atteinte superficielle de l'épiderme	lésion érythémateuse douloureuse	guérison en 4 à 5 jours, avec une légère desquamation
Brûlure du 2^{ème} degré superficiel	destruction totale de l'épiderme ; Ecrêtement de la membrane basale ; Atteinte du derme papillaire	Phlyctène à paroi épaisse suintante ; fond rose /rouge ; douleurs intenses ; Saignement et scarification	1 à 2 semaines ; plus ou moins bonne cicatrisation
Brûlure du 2^{ème} degré profond	Destruction de l'épiderme excepté au niveau des follicules pileux ; Destruction de la membrane basale plus ou moins complète avec atteinte du derme réticulaire.	Phlyctène inconstante à fond rouge brun ; quelques zones blanchâtres	2 à 4 semaines ; mauvaise cicatrisation, (au cas d'infection, destruction des cellules souches et donc pas de cicatrisation)
Brûlure du 3^{ème} degré	Destruction totale de l'épiderme et de la membrane basale ; Atteinte profonde du derme et parfois de hypoderme	Couleurs variables : du blanc au brun, parfois noir ; Lésion sèche, cartonnée, aspect de cuir avec vaisseaux apparents sous la nécrose.	pas de cicatrisation ; Traitement chirurgical obligatoire.

7. Infection chez le brûlé

Bien que les progrès en matière de prise en charge des brûlés l'infection reste la complication la plus fréquente et la cause majeure de la mort des patients brûlés (**Ezzoubi et al., 2004**).

L'infection correspond à l'agression d'un tissu par un ou plusieurs micro-organismes, générant une réponse inflammatoire et des signes ou symptômes de nature et d'intensité variable selon le

terrain. Elle est associée généralement à une fièvre, rougeur, suintement de la plaie (pus/liquide verdâtre), douleur, chaleur autour de la zone affectée. (**Lafourcade, 2015**).

La brûlure, stérile dans les premières heures, est donc rapidement colonisée, initialement (dans les 48 h) par des bactéries cutanées puis (fin de la première semaine) par des bactéries exogènes. Ces bactéries se logent à la jonction zone brûlée/zone saine, où elles trouvent un environnement propice à leur développement. Toutefois, cette colonisation participe largement à la détersion de la zone brûlée si elle est contrôlée (**Church et al., 2006**).

7.1. Infection cutanée

Les infections cutanées bactériennes sont des pathologies fréquentes. Elles revêtent des formes cliniques très nombreuses (L'abcès cutané, anthrax, impétigo). Toutes ces infections sont le plus fréquemment causées par le *Staphylococcus aureus* (un staphylocoque doré). Elles surviennent lorsqu'une bactérie s'infiltré dans la peau par une coupure ou une plaie ouverte (ulcères, brûlures, escarres) (**Gauzit, 2006**).

La rupture de la barrière kératinocytaire, la chaleur, l'humidité, l'altérations immunitaires, la modification de l'équilibre de la flore avec statut permanent de germes plus « agressifs », sont tous des facteurs favorisant une infection bactérienne cutanée.

7.2. Microorganismes en cause

Les microorganismes les plus couramment responsables des infections lors des brûlures sont :

➤ Bactéries à Gram positif : Staphylocoques

Les staphylocoques : sont des bactéries relativement communes, qui vivent naturellement sur la peau, et, chez certaines personnes, dans le nez. Elles peuvent provoquer une infection lorsqu'elles pénètrent dans la peau par une coupure ou une plaie.

***Staphylococcus aureus* (le staphylocoque doré) :** est un pathogène majeur de l'homme causant des infections nosocomiales et épidémiques en milieu hospitalier. Cet agent est le plus fréquemment rencontré lors d'infections de plaies chirurgicales et d'infections de brûlures. Il peut sécréter des toxines pouvant entraîner un syndrome de choc toxique chez les patients brûlés. Généralement, l'installation de cathéters veineux ou de sondes urinaires ou bien les chirurgies sont des interventions favorisant l'entrée de la bactérie dans le sang et les plaies. Il peut également être extrêmement résistant aux antibiotiques tel que le *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM) (**Tattevin, 2011**).

Staphylococcus epidermidis : plus connu sous le nom de **staphylocoque blanc**, est une bactérie présente à l'état naturel chez l'être humain, car elle fait partie de la flore naturelle des individus. Elle est couramment impliquée au cours des infections nosocomiales. Sa capacité à synthétiser un biofilm protecteur vis-à-vis des défenses de l'hôte est la principale déterminant du son pouvoir pathogène (**Tattevin, 2011**).

➤ **Bactéries à Gram négatif : *Pseudomonas aeruginosa***

Pseudomonas aeruginosa a été classé comme l'une des causes principales d'infections chez les personnes souffrant de brûlures sévères, car elle est difficile, voire impossible à combattre. Cet agent se développe dans les plaies et s'adapte à son environnement pour proliférer puis coloniser son hôte. Il met en place divers mécanismes qui facilitent sa multiplication. Il est prouvé que, le *P. aeruginosa* pourrait générer des pompes servant à expulser des molécules, ce qui expliquerait sa grande résistance à certains antibiotiques (**Nataro et Kaper, 1998**).

➤ **Les levures**

Les infections à levure sont le plus souvent dues à *Candida* spp. ou d'autres champignons opportunistes qui apparaissent généralement comme un assombrissement de la zone de la brûlure. Ces champignons sont la cause émergente de mortalité tardives chez les patients avec brûlures importantes. De telles infections surviennent généralement après la deuxième semaine de lésions thermiques, après une période de colonisation des brûlures par des champignons présents dans l'environnement (**Church et al., 2006**).

8. Processus de cicatrisation

8.1. Définition de la cicatrisation

La cicatrisation est un processus naturel par lequel le corps répare et guérit les tissus endommagés. Cela se produit généralement après une blessure, une coupure, une brûlure ou une intervention chirurgicale. Pendant ce processus, les cellules, les vaisseaux sanguins et les tissus lésés sont progressivement remplacés par de nouveaux tissus, permettant ainsi la restauration de la fonction et de l'intégrité de la zone blessée. (**Giorgetta, 2023**).

8.2. Mécanisme de cicatrisation

La cicatrisation se déroule selon une séquence ordonnée d'événements biologiques qui comporte trois phases interdépendantes : l'hémostase, l'inflammation et la réparation.

➤ **Hémostase**

Cette phase initiale se déclenche immédiatement après la perte d'intégrité cutanée. Sous l'effet de l'ADP (adénine di phosphate), les plaquettes se lient au collagène de type 1 exposé, subissent une activation, et libèrent des glycoprotéines adhésives qui encouragent l'agrégation des plaquettes ce qui contribue à stopper le saignement. De plus, elles libèrent des facteurs qui déclenchent une série d'événements de coagulation, aboutissant à la création de fibrine qui renforce l'agrégat plaquettaire. Les plaquettes sécrètent également des facteurs de croissance tels que le PDGF (facteur de croissance dérivé des plaquettes). Ce PDGF attire les neutrophiles et les monocytes et stimule les cellules épithéliales pour attirer les fibroblastes. (Orsted et al., 2021).

➤ **Inflammation** : du 1er jour au 4ème jour.

L'inflammation est une réponse immunitaire naturelle et protectrice du corps en réponse à une agression, telle qu'une infection, une blessure ou une irritation. Dans cette phase, il y a une augmentation du flux sanguin au site lésé grâce à une vasodilatation.

Les premières cellules à arriver au site lésé sont les polynucléaires neutrophiles (PNN), qui phagocytent les débris et les micro-organismes, constituant ainsi la première ligne de défense contre l'infection. D'autres cellules sont également impliquées, telles que les monocytes qui libèrent des enzymes intracellulaires, les fibroblastes, les mastocytes et les cellules épithéliales.

Les monocytes se transforment en macrophages après avoir quitté les vaisseaux sanguins et entrent en contact avec la matrice extracellulaire. Ils sont capables de phagocyter les bactéries (deuxième ligne de défense) et sécrètent également des enzymes pour dégrader le tissu nécrotique et les cellules en voie de mort cellulaire, y compris les PNN, ce qui ouvre la voie à la résolution de l'inflammation.

Les macrophages sécrètent diverses cytokines et facteurs de croissance qui peuvent stimuler les kératinocytes, les fibroblastes et l'angiogénèse (Orsted et al., 2021).

➤ **Prolifération (granulation et contraction)** : du 4ème au 21ème jour

Les fibroblastes jouent un rôle important dans la régénération du derme en sécrétant une matrice de collagène sur laquelle la régénération aura lieu. Certains fibroblastes spécialisés sont responsables de la contraction de la plaie. L'angiogénèse, qui est le processus de développement de nouveaux vaisseaux sanguins, est assurée par les péricytes qui se trouvent au niveau de la lame basale de l'endothélium capillaire. Ils régénèrent les couches externes des capillaires, tandis que les cellules endothéliales produisent le revêtement interne. Les kératinocytes sont responsables de

l'épithélialisation, c'est-à-dire la formation d'une couche protectrice externe. Avant que les cellules épithéliales ne commencent à proliférer et à migrer pour fermer la surface de la plaie, il est important que le lit de la plaie se remplisse de collagène de bas en haut (Orsted et al., 2021).

➤ **Remodelage (maturation)** : du 21ème jour jusqu'à deux ans.

Pendant cette phase, la matrice extracellulaire est réorganisée grâce à des enzymes appelées protéases matricielles, tandis que les cellules inutiles meurent par apoptose. L'objectif de cette phase est de restaurer une structure et des fonctions cutanées proches de la normale (fig.7).

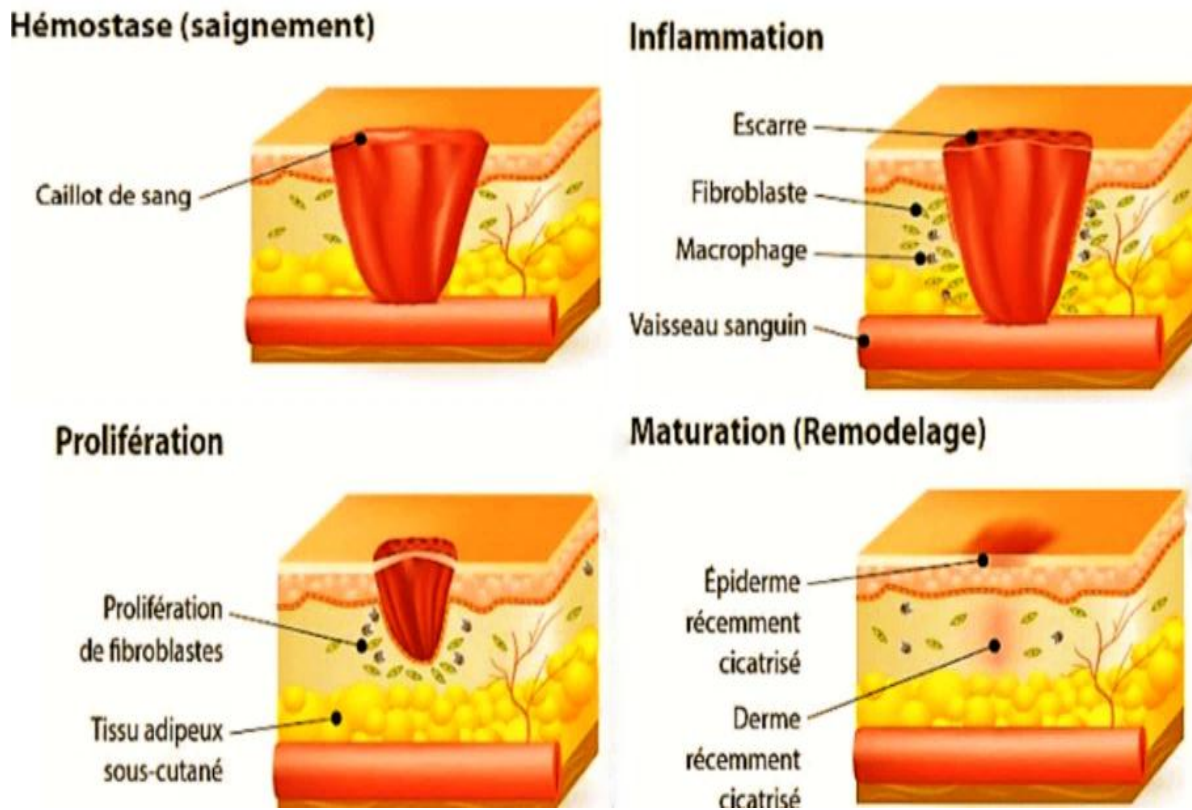


Figure 7: Illustration des phases du processus de la cicatrisation (Orsted et al.,2021)

Partie expérimentale

Chapitre 1 : Matériel et Méthodes

Objectif du travail

Cette étude vise à évaluer et comparer les effets cicatrisants de miel de thym, miel toutes fleurs et miel semi-synthétique et de ces miels additionnés d'huile essentielle de thym sur des brûlures de deuxième degré induites chez des souris. Dans ce travail, une étude des propriétés antimicrobiennes in vitro de ces produits naturels a également été menée.

Lieu et la durée d'étude

L'étude de l'activité antibactérienne et cicatrisante a été réalisée au sein du Laboratoire des Milieux de Culture de l'annexe "El Hamma" de l'Institut Pasteur d'Algérie durant la période allant de 24 avril à 17 août 2023

L'étude des propriétés physico-chimiques des échantillons de miel a été réalisée au niveau du laboratoire " Biochimie et Technologie Alimentaire" de la Faculté des Sciences Technologiques "Mohamed Bouguara" de Boumerdes.

1. Matériel

1.1. Matériel biologique

1.1.1. Miels utilisés

➤ Miels naturels

Il a utilisé dans cet étude un miel toutes fleurs et un miel mono-floral de "thym" de l'entreprise algérienne « **Bayt Al Assal** », récoltés en 2022 dans la wilaya de « Tissemsilt », Algérie, et ont été extraits par une centrifugation à froid et conservés hermétiquement à l'abri de l'air puis stockés à l'abri de l'humidité et de la lumière.

➤ Miel semi-synthétique

Le miel semi-synthétique utilisé provient de la marque espagnole "**HACENDADO**" et est fabriqué par la société **Apisol SA**, à **Montroy (Valence)**. Ce miel est un mélange de miel naturel de romarin récolté en **Espagne**, avec un pourcentage d'autres miels potentiellement non naturels.

1.1.2. Huile essentielle de thym

Notre étude se focalise sur l'huile essentielle de thym commerciale obtenue par distillation à la vapeur des feuilles de *Thymus vulgaris*, récoltées dans la région de Tlemcen, en Algérie, en janvier 2023. Elle a été conservée à l'abri de la chaleur et de la lumière.

Afin de garantir une cohérence dans nos résultats, nous avons choisi d'utiliser exclusivement l'huile essentielle de thym de la marque "**Zeitipharm**". Cette décision a été prise en tenant compte de la disponibilité de cette marque sur le marché national ainsi que de ses propriétés thérapeutiques. En optant pour une seule marque, nous avons pu minimiser les variations entre les différentes huiles, notamment en ce qui concerne le mode d'extraction, l'origine des plantes utilisées et la pureté des huiles.

1.1.3. Matériel animal

Afin de réaliser notre étude *in vivo*, nous avons choisi 04 souris pour réaliser des brûlures expérimentales. Ces souris sont femelles, jeunes, de souche BALB-C. ce choix a été fait, afin de minimiser les variations entre les sexes, dont leur poids corporel variant entre 20 et 33.3 g provenant de l'élevage de type conventionnel au niveau de l'animalerie de IPA, Kouba, Alger.

Les souris ne présentaient aucune pathologie dès leur introduction. Elles ont été progressivement adaptées aux conditions de stabulation contrôlée, avec une température constante maintenue à 25 °C et un cycle de lumière/obscurité de 12 heures. (Un délai d'acclimatation de 24 heures a été observé avant de les soumettre aux diverses procédures expérimentales.)

Les souris ont été logées dans des cages en polypropylène transparent avec un accès libre à l'eau et une alimentation constituée de granulés complets, occasionnellement complétée par des morceaux de fruits, de légumes frais ainsi que de l'avoine.

Les réglementations et les dispositifs d'éthique de l'expérimentation animale sont respectés par l'utilisation d'un nombre minimale d'animaux pour obtenir des résultats. (Charte nationale portant sur l'éthique de l'expérimentation animale mise à jour le 18/12/2014).

1.1.4. Les souches microbiennes

Dans cette étude, nous avons évalué l'activité antibactérienne *in vitro* en utilisant des souches microbiennes de référence de la collection internationale ATCC (American Type Culture Collection) qui ont été fournies par l'Institut Pasteur d'Alger (IPA). Dont 03 souche bactériennes : *Staphylococcus aureus* (ATCC6538), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC9027), *Escherichia coli* (ATCC8739) et une levure, *Candida albicans* (ATCC10231).

1.2. Matériels non biologique

Tous les appareillages, instruments et milieux utilisés dans la partie méthodes sont résumés dans les tableaux ci-dessous :

Tableau 2: Milieux et matériels non biologiques utilisés.

Milieux de culture	<p>Géloses : Gélose Mueller-Hinton (MH) et Gélose Sabouraud</p> <p>Bouillons : Bouillon Sabouraud et Bouillon Tryptone Soja (TSB)</p> <p>Autres milieux : le TSI, le citrate de Simmons, le mannitol mobilité, le MEVAG (Milieu pour l'Etude de la Voie d'Attaque des Glucides) et le BHIB (Bouillon cœur-cervelette)</p>
Matériels de laboratoire	Pipette pasteur; tube en verre à fermeture à vis; bécher en verre; flacon en verre; micropipettes; boîtes de pétri stériles; burettes; entonnoirs; erlenmeyers; fioles jaugées ; poires; baguette en verre; pincettes stériles; lame et lamelle; éprouvettes graduées; pissette d'eau distillée; papiers filtres; seringues stériles ;lame rasoir ; un chronomètre; des écouvillons stériles; les gants; règle graduée; disques non imprégnés; coton; étiquettes; feutres indélébiles; tubes à centrifuger
Appareillages	Agitateurs magnétiques/ Plaques chauffantes, bain marie, balance de précision, conductimètre, pH-mètre, spectrophotomètre UV-Visible, réfractomètre, étuve / incubateur, vortex, microscope optique, bec Bunsen, centrifugeuse, four pasteur, autoclave, hotte laminaire, pompes de distribution, machine à capsuler.
Produits chimiques et réactifs	Eau physiologique stérile (0,9%), eau distillée, Alcool, l'éther, huile à immersion, HCl, NaOH, la paraffine, cristal violet, Lugol, fuchsine, la catalase, l'oxydase, NaOH à 0,05N, H ₂ SO ₄ à 0,05N, bleu de bromothymol

2. Méthodes

2.1. Analyses physico-chimiques des miels

2.1.1. Détermination de la conductivité électrique

Selon la méthode de **Vorwohl (1966)**, la conductivité électrique permet de déterminer et différencier les miels de nectar des miels de miellat. La conductivité est étroitement liée à la teneur en minéraux et l'acidité du miel. Elle est notée σ (sigma) et son unité est le Siemens /mètre ou μ Siemens/cm.

Elle est déterminée sur une solution de miel à 20% de matière sèche à 20°C. La mesure s'effectue par immersion de la cellule du conductimètre dans la solution de miel, la valeur de la conductivité électrique est lue sur l'appareil (**Bogdanov, 2004**).

➤ **Protocole**

Une quantité de 10 g du miel (correspondant à 20 % du volume total) a été dissout dans un 50 mL d'eau distillée (correspondant à 80 % du volume total) dans bécher propre. Bien homogénéiser la solution puis la mettre au bain marie régler à 20°C. Après que la température voulue ait été atteinte, plonger l'électrode du conductimètre dans la solution. Avant chaque mesure, la cellule du conductimètre est rincée soigneusement avec de l'eau distillée et sécher délicatement.

L'opération est faite pour les 3 miels utilisés (miel de thym ; miel toutes fleurs ; miel semi-synthétique).

➤ **Expression des résultats**

Effectuer directement la lecture de la valeur qui s'affiche à l'écran du conductimètre. Et comparé aux normes :

- $\sigma \leq 500 \mu\text{S} / \text{cm}$ pour les miels de nectar ;
- $500 \leq \sigma \leq 800 \mu\text{S} / \text{cm}$ les miels mixtes ;
- $\sigma \geq 800 \mu\text{S} / \text{cm}$ pour les miels de miellat et le châtaignier. (**Vorwohl,1966**)

2.1.2. Détermination du potentiel d'hydrogène (pH)

C'est la mesure du potentiel hydrogène d'une solution de miel à 10% de miel à l'aide d'un pH-mètre. C'est une méthode potentiométrique utilisant une électrode de verre spécifique aux ions H⁺. Le pH-mètre mesure la tension (différence de potentiel) entre ces deux électrodes. Celle-ci est directement liée au pH de la solution dans laquelle la sonde est immergée.

➤ **Protocole**

Le pH-mètre est calibré automatiquement à pH égal à 4 et 9. Une quantité de 5g de miel (correspondant à 10 % du volume total) est dissous dans 50mL d'eau distillée (correspondant à 90 % du volume total). La solution est homogénéisée et placée au bain marie régler à 20°C. Ensuite la

cellule du pH-mètre est immergée dans la solution et la valeur du pH s'affiche. Avant chaque mesure, la cellule du pH-mètre est rincée soigneusement avec de l'eau distillée puis sécher délicatement.

L'opération est faite pour les 3 miels utilisés (miel de thym ; miel toutes fleurs ; miel semi-synthétique).

➤ **Expression des résultats**

La valeur du pH est directement lue sur l'écran du pH-mètre.

Le pH s'exprime selon une échelle logarithmique de 0 à 14 unités :

- Une solution est considérée comme acide si son $\text{pH} < 7$.
- Une solution est considérée neutre si son $\text{pH} = 7$.
- Une solution est considérée basique si son $\text{pH} > 7$.

2.1.3. Détermination de taux de la matière sèche

Les glucides représentent la matière sèche des miels. Elle est obtenue par le séchage de miel à une température 60°C pendant 5h dans un four pasteur laqueux 180°C et le résidu est pesé.

➤ **Protocole**

L'erenmeyer a été pesé vide puis après avoir taré la balance, une masse (**M0**) de 100 g de miel a été pesée. L'erenmeyer contenant le miel a été déposés dans un four pasteur laqueux pendant 5 heures à 60°C . Peser après refroidissement.

L'opération est faite pour les 3 miels utilisés (miel de thym ; miel toutes fleurs ; miel semi-synthétique).

➤ **Expression des résultats**

La teneur en cendres est calculée selon la formule suivante :

$$W = M1 - M2 / M0 \times 100$$

W : teneur en cendres en gramme (g)

M1 : masse du creuset après calcination en gramme (g)

M2 : masse du creuset vide en gramme (g)

M_0 : masse initiale de miel (g).

2.1.4. Acidité libre

L'acidité libre est la quantité d'acide titrable par une solution d'hydroxyde de sodium jusqu'à pH 7 en présence de bleu de bromothymol comme indicateur de fin d'équivalence (dosage acidobasique colorimétrique). L'acidité mesurée est celle d'une solution de miel à 10%.

➤ Protocole

Une masse de 10 g de miel a été dissout dans 100 ml d'eau distillée. La 1^{ère} burette a été rempli avec 10mL de NaOH à 0,05N. à partir de la solution à 10% une prise d'essai de 5g a été pesée, notée m, puis 2 à 3 gouttes de bleu de bromothymol (BBT^o) ont été ajoutées. Le milieu réactionnel est coloré en **jaune** (couleur du BBT en milieu acide). Titré avec du NaOH à 0,05N jusqu'à coloration du BBT en **vert foncé** (pH 7) et relevé le volume équivalent de NaOH noté V_{eq} .

L'opération est faite pour les 3 miels utilisés (miel de thym ; miel toutes fleurs ; miel semi-synthétique).

➤ Expression des résultats

L'acidité libre, combinée et totales sont calculées avec les formules suivantes :

$$\text{➤ Acidité libre : } AL \text{ en meq/kg} = 1000 * V_{eq} * N / m$$

Avec :

- AL : Acidité libre en meq/kg
- V_{eq} : Volume équivalent de NaOH en l
- N : Normalité de la solution de NaOH en eq/l
- m : Prise d'essai de la solution de miel en kg

2.1.5. Dosage des glucides réducteurs

La méthode de Bertrand est la méthode utilisée dans le dosage des sucres réducteurs. C'est une méthode d'oxydoréduction qui permet le dosage des oses réducteurs grâce à un dosage en retour. Elle est basée, qu'en milieu alcalin et à chaud, les oses et osides réducteurs ont la propriété de réduire l'ion cuivrique (Cu^{2+}) contenant dans la liqueur de Fehling alcalino-tartro-cuivrique (FEHLING A+ FEHLING B) à l'état d'oxyde cuivreux = Cu_2O (Cu^+).

La quantité d'oxyde cuivreux est toujours proportionnelle à la quantité de sucre réducteur, selon une table donne la correspondance entre la masse de cuivre et la masse des sucres réducteur.

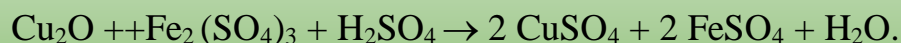
Cette méthode consiste à un dosage en plusieurs étapes successives :

1. Une quantité des sucres réducteurs réagit avec les ions cuivriques (II) (Cu^{2+}) en excès pour former un précipité rouge brique. Selon l'équation suivante :



L'intensité de coloration rouge est proportionnelle à la concentration des sucres réducteurs contenus dans les échantillons analysés, cette méthode est colorimétrique.

2. L'oxyde cuivreux après filtration est traité par sulfate ferrique ($\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$) qu'il réduit quantitativement à l'état de sulfate ferreux (FeSO_4) d'après la réaction suivante :



3. Le sulfate ferreux qui est proportionnelle à la quantité de Cu_2O , est dosé par une solution de permanganate de Potassium (KMnO_4) selon l'équation suivante

Il est nécessaire de réaliser une défécation de la solution de miel avant d'effectuer le dosage de ces sucres.



➤ Défécation des solutions

Les glucides à doser sont généralement mélangés avec d'autres substances en solution ou en suspension comme eux et peuvent prévenir ou fausser le dosage des sucres. Ces substances étrangères doivent être éliminées sans modifier le taux de glucides ; cette clarification est obtenue en provoquant la formation d'un précipité dans le liquide, opération appelée « défécation ». Les agents clarifiants doivent donc avoir une action sélective. Certains, tel l'acétate de plomb, agisse par précipitation (sel de plomb) et partiellement par adsorption. Les réactifs de Carrez (hexacyanoferrate II de K et sulfate de Zn) agissent uniquement par adsorption. Ils provoquent la formation d'un précipité à "l'état naissant" entraînant les substances étrangères par "occlusion".

➤ Protocole

1. Défécation du miel (Mise en solution)

Dans une fiole jaugée de 200mL, a été introduit dans l'ordre 20mL de miel, puis 2mL de solution carrez I (d'hexacyanoferrate II de potassium à 15 %) et 2mL de carrez II (l'acétate de Zinc à 30%). 200mL d'eau distillée ont été rajouté puis agité. Après 15 mn, la solution est filtrée.

2. Précipitation d'oxyde de cuivre Cu_2O

Dans une fiole conique de 150 mL, a été introduit 10 mL de filtrat obtenu et 10 mL d'eau distillée. 20 mL de solution de Fehling A (la solution cuivrique) et 20 mL de solution de Fehling B (la solution tartro-sodique) ont été ajoutés à la solution puis agité . La solution a été portée à l'ébullition modérée pendant 3 mn exactement, puis refroidir la fiole.

3. Lavage du précipité d'oxyde de cuivre (Cu_2O) :

Après refroidissement, la fiole est agitée pour bien mélanger son contenu. La solution est versée dans un tube à centrifuger, puis Cu_2O est laissé à décanter par centrifugation. Le liquide a été filtrer surnageant sur un filtre spécial monté sur une fiole à succion, il est conseillé d'entraîner le moins de précipité possible et de ne jamais le laisser en contact avec l'air en le maintenant toujours recouvert d'une couche de liquide. L'opération a été recommencé dans le même tube à centrifuger, jusqu'à ce qu'il reste le minimum de solution dans la fiole. 20 mL d'eau distillée récemment bouillie et refroidie a été versé dans la fiole d'Erlenmeyer, l'agiter pour laver le précipité et faire décanter

comme précédemment. Ce lavage a été répété 3 à 4 fois, puis vidé et rincé soigneusement la fiole à succion jusqu'à ce que les eaux de lavage soient incolores. Le filtrat a été jeté.

4. Oxydation d'oxyde de cuivre (Cu_2O) par une solution ferrique (Fe^{3+})

Dans le tube contenant le précipité de Cu_2O (sous une couche d'eau) 20 mL de sulfate ferrique a été ajouté. Le mélange a été agité à l'aide d'une baguette en verre jusqu'à dissolution totale, la solution présente une coloration verte foncée (présence de fer II). La solution a été agitée et versée sur le filtre pour dissoudre au passage le peu de Cu_2O retenu sur le filtre.

5. Dosage du sel ferreux formé par KMnO_4 à (0,1 N)

La solution de sulfate ferreux aussi obtenue a été dosée par une solution titrée de KMnO_4 jusqu'à teinte rose stable quelques secondes (10 à 20 s). Le volume équivalent a été noté.

✓ Conditions opératoires

- Le précipité n'est jamais en contact avec l'air pour éviter son oxydation.
- Utiliser de l'eau distillée bouillie pour éviter l'oxydation par l' O_2 dissout dans l'eau.
- Laver abondamment le précipité pour éliminer le tartrate, sinon le virage avec le permanganate ne sera pas visible.

L'opération est faite pour les 3 miels utilisés (miel de thym ; miel toutes fleurs ; miel semi-synthétique).

➤ Expression des résultats

Utilisation de la table de Bertrand : En déduire la masse du glucose contenue dans la prise d'essai à l'aide de la table de Bertrand à partir de la quantité d'oxyde cuivreux

$$M_{\text{cu}} = 63,54 \cdot 0,1 \cdot V$$

Avec :

- **63.53** : constante
- **M_{cu}** : Masse du cuivre
- **0,1** : normalité de KMnO_4
- **V** : Volume équivalent

2.2. Préparations des miels additionnés

Nos préparations sont basées sur l'addition des différents types de miels utilisés à l'huile essentielle de thym, à l'exception de miel de thym qui a été utilisé sans être additionnés avec l'HET (Miel toute fleur additionné et miel semi-synthétique additionné).

L'HET utilisées au cours de notre travail est choisi en raison de leur puissant potentiel thérapeutique (anti- infectieux, antiseptiques, cicatrisant, et antiinflammatoire.) et de leurs constituants volatils, en particulier le thymol (**Daoudi, 2016**). Cette huile est dermocaustiques (agressives pour la peau). Il faudra donc la diluer à 5% dans une huile végétale neutre ou dans du miel pour toute utilisation cutanée (**Mahé, 2019**).

➤ Miel de thym

Un volume de 20 mL de miel de thym a été préparé et conservé dans des tubes en verre stériles hermétiquement à température ambiante et à l'abri de la lumière jusqu'à son utilisation. Avant chaque utilisation, le miel doit être préchauffés dans un bain-marie pour des raisons pratiques car il a une texture épaisse et visqueuse.

➤ Miel toutes fleurs additionné à l'HE de thym

Un volume de 1 mL d'HE de thym a été ajouté (correspondant à 5 % du volume total) à 19 mL de miel toutes fleurs (correspondant à 95 % du volume total) dans un tube stérile hermétiquement pour éviter toute évaporation de l'HE. Ensuite, le mélange a été chauffé dans un bain-marie tout en mélangeant continuellement jusqu'à homogénéisation. Il a été hermétiquement conservé à température ambiante et à l'abri de la lumière jusqu'à son utilisation. Avant chaque application, le mélange doit être agité et réchauffé si nécessaire.

Plusieurs tubes ont été préparés en fonction de la quantité requise pour réaliser ce travail.

➤ Miel semi-synthétique de romarin additionné à l'HE de thym

Ce mélange a été préparé et conservé de la même façon que celui du miel toutes fleurs additionné à l'HE de thym.

Plusieurs tubes ont été préparés en fonction de la quantité requise pour réaliser ce travail.

2.3. Etudes *in vitro*

Au vu des multiples propriétés biologiques de miel et des huiles essentielles, ils ont été utilisés depuis des millénaires. Jusqu'au début du vingtième siècle, lors de la découverte des antibiotiques leurs utilisations ont été destitués (**Lequet, 2010**). Néanmoins, le développement rapide de la résistance à ces antibiotiques est devenu un problème majeur dans la médecine moderne, qui a conduit à un accroissement d'intérêt dans les thérapies naturelles, à voir les propriétés curatives du miel et des huiles essentielles (**Baltrusaityte et al., 2007 ; Buchbauer, 2010**).

2.3.1. Tests d'évaluation de sensibilité en milieu solide

2.3.1.1. Tests d'évaluation de sensibilité aux miels et aux miels additionnés

Afin de tester la sensibilité des souches bactériennes et fongiques (*Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* ; *Escherichia coli* et *Candida albicans*) vis-à-vis le miel de thym, miel toutes fleurs, miel semi synthétique et miels additionnés, nous avons opté à la méthode de diffusion sur milieu gélosé.

➤ Coulage des milieux de culture

Les milieux de culture préalablement préparés en flacon de 250 ml (milieu MH et Sabouraud), ont été liquéfiés dans l'autoclave à 120°C pendant 20 min puis transféré dans un bain marie à 60°C pour les maintenir en état liquide. Fait sortir un flacon et laisser refroidir légèrement, pour l'utilisation.

En présence de bec benzène, le milieu a été coulé dans des boîtes de pétries stériles et préalablement étiquetés (environ 22 mL pour chaque boîte). Laisser les milieux en boîte se solidifier. Puis les boites ont été incubé dans l'étuve pendant 24h à 35°C, afin d'éliminer les boites contaminées.

➤ Préparation d'inoculum

À partir d'une culture pure de 24 h, soit de *Staphylococcus aureus*, de *Pseudomonas aeruginosa*, d'*Escherichia coli* ou de *Candida albicans*, sur un milieu d'isolement approprié, quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques ont été prélevées et mises en suspension dans 5 mL de l'eau physiologique stérile à 0.9 %. La suspension bactérienne a été bien homogénéisée à l'aide d'un vortex et standardisée à 0.5 MacFarland en ajoutant soit de la culture bactérienne à la suspension, soit de l'eau physiologique stérile.

➤ **Diffusion sur gélose**

Dans une zone stérile, des boîtes Pétri contenant un milieu approprié (milieu MH pour *S. aureus* ; *P. aeruginosa* ; *E. coli* et sabouraud pour *C. albicans*) ont étéensemencées en trompant un écouvillon stérile dans l'inoculum et l'essorer en le pressant contre la paroi interne du tube, afin de le décharger au maximum. Des stries serrées ont été réalisées sur la surface de la gélose. L'opération a été répétée deux fois en tournant la boîte à 60° à chaque fois, finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose. Dans le cas où l'on ensemence une nouvelle boîte, l'écouvillon a été rechargé à chaque fois. A l'aide d'une pipette pasteur stérile ; une goutte de l'échantillon a été prélevé de chaque échantillons à tester (miel de thym, miel toutes fleurs, miel semi-synthétique, miels additionnés) et posé délicatement sur la surface du milieu ensemencé. Les essais ont été répétés trois fois pour chaque échantillon. La pipette pasteur a été changée après chaque ensemencement. Les boîtes ont été incubées dans l'étuve à 35 °C pendant 24 h à l'étuve.

2.3.1.2. Tests d'évaluation de sensibilité à l'huile de thym

On a opté la méthode de diffusion des disques sur gélose, afin d'examiner la sensibilité des souches à tester (*Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* ; *Escherichia coli* et *Candida albicans*) vis-à-vis l'huile de thym.

➤ **Coulage des milieux de culture**

Le coulage des milieux a été fait de la même manière que ceux préparés pour les tests d'évaluation de sensibilité aux miels et aux miels additionnés.

➤ **Préparation d'inoculum**

Les suspensions utilisées ont été préparées et standardisées (0,5 MacFarland) de la même façon que celles préparées pour les tests d'évaluation de sensibilité aux miels et aux miels additionnés

➤ **Diffusion sur gélose**

L'ensemencement des boîtes Pétri avec les inocula, a été fait de la même façon dans la Méthode de diffusion sur gélose. Un disque de papier Buvarde stérile de 9 mm de diamètre a été déposé délicatement au centre de la boîte, à l'aide d'une pince stérile. Un volume de 100 µL de l'huile essentielle de thym a été prélevé par la micropipette et déposé sur le disque. Les boîtes ont été incubées dans l'étuve pendant 24 h à 35°C.

➤ **Expression des résultats**

La lecture de ces tests se fait par la mesure de diamètre de la zone d'inhibition. Plus le diamètre de cette zone est grand, plus la souche est sensible à l'échantillon. Plus, il est petit, plus elle est résistante.

Les résultats enregistrés comme diamètre moyen de trois répétitions.

2.3.2. Évaluation de l'activité antimicrobienne en milieu liquide

La sensibilité des souches microbiennes utilisé (*Staphylococcus aureus* ; *Pseudomonas aeruginosa* ; *Escherichia coli* ; *Candida albicans*) vis-à-vis les différents échantillons a été tester par la méthode des dilutions en réalisant des concentrations de 75, 50, 25 et 10%.

➤ **Préparation d'inoculum**

Les suspensions utilisées ont été préparés et standardisé (0,5 MacFarland) de la même façon que celles préparées pour L'évaluation de l'activité antimicrobienne en milieu solide.

➤ **Préparation des dilutions**

A proximité d'un bec benzène, à l'aide d'une seringue stérile, un volume adéquat à des concentrations prédéfinies (75, 50, 25 et 10%) (**tableau.03**) a été prélevé de chaque échantillon à tester (miel de thym, miel toutes fleurs, miel semi-synthétique, miels additionnés, huile essentielle de thym) et ajouté aux tubes qui contiennent le milieu de culture approprié (milieu TSB pour *S. aureus*, *P. aeruginosa* et *E. coli*. Le milieu sabouraud pour *C. albicans*). Les tubes ont été préalablement étiquetés. Une incubation de 24h à 35°C dans l'étuve a été effectuée pour contrôler la stérilité de nos échantillons. Trois répétitions ont été réalisées pour chaque souche et chaque échantillon.

Dans un deuxième temps, les tubes contenant le milieu de culture et les échantillons ont étéensemencés avec un volume adéquat des différents inocula déjà préparés à des concentrations prédéfinies (**tableau 4**). Puis incubés à 35°C pendant 24h et après 48h.

Des témoins positifs ont été préparé, trois tubes contenant milieu TSB pour *S. aureus*, *P. aeruginosa* et *E. coli*.et un tube contient milieu Sabouraud pour *C. albicans*.

En parallèle, des témoins négatifs ont été préparé par addition au tube contenant le milieu de culture un volume adéquat à des concentrations prédéfinies des échantillons testés.

Chaque concentration a un volume adéquat d'inoculum et d'échantillons ou de milieu de culture, ces volumes sont mentionnés dans le tableau suivant :

Tableau 3: Différents volumes utilisés pour chaque concentration

Concentrations	Volumes des milieux de culture	Volume des échantillons testés		Volume de l'inoculum	Totale
		miels et miels additionnés	HET		
75 %	0,625 mL	1,87 mL	0,1 mL	0,1 mL	2,6
50 %	1,25 mL	1,25 mL	0,1 mL	0,1 mL	2,6
25 %	1,875 mL	0,645 mL	0,1 mL	0,1 mL	2.6
10 %	2,25 mL	0,25 mL	0,1 mL	0,1 mL	2.6

➤ Expression des résultats

La lecture des résultats a été faite à l'œil nu et comparée aux témoins négatifs et positifs. L'apparition d'un trouble dans un milieu est interprétée comme un résultat positif, due à la croissance bactérienne dans le milieu. L'absence de trouble est interprétée comme un résultat négatif, due à l'absence de la croissance bactérienne.

2.4. Etude *in vivo*

Notre travail est basé sur l'étude expérimentale des brûlures selon des méthodes décrites par plusieurs recherches scientifiques avec quelques modifications. Avant chaque expérience une vérification de l'absence de jetage ou de blessure quelconque a été effectuée de façon à s'en assurer de la bonne santé des animaux. Aucune restriction hydrique ou alimentaire n'est réalisée durant la phase préopératoire.

➤ Répartition en groupes

Les souris ont été pesées et réparties en 4 lots expérimentaux dans 4 cages, chaque souris a son propre traitement sauf pour le modèle témoin (**Tableau.04**).

Tableau 4: Répartition des lots de souris selon les différents traitements pour l'étude des brûlures.

Nom de lot	Nombre de souris	Traitement
<i>Témoin</i>	1	Non traiter
<i>MT</i>	1	Miel de thym
<i>MTF + HE</i>	1	Miel toutes fleurs + HE
<i>MSS + HE</i>	1	Miel semi-synthétique + HE

➤ Protocole d'induction des brûlures

- Les souris ont été pesées et leur poids a été enregistré.
- Épilation à l'aide d'une lame de rasoir stérile sur la région dorsale.
- Après rasage, les souris ont subi une anesthésie générale par voie respiratoire, on les place dans une boîte en plastique transparente munie d'un couvercle propre et désinfecté avant chaque utilisation. Un tampon de coton imbibé d'éther a été utilisé pour induire l'anesthésie, en ajuste une quantité suffisante d'éther, une surveillance attentive a été assurée pour éviter une anesthésie prolongée ou la mort des souris.
- Les brûlures ont été réalisées sur la peau de la région dorsale de chaque animal ; le choix de cette région est motivé par la facilité d'accès, tant pour la réalisation de la brûlure que pour

le suivi de l'évolution de la plaie et le relevé des mensurations. La localisation des brûlures à ce niveau prévient également l'auto léchage des plaies par les animaux.

- Les brûlures du 2ème degré superficiel ont été réalisées sur le dos préalablement rasé de chaque animale. Ont été réalisées grâce à un instrument cylindrique en métal avec une base ronde de 15 mm de diamètre. Il a été chauffé dans de l'eau bouillante. Après chauffage, elle est retirée de l'eau. Rapidement essuyée, puis appliquée sans pression pendant 15 secondes au niveau du lieu d'élection. Afin de provoquer des brûlures de second degré (une seule brûlure par souris).



Figure 8: A) Induction de la brûlure, B) Aspect de la brûlure immédiatement après induction.

➤ Application des traitements

Après l'induction des brûlures, les animaux des lots ont été traités de manière régulière tous les jours à l'exception des week-ends jusqu'à cicatrisation totale, chacun avec leur traitement spécifique mentionné dans le **Tableau 4**.

➤ Expression des résultats

La lecture des résultats se fait par la mesure du diamètre de la zone brûlée des souris, d'une manière régulière chaque trois jours, à l'exception des week-ends, pendant 20 jours.

Chapitre 2 : Résultats et Discussion

1. Résultats

1.1. Analyses physico-chimique des miels

Le tableau suivant présente les résultats obtenus suite à l'analyse physico-chimique de nos échantillons de miel ainsi que les normes relatives des différents paramètres selon le Codex Alimentarius :

Tableau 5: Résultats de l'analyse physico-chimique des différents miels

Critères de qualité du miel	Miel de thym	Miel toutes fleurs	Miel semi-synthétique	Norms Codex
Acidité libre (meq/kg)	20 meq/kg	10 meq/kg	10 meq/kg	≤ 50 meq/kg
pH	3,71	4,58	4,09	3,5 - 4,5
Conductivité électrique (mS/cm)	0,4 mS /cm	0,2 mS/cm	0,4 mS/cm	≤ 0,8 mS/cm
Matière sèche	92%	93%	93%	/
glucides réducteurs	46g	50,96g	53,55g	≥ 45 g/100 g

Les résultats obtenus montrent que le miel semi-synthétiques et le miel toutes fleurs ont une acidité identiques (10 meq/kg), inférieure à l'acidité de miel de thym (20 meq/kg).

Les résultats de pH confirment que les miels étudiés sont tous acides, dont le miel de thym est le plus acide avec une valeur de 3,71 suivie du miel semi-synthétique avec un pH égale à 4,09, dernièrement le miel toutes fleurs avec 4,58.

La conductivité électrique du miel semi-synthétique et celui de thym est identique, elle est d'une valeur de 0,4 mS /cm. Par ailleurs, elle est supérieure à celle du miel toutes fleurs (0,2 mS/cm).

Les résultats de la matière sèche des miels sont compris entre 92% (miel de thym) et 93% (miel semi-synthétiques et le miel toutes fleurs).

Le miel semi-synthétique à une teneur élevée en sucres réducteurs avec une valeur de 53,55g, suivie de miel toutes fleurs (50,96g), et en dernier le miel de thym (46g).

1.2. Etude *in vitro*

1.2.1. Tests d'évaluation de sensibilité en milieu solide

1.2.1.1. Test d'évaluation de sensibilité aux miels et aux miels additionnés

La méthode de diffusion sur gélose est utilisée afin d'évaluer la sensibilité des souches microbiennes (*Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* ; *Escherichia coli* ; *Candida albicans*) vis-à-vis le miel de thym, miel toutes fleurs, miel semi synthétique et miels additionnés (MTF + HET et MSS + HET). Celle-ci se traduit par l'apparition d'une zone d'inhibition autour de la zone de dépôt de l'échantillon étudié. La lecture des résultats a été faite par la mesure des diamètres des zones d'inhibitions (mm). Les mesures des diamètres des zones d'inhibition sont mentionnées dans le **tableau 12** et représenté dans la **figure 10**, leurs auréoles sont illustrées dans les **Figure 11 et 12**.

Tableau 7: Diamètres des zones d'inhibition

Echantillons testés	Souches	Diamètre ± 0.2 (mm) (Moy de 3 répétitions)	La nature de la souche
MT	<i>Staphylococcus aureus</i>	0	Sensibilité absente
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	45	Sensibilité remarquable
	<i>Escherichia coli</i>	36	Sensibilité remarquable
	<i>candida albicans</i>	0	Sensibilité absente
MTF	<i>Staphylococcus aureus</i>	0	Sensibilité absente
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	35	Sensibilité remarquable
	<i>Escherichia coli</i>	38	Sensibilité remarquable
	<i>candida albicans</i>	0	Sensibilité absente
MSS	<i>Staphylococcus aureus</i>	0	Sensibilité absente
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	41	Sensibilité remarquable
	<i>Escherichia coli</i>	23	Sensibilité remarquable
	<i>candida albicans</i>	0	Sensibilité absente
HET	<i>Staphylococcus aureus</i>	51	Sensibilité remarquable
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	77	Sensibilité remarquable
	<i>Escherichia coli</i>	51	Sensibilité remarquable
	<i>candida albicans</i>	51	Sensibilité remarquable
MTF + HET	<i>Staphylococcus aureus</i>	23	Sensibilité remarquable
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	10	Sensibilité remarquable
	<i>Escherichia coli</i>	36	Sensibilité remarquable
	<i>candida albicans</i>	28	Sensibilité remarquable
MSS + HET	<i>Staphylococcus aureus</i>	17	Sensibilité remarquable
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	10	Sensibilité remarquable
	<i>Escherichia coli</i>	19	Sensibilité remarquable
	<i>candida albicans</i>	35	Sensibilité remarquable

MT : miel d thym. **MTF** : miel toutes fleurs. **MSS** : miel semi -synthétique .
HET : huile essentielle de thym.

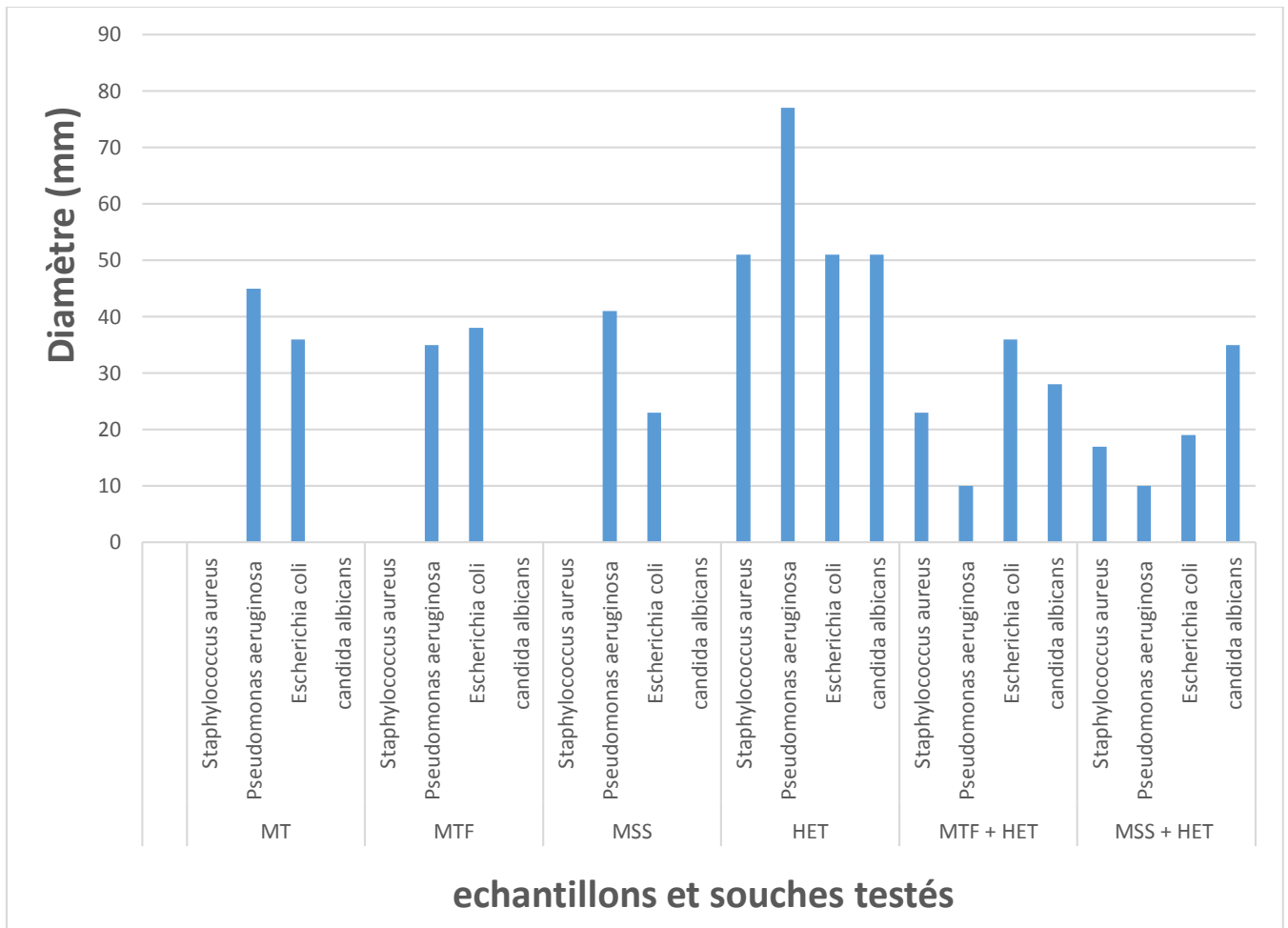


Figure 10: Histogramme représentatif des diamètres des zones d'inhibition des miel et miels additionnés vis-à-vis les souches microbienne utilisées.

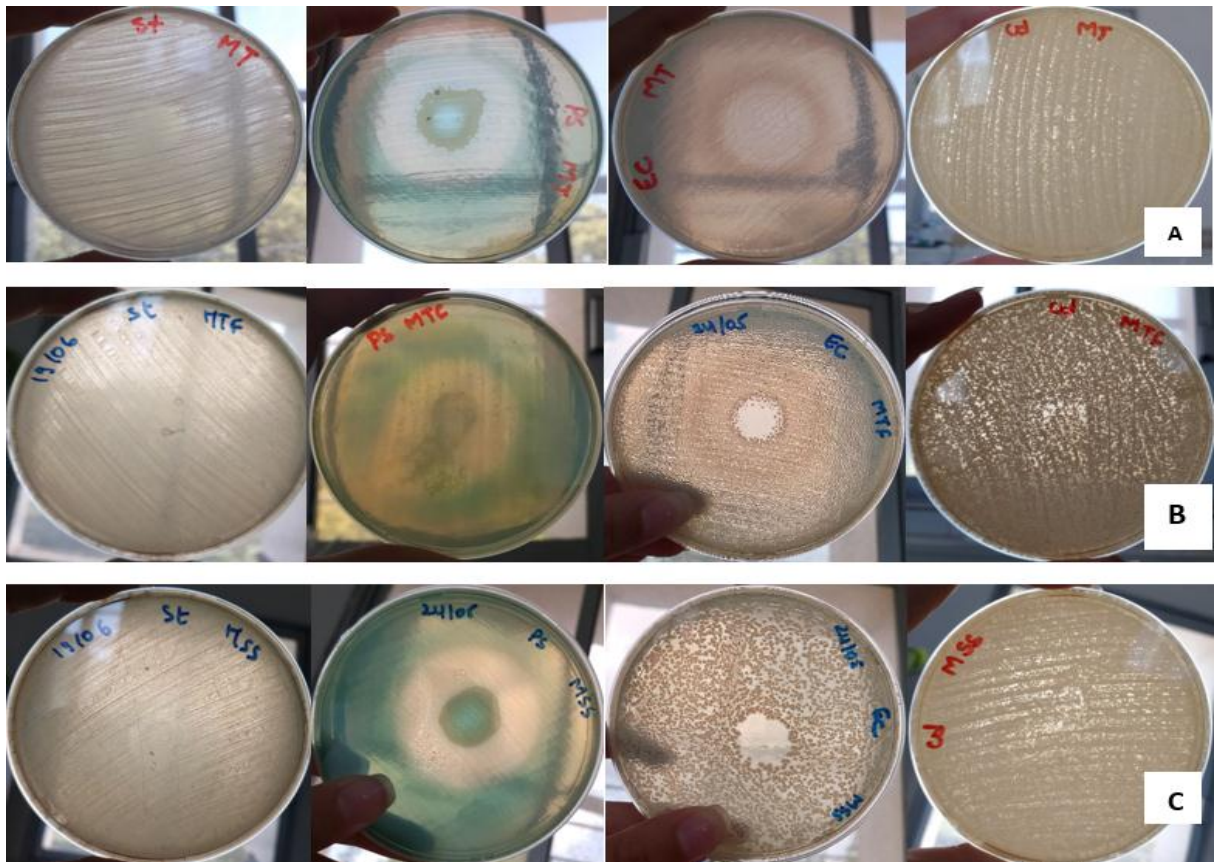


Figure 11: Zones d'inhibition obtenues par l'action des différents miels (A : MT , B : MTF, C : SSM) vis-à-vis de *Staphylococcus aureus* ; *Pseudomonas aeruginosa* ; *Escherichia coli* ; *Candida albicans*, par ordre.

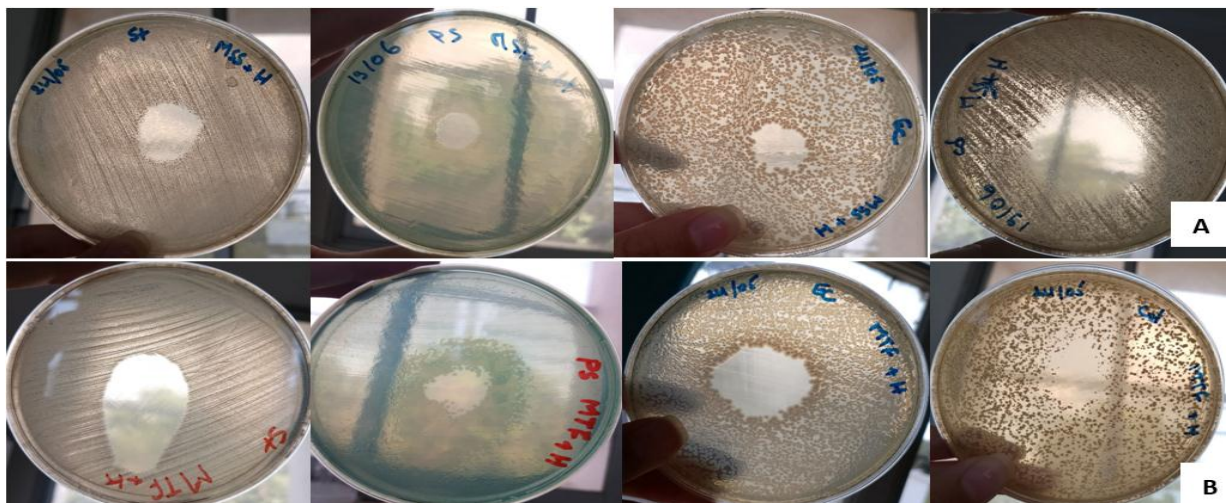


Figure 12: Zones d'inhibition obtenues par l'action des différents miels additionnés (A : SSM + HET, B : MTF + HET) vis-à-vis de *Staphylococcus aureus* ; *Pseudomonas aeruginosa* ; *Escherichia coli* ; *Candida albicans*, par ordre.

L'analyse du **tableau 12** et des **figures 10,11 et 12** montrent que le miel du thym, le miel toutes fleurs et le miel semi-synthétique n'ont aucune activité inhibitrice contre *Staphylococcus aureus* et *Candida albicans*, tandis qu'ils ont un pouvoir antibactérien puissant et variable vis-à-vis *Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli*.

Le miel de thym présente le potentiel inhibiteur le plus élevé vis-à-vis *Pseudomonas aeruginosa* avec une moyenne de diamètre de 45mm, supérieurs à celui de miel semi-synthétique (41 mm), qui à son tour supérieur à celui de miel toutes fleurs (35 mm) [MT > MSS > MTF].

Le miel toutes fleurs et celui de thym ont un pouvoir inhibiteur convergent avec une moyenne de diamètre de, par ordre, 38 mm et 36 mm vis-à-vis *Escherichia coli*. Alors que, ce dernier est supérieurs à celui de miel semi-synthétique (23 mm) [MTF ≥ MT > MSS].

L'analyse de **tableau 12** et des **figures 10,11 et 12** engendrent que les miels additionnés à l'huile du thym entraînent une activité antimicrobienne contre toutes les souches utilisées, voir même, les souches qui n'ont pas été inhibés par les miels pure sans additionnement.

Le miel toutes fleurs additionné d'huile de thym présente le pouvoir inhibiteur le plus élevé vis-à-vis la souche d'*Escherichia coli* avec une moyenne de diamètre de 36mm, qui est supérieur à celui vis-à-vis *Candida albicans* (28mm), qui est à son tour supérieure à celui vis-à-vis *Staphylococcus aureus* (23mm) et vis-à-vis *Pseudomonas aeruginosa* (10mm).

Le miel semi-synthétique additionné d'huile de thym, aussi, présente un effet inhibiteur vis-à-vis la souche *Candida albicans* avec une moyenne de diamètre de 35mm, noté comme le plus élevé. Ce dernier, est enregistré avec un diamètre d'ordre de 19mm vis-à-vis *Escherichia coli*, de 17mm vis-à-vis *Staphylococcus aureus*, et de 10mm vis-à-vis *Pseudomonas aeruginosa*.

1.2.1.2. Tests d'évaluation de sensibilité à l'HE de thym

L'activité antimicrobienne d'HE de thym (HET), a été évaluées par la méthode des disques sur un milieu gélosé. Cette méthode permet de déterminer l'action de l'huile de thym vis-à-vis les souches microbiennes testées, celle-ci se traduit par l'apparition d'une zone d'inhibition autour du disque de papier préalablement imprégné de l'échantillon étudié. La lecture des résultats a été faite par la mesure des diamètres des zones d'inhibitions (mm). Les mesures des diamètres des zones

d'inhibition sont regroupées dans le **tableau 12** et représenté dans la **figure 10**, leurs auréoles sont illustrées dans la **Figure 13**.

Ces résultats affirment que l'HET a une forte activité antimicrobienne pour contrôler et inhiber les agents pathogènes.

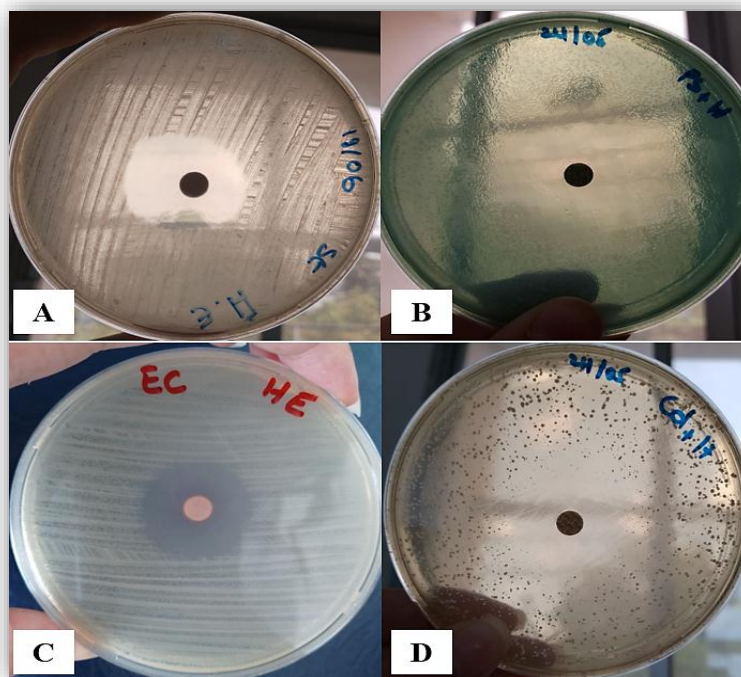


Figure 13: Zones d'inhibition obtenues par l'action de l'huile essentielle vis-à-vis les souches testés (A: *Staphylococcus aureus* ; B : *Pseudomonas aeruginosa* ; C : *Escherichia coli* ; D: *Candida albicans*)

L'analyse de **tableau 12** et des **figures 10 et 13** montrent que l'huile de thym exerce une activité inhibitrice vis-à-vis toutes les souches testées (*Staphylococcus aureus* ; *Pseudomonas aeruginosa* ; *Escherichia coli* ; *Candida albicans*) avec un pouvoir variable.

Le potentiel inhibiteur le plus élevé est observé vis-à-vis *Pseudomonas aeruginosa* avec une moyenne de diamètre de 77mm, alors, qu'il est identique vis-à-vis *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Candida albicans* qui est identiques avec une moyenne de diamètre de 51mm.

1.2.2. Test d'évaluation de sensibilité en milieu liquide

Les résultats de l'évaluation de la sensibilité des souches utilisées vis-à-vis les échantillons testés dans un milieu liquides ont été résumés dans les tableaux suivants (**tableau 8, 9, 10, 11, 12, 13**).

Tableau 8: Résultats d'incubation des témoins positifs

Les témoins	Résultats
<i>E. coli</i>	+
<i>S. aureus</i>	+
<i>P. aeruginosa</i>	+
<i>C. albicans</i>	+

(+) : croissance bactérienne

(-) : pas de croissance bactérienne

Tableau 9: Résultats d'incubation des suspensions microbiennes avec l'huile essentielle de thym

Echantillon	Résultats	
	24H	48H
Témoin négatif (-)	-	-
<i>E. coli</i>	-	-
<i>S. aureus</i>	-	-
<i>P. aeruginosa</i>	-	-
<i>C. albicans</i>	-	-

(+) : croissance bactérienne

(-) : pas de croissance bactérienne

Tableau 10: Incubation de la suspension de la bactérie *E. coli* dans des milieux contenant différentes concentrations des miels et des miels additionnés à l'huile de Thym

			Les concentrations des miels et miels additionnés								
			10 %		25 %		50 %		75 %		
			24 H	48H	24 H	48 H	24H	48H	24H	48H	
Les échantillons	MTF	T (-)	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		E	+	+	-	+	-	-	-	-	-
	MTF + HE	T (-)	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		E	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	MSS	T (-)	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		E	+	+	-	+	-	-	-	-	-
	MSS + HE	T (-)	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		E	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	MT	T (-)	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		E	+	+	-	+	-	-	-	-	-

T (-) : Témoin négatif

(+) : croissance bactérienne

E : Echantillon

(-) : pas de croissance bactérienne

Tableau 11: Incubation de la suspension de la bactérie *S. aureus* dans des milieux contenant différentes concentrations des miels et des miels additionnés à l'huile de Thym

			Les concentrations des miels et miels additionnés								
			10 %		25 %		50 %		75 %		
			24 H	48H	24 H	48 H	24H	48H	24H	48H	
Les échantillons	MTF	T (-)	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		E	+	+	-	+	-	-	-	-	-
	MTF + HE	T (-)	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		E	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	MSS	T (-)	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		E	+	+	-	+	-	-	-	-	-
	MSS + HE	T (-)	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		E	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	MT	T (-)	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		E	+	+	-	-	-	-	-	-	-

T (-) : Témoin négatif

(+) : croissance bactérienne

E : Echantillon

(-) : pas de croissance bactérienne

Tableau 12: incubation de la suspension de la bactérie *P. aeruginosa* dans des milieux contenant différentes concentrations des miels et des miels additionnés à l'huile de Thym

			Les concentrations des miels et miels additionnés								
			10 %		25 %		50 %		75 %		
			24 H	48H	24 H	48 H	24H	48H	24H	48H	
			MTF		MTF + HE		MSS		MSS + HE		MT
Les échantillons	MTF	T (-)	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		E	+	+	-	-	-	-	-	-	-
	MTF + HE	T (-)	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		E	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	MSS	T (-)	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		E	+	+	-	-	-	-	-	-	-
	MSS + HE	T (-)	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		E	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	MT	T (-)	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		E	+	+	-	-	-	-	-	-	-

T (-) : Témoin négatif

(+) : croissance bactérienne

E : Echantillon

(-) : pas de croissance bactérienne

Tableau 13: incubation de la suspension de la levure *C. albicans* dans des milieux contenant différentes concentrations des miels et des miels additionnés à l'huile de Thym

			Les concentrations des miels et miels additionnés								
			10 %		25 %		50 %		75 %		
			24 H	48H	24 H	48 H	24H	48H	24H	48H	
Les échantillons	MTF	T (-)	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		E	+	+	-	+	-	-	-	-	-
	MTF + HE	T (-)	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		E	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	MSS	T (-)	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		E	+	+	+	+	-	-	-	-	-
	MSS + HE	T (-)	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		E	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	MT	T (-)	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		E	+	+	-	+	-	-	-	-	-

T (-) : Témoin négatif

(+) : croissance bactérienne

E : Echantillon

(-) : pas de croissance bactérienne

1.3. Études *in vivo*

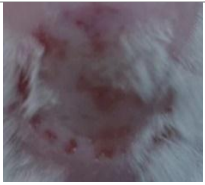



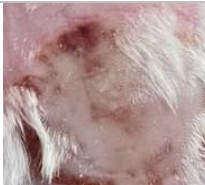











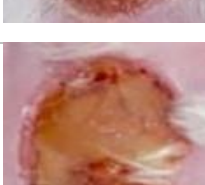


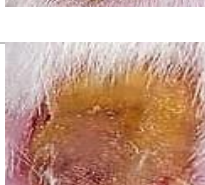







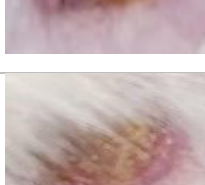
1.3.1. Évolution des bruleurs

L'étude de l'effet cicatrisant des miels et des miels additionnés se traduit par la mesure de diamètre de la zone brûlée de chaque souris et évaluer leurs progressions pendant 20 jour, les résultats des diamètres sont illustrés dans le tableau suivant :

Tableau 14: Diamètres des brûlures chez les souris dans les quatre lots expérimentaux.

<i>Jours</i>	<i>Diamètres des brûlures (cm)</i>			
	Témoins	MT	MTF + HET	MSS + HET
J0	1,5	1,5	1,5	1,5
J3	1,4	1,3	1,3	1,4
J6	1,2	1,2	1,1	1,2
J9	1	0,8	0,9	0,6
J13	0,8	0,4	0,7	0,3
J16	0,6	0,1	0,5	0,1
J20	0,4	0	0,2	0

Tableau 15: Evaluation de la cicatrisation par photographie des brulures

	Témoins	MT	MTF + HET	MSS + HET
J0				
J3				
J6				
J9				
J13				
J16				
J20				

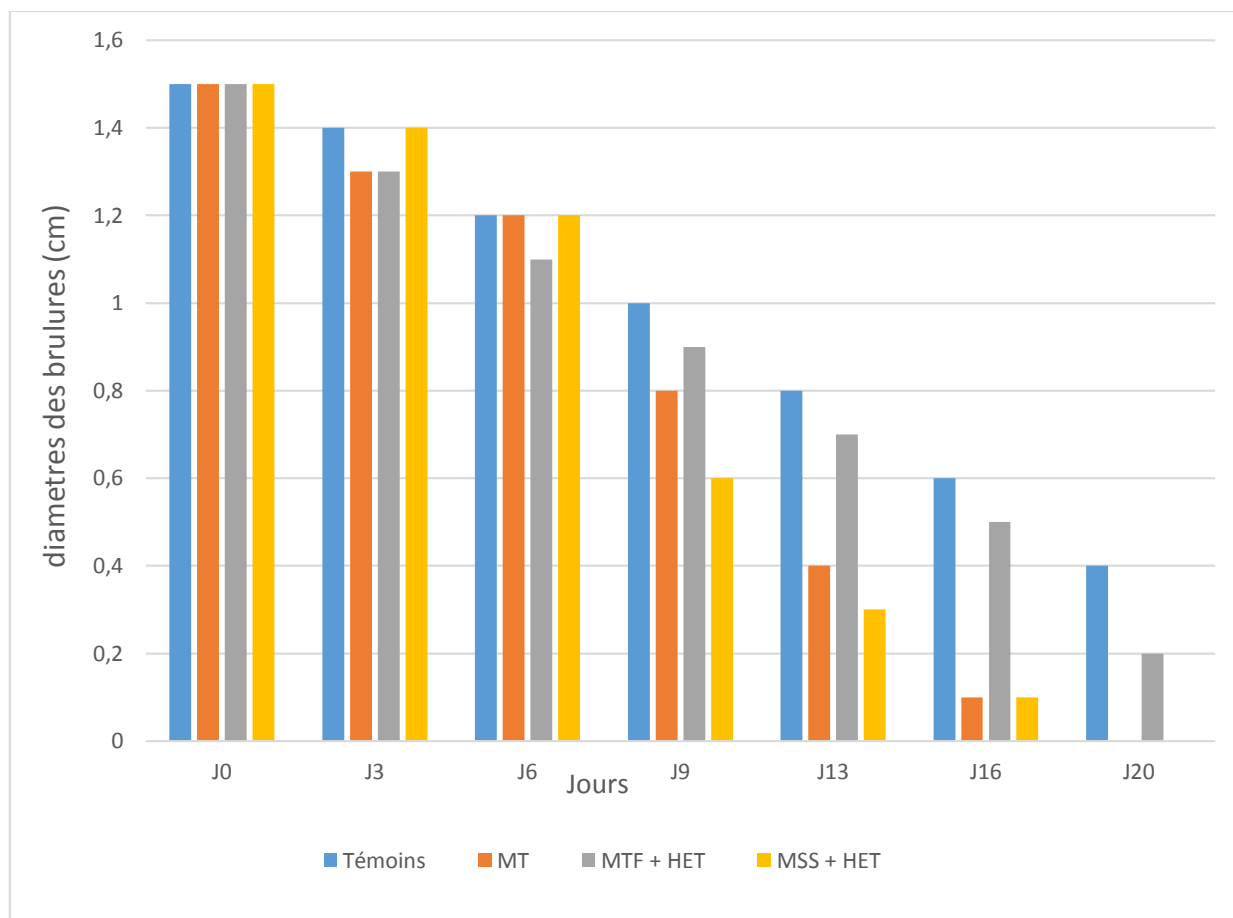


Figure 14: Histogramme représentatif des diamètres des brûlures chez les souris dans les quatre lots expérimentaux.

Au cours de la période de cicatrisation de 20 jours et selon un intervalle du temps précis, les diamètres des brûlures ont été régulièrement mesurés et photographiés (**tableau 19 et 20**).

L'évaluation de l'évolution de diamètre de chaque brûlure est réalisée sur les animaux traités et non traités (témoins), la comparaison entre les différents groupes est indiquée dans le **tableau 19 et 20 et Figures 14**.

Les résultats de notre étude, montrent aucune modification significative des diamètres des brûlures n'est observée durant les trois premiers jours (**Tableau 19, Figure 14**).

L'évolution du processus cicatriciel des brûlures observée après les périodes de 3, 6, 9, 13, 16 et le 20^{ème} jour du traitement clairement indique (**tableau 19 et 20 et Figures 14**), que le diamètre des brûlures est potentialisée dans les groupes traités avec le miel semi-synthétiques additionnés (avec les valeurs : 1,2 ; 0,6 ; 0,3 ; 0,1 ; 0 cm), pour le miel de thym (avec les valeurs : 1,2 ; 0,8 ; 0,4 ; 0,1 ;

0 cm), et miel de toutes fleurs additionnés l'huile de thym (avec les valeurs : 1,1 ; 0,9 ; 0,7 ; 0,5 ; 0,2 cm),

Entre le 6^{ème} et le 13^{ème} jour, les diamètres des brûlures des souris traitées avec le miel semi-synthétiques additionnés à l'huile essentielle de thym sont, à chaque fois, diminué de 50%. Cependant, les diamètres des brûlures des souris des autres lots expérimentaux sont diminués d'une fréquence moins élevée.

Entre le 16^{ème} et le 20^{ème} jour, les diamètres des brûlures des souris traitées avec le miel semi-synthétiques additionnés à l'huile essentielle de thym et ceux-ci traitées avec le miel de thym, ont devenue nulles. Tandis que, pour les diamètres des témoins et miel toutes fleurs additionnés à l'huile essentielle de thym, sont de l'ordre de 0,4 cm et 0,2 cm.

Les observations visuelles quotidiennes indiquent, l'absence des signes d'infection autour de la brûlure chez les souris contrôlées et traitées durant la même période 3-20 jours de l'expérimentation.

2. Discussion

- Les résultats des propriétés physico-chimiques de nos échantillons d'un miel à un autres :

Les glucides forment la plus grande partie du miel (78 à 80 %), ils comptent pour 90 -99% de la matière sèche (**Hoyet, 2005**). Les résultats obtenus pour les échantillons des miels analysés varient entre 92% et 93% de matière sèche, ce qui témoigne que nos miels adéquats aux normes et sont riches en glucides.

Cependant, Les glucides recteurs, sont des sucres simples comprennent le glucose, le fructose, le lactose (**Hoyet, 2005**). Les résultats obtenus des échantillons des miels sont adéquats au normes de codex, et confirme les résultats obtenus en matière sèche.

L'acidité est un critère important de qualité, il nous renseigne sur l'état du miel durant son extraction et son stockage, en raison de son influence sur sa texture et sa stabilité contre la détérioration microbienne. L'acidité des miels est conférée par l'acide gluconique (**Bogdanov et al., 2004**). Ce dernier est produit à partir du glucose sa formation s'accompagne de dégagement du peroxyde hydrogène (eau oxygénée), sous l'action de l'enzyme « glucose-oxydase » secrétée par l'abeille, la présence d'eau oxygénée assure au miel des propriétés antiseptiques (**Schweitzer, 2005**).

Les valeurs obtenues sont inférieures à la norme fixée par le **Codex Alimentarius (2019)** qui est de 50 meq/kg. Cela indique l'absence de fermentations indésirables dans nos échantillons.

Tous les miels sont acides, avec une valeur du pH qui se situe entre 3,5 et 4,5 pour les miels de nectar, par contre ceux provenant des miels de miellats sont compris entre 5 et 5,5. (**Bogdanov et al., 2004**).

Le pH des miels analysés sont compris entre 3,71 et 4,5. Aucun de nos échantillons étudiés ne dépassait la limite permise, ce qui peut être considéré comme un indice de fraîcheur et permet de conclure que nos échantillons sont tous des miels de nectar.

La conductivité électrique est étroitement liée à la concentration des sels minéraux et les acides organiques. En effet, plus ces deux paramètres sont élevés, plus la conductivité correspondante est élevée. Sa mesure permet de déterminer l'origine botanique d'un miel (**Bogdanov et al., 2004**). La norme prévoit en général : Les miels de nectar doivent avoir des valeurs de conductivité inférieures à 0,5 mS /cm, tandis que les miels de miellats possèdent une conductivité électrique supérieur à 0,8 mS / cm (**Codex Alimentarius, 2019**).

Les résultats obtenus pour les échantillons des miels analysés varient entre 0,2 mS/cm et 0,4 mS/cm, elles ont confirmé aux normes préconisées. Cela confirme que nos miels sont d'origine des miels de nectar.

L'analyse du pH et de conductivité électrique, regroupe nos miels dans la catégorie des miels du nectar en fonction de leurs acidités. Donc, tous les deux dépendent de l'acidité de miel, qui dépend, à son tour, de taux des glucides contenant dans le miel. Cela, confirme qu'une relation proportionnelle existe entre ces paramètres, plus un miel a une conductivité électrique élevée présentent un pH élevé, plus il est riche en glucide.

On peut conclure que les trois miels sont des miels de nectar, d'une acidité varier, dont le miel de thym est le plus acide suivi de miel semi-synthétique et dernièrement le miel toutes fleurs.

➤ Les résultats de l'obtenus concernant l'étude *in vitro* (l'activité antimicrobienne) de nos échantillons testés par la méthode de diffusion sur gélose (les miels et les miels additionnés, l'huile essentielle de thym), en mesurant les diamètres des halots d'inhibitions montrent que celle-ci est en fonction du type de miel, les synergies effectuées, et de la souche microbienne cible :

Le miel de thym, le miel toutes fleurs et le miel semi-synthétique n'ont aucune activité inhibitrice contre *Staphylococcus aureus* et *Candida albicans*, tandis qu'ils ont un pouvoir antibactérien vis-à-vis *Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli*.

Le miel de thym présente le potentiel inhibiteur le plus élevé vis-à-vis *Pseudomonas aeruginosa*, supérieurs à celui de miel semi-synthétique (41 mm), qui à son tour supérieur à celui de miel toutes fleurs. Cependant, Le miel toutes fleurs et celui de thym ont un pouvoir inhibiteur convergent avec une moyenne de diamètre de, par ordre, 38 mm et 36 mm vis-à-vis *Escherichia coli*. Alors que, ce dernier est supérieurs à celui de miel semi-synthétique.

Par comparaison des données, nous pouvons dire que nos miels n'ont pas d'activité antifongique et le potentielle de leurs activités antibactériennes varie d'une souche bactérienne à une autre. Cependant, *Staphylococcus aureus* et *Candida albicans* sont résistantes vis-à-vis le miel de thym, le miel toutes fleurs et le miel semi-synthétique.

La résistance de *Candida albicans*, et due à l'absence de l'activité antifongique dans nos miels.

La principale « inhibine » que contient le miel est le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2). C'est un très bon antiseptique. Il est produit par réaction enzymatique. L'oxydation du glucose, sous l'action de l'enzyme « glucose-oxydase », produit est le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et L'acide gluconique, qui accroît l'acidité du miel et le rend peu favorable au développement de colonies bactérienne. La catalase représente l'antagoniste de la gluco-oxydase, et elle réduit l'eau oxygénée. (Schweitzer, 2005). De fait, la résistance de la bactérie *Staphylococcus aureus*, qui est à catalase positive, peut être due à l'enzyme catalase qui a décomposé le peroxyde d'hydrogène, ce qui a perturbé l'activité antibactérienne des miels.

Tandis que, *Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli* sont sensibles vis-à-vis ces miels, et notamment vis-à-vis le miel de thym.

Cette activité antibactérienne de nos miels est due leurs acidités principalement, à leurs pressions osmotiques élevées, à l'oxydation enzymatique du glucose et à leurs faibles activités de l'eau. De même le miel de thym présente l'une des activités antibactériennes les plus fortes, grâce à la présence de certains composés bioactifs issus de la plante de thym (*Thymus vulgaris*), tels que les polyphénols, les flavonoïdes et les terpènes, notamment le thymol et le carvacrol (Labiod et Aouadi, 2016).

L'huile de thym exerce une activité inhibitrice vis-à-vis toutes les souches testées avec un pouvoir variable. Le potentiel inhibiteur le plus élevé est observé vis-à-vis *Pseudomonas aeruginosa* avec un diamètre de 77mm, alors, que vis-à-vis *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Candida albicans*, il est identique avec une moyenne de diamètre de 51mm.

Ces résultats nous permettent de conclure qu'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de thym est plus puissante de celles des miels, puisqu'il a inhibé la souche *Pseudomonas aeruginosa*, qui est un Gram négatives, avec un diamètre de 77mm. En effet, nos souches sont tous sensibles à l'huile essentielle de thym.

L'activité antibactérienne des huiles essentielles est étroitement liée à leurs compositions chimiques, en particulier les composés bioactifs tels que le thymol, le carvacrol, le linalol et le terpinène-4- (Burt, 2004).

A partir des résultats, nous avons constaté que l'huile essentielles de thym a inhibé les souches a Gram positives ou négatives de la même fréquences, cela est due à la variabilité quantitative et qualitative des composants de HEs, il est probable que leur activité antibactérienne ne soit pas attribuable à un mécanisme unique (Souza et al., 2006; Bajpai & Kang, 2010).

La levure *Candida albicans* a été aussi inhibé par l'HET et cela grâce à la présence de certaines fonctions chimiques dans leurs compositions tels que les phénols et les aldéhydes qui s'interagit les enzymes membranaires et dégradent la membrane plasmique des levures (Knobloch,1989).

Les miels additionnés à l'huile essentielle de thym entraînent une activité antimicrobienne de puissance variable contre toutes les souches utilisées, voir même, les souches qui n'ont pas été inhibés par les miels pure sans additionnement.

Le miel toutes fleurs additionné à l'huile de thym présente le pouvoir inhibiteur le plus élevé vis-à-vis la souche d'*Escherichia coli* avec une moyenne de diamètre de 36mm, qui est supérieur à celui vis-à-vis *Candida albicans*, qui est à son tour supérieure à celui vis-à-vis *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa*.

Le miel semi-synthétique additionné à l'huile de thym, aussi, présente un effet inhibiteur vis-à-vis la souche *Candida albicans* avec une moyenne de diamètre de 35mm, noté comme le plus élevé, suivie de celui d'*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* en ordre.

A partir de ces résultats, nous pouvons dire que le pouvoir inhibiteur des miels est renforcé après son additionnement à l'HET. De fait, *Escherichia coli* est plus sensible à la préparation de miel toutes fleurs additionné à l'huile de thym, cependant, *Candida albicans* est plus sensible au miel semi-synthétique additionné à l'huile de thym. *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* sont sensibles à chaque préparation de la même fréquence.

Les miels additionnés ont inhibé les souches *Staphylococcus aureus* et *Candida albicans*, qui ont été résistantes dans le cas des miels non additionnés et avec un pouvoir élevé comparant des autres souches, cela peut être expliqué de fait, les composés antibactériens présents dans l'HE de thym interagissent en synergie avec le sucre de miel pour créer un environnement défavorable aux bactéries, de la même manière que les composants du miel (sucres et composés antimicrobiens) fonctionnent ensemble. Cela ouvre la voie à de nouvelles recherches pour comprendre ces mécanismes.

Pseudomonas aeruginosa et *Escherichia coli* sont peu inhibés comparant au résultat de son inhibition par l'HET ou les miels pure non additionnés, ce que signifie une action agoniste ou peut être due à une erreur de manipulation, lors d'utilisation des préparations n'ont pas été bien homogénéisées ou les principes actifs ont été détruits lors de chauffage des préparations. Car l'additionnement de l'HE de thym, faudrait donner une activité antibactérienne plus élevée que le miel seul en raison de l'action synergique des composés actifs présents dans ces mélanges (**Rossant, 2011**).

➤ Les résultats obtenus concernant l'étude *in vitro* (l'activité antimicrobienne) de nos échantillons testés par la méthode des dilutions :

Les témoins positifs ont révélé une croissance, ce qui suggère que le milieu de culture utilisé était enrichi en nutriments ainsi qu'en facteurs de croissance essentiels et les conditions environnementales étaient favorables à la multiplication de ces micro-organismes (absence d'un agent inhibiteur).

Les résultats de l'incubation des suspensions microbiennes dans des milieux de cultures en présence de l'huile essentielle de thym pendant des périodes de 24 heures et 48 heures indiquent qu'aucune croissance bactérienne ou fongique n'a été observée dans les échantillons. Cela suggère que l'huile essentielle de thym a un effet inhibiteur sur la croissance de ces micro-organismes.

Les résultats des **tableaux 15, 16, 17, 18** nous permettent d'évaluer l'effet des différentes concentrations (75%, 50%, 25% et 10%) de miel et de miel additionné à l'huile de thym sur la croissance des souches microbiennes (*E. coli*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *C. albicans*).

En ce qui concerne la concentration de 10 % miel, nous observons une similitude des résultats obtenus parmi les quatre souches étudiées. Les trois échantillons (MTF, MSS, MT) ont manifesté une croissance bactérienne positive après 24 heures d'incubation, suggérant ainsi que les bactéries ont utilisé le miel comme source d'énergie et de carbone pour leur métabolisme.

Pour la concentration 25 % nous observons une similitude marquée dans les résultats entre *E. coli* et *S. aureus*, notamment dans les échantillons testés sans ajout d'huile essentielle (MTF, MSS, MT). Ces données indiquent une croissance bactérienne après 48 heures (absence d'une croissance après 24h) d'incubation, suggérant le développement d'un mécanisme d'adaptation au sein de ces souches.

Il convient de noter deux exceptions notables dans ces résultats. Tout d'abord, *P. aeruginosa*, considérée comme la souche la plus sensible, n'affiche aucun développement microbien dans tous les échantillons testés lors des périodes d'incubation de 24 et 48 heures. Ensuite, la souche *C. albicans*, considérée comme la plus résistante, présente déjà une prolifération bactérienne significative dans l'échantillon (MSS) après seulement 24 heures, confirmant ainsi sa forte résistance aux conditions du milieu.

Les 04 souches ont présenté une sensibilité similaire aux concentrations les plus élevées (75%, 50%) des miels (MTF, MT, MSS).

Il convient de noter que pour toutes les concentrations (75%, 50%, 25% et 10%), lorsque les miels étaient associés à de l'huile essentielle de thym (MTF+ HE, MSS+ HE), les résultats sont demeurés négatifs même après 48 heures d'incubation. Cette observation indique l'absence de développement microbien. En 25% et 10% l'inhibition est due à la présence d'huile essentielle de thym alors qu'en 75% et 50% l'inhibition est due au miel et à l'huile essentielle.

Ces derniers résultats, montre que l'activité antimicrobienne d'huile essentielle de thym est supérieure à celle du miel.

Nous formulons plusieurs hypothèses pour expliquer ces résultats, notamment la possibilité que la présence de miel et d'huile essentielle ait exercé une influence. Divers facteurs contenus dans le miel, tels que son acidité, son taux élevé de glucides engendrant un effet osmotique, ainsi que la présence de composés bactériostatiques et bactéricides comme le peroxyde d'hydrogène, les polyphénols, les acides phénoliques, les flavonoïdes, les antioxydants, le lysozyme, entre autres, pourraient contribuer à cette activité. De plus, l'huile essentielle de thym, riche en thymol, pourrait également jouer un rôle en tant qu'agent antimicrobien.

➤ Pour étude *in vitro* (activité cicatrisante) tout au long de l'expérience, nous avons suivi l'évolution des diamètres des brûlures des groupes traités et témoins :

Les résultats obtenus (**Tableau 19, 20 et la Figures 14**) montrent que l'évolution du processus cicatriciel des brûlures observées après les périodes de 3ème jour du traitement clairement indique que les diamètres des brûlures sont potentialisés dans le lots traité avec le miel semi-synthétiques additionnés à l'HET, puis le miel de thym, et miel de toutes fleurs additionnés à l'huile de thym.

La souris traitée avec MT et de MSS+HET présentent une amélioration remarquable par rapport à témoins et à celui de toutes fleurs, elle est attribuable suite à l'action inductrice de la cicatrisation et l'effet antibactérien du miel de thym et à la synergie de l'huile essentielle de thym avec les miels.

En présence du Thymol qui est un, agent cicatrisant et antibactériens de référence (**David, 2019**) et avec l'effet pansement naturel, du miel qui forment une barrière protectrice et ça forte teneur en sucre, ce qui lui confère des propriétés hygroscopiques. Cela signifie qu'il peut absorber et retenir l'humidité de la plaie, permettant ainsi un environnement humide optimal pour la cicatrisation (**Efem, 1988**). Ce qui favorise la migration des cellules de la peau, la formation de nouveaux tissus et la réduction de la formation de croûtes (**Couquet et al., 2013**). Cela augmente l'effet cicatrisant et antibactérien à la fois, permettant d'éviter les infections cutanées et offre une cicatrisation rapide et efficace.

La préparation MTF+HET, ne présente pas une cicatrisation plus rapide que celle de témoins et même il y avait formation d'une croûte sur la zone brûlée, contrairement aux autres miels. Nous pourrions le justifier par la non homogénéité de notre préparation lors de l'application, ou même après l'application de la solution, les deux éléments se sont séparés.

Conclusion et perspectives

L'objectif de notre travail était d'étudier l'effet cicatrisant et antimicrobien de miel de thym, miel toutes fleurs, miel semi-synthétique et ces miels additionnés à l'huile essentielle, ainsi que l'huile essentielle de thym et comparé les résultats.

D'abord, nous avons élaboré les préparations des miels additionnées d'huile essentielle de thym « *Thymus vulgaris* ».

Puis, en premier lieu, nous avons effectué une étude *in vivo* afin de tester la capacité des miels et miels additionnés et huiles essentielles de thym à inhiber la croissance de certaines souches bactériennes de référence *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *candida albicans*. Qui causent des infections cutanées. Sur un milieu gélosé, par la mesure des diamètres des zones d'inhibitions et définir la souche la plus sensible. Ainsi dans un milieu liquide, afin de déterminer la dilution inhibitrice de nos différents échantillons vis-à-vis les souches testées.

Les résultats obtenus montrent que : *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, sont sensibles au miels et en particulier au miel de thym. Cependant que, toutes les souches sont sensibles à l'huile essentielle de thym ainsi que d'une manière remarquable aux miels additionnées.

Toutes les souches ont présenté une sensibilité similaire aux concentrations les plus élevées seulement dans le cas des miels purs (75%, 50%), lorsque les miels étaient associés à de l'huile essentielle de thym, les souches été sensibles dans toutes les concentrations (75%, 50%, 25% et 10%),

En deuxième partie, étude *in vitro*, un protocole d'induction de brulure est effectué, les souris sont traitées avec les miel de thym et les préparations des miels. Nous avons constaté que les miels additionnés amélioreraient nettement la cinétique et la qualité de cicatrisation chez les souris brulées.

Suite aux résultats obtenus nous pouvons dire que nos objectifs ont été atteints et que nous avons réussi à formuler des préparations cicatrisantes et antibactériennes à base des miels additionnées à l'huile essentielle de thym, ainsi, qu'à définir la dilution inhibitrice des miels pure et miels additionnés.

Il serait intéressant à l'avenir d'envisager des études plus approfondies notamment :

- Élaborer la synergie sous forme d'une crème ou d'émulsion afin d'éviter les problèmes d'homogénéité.

- Optimiser davantage d'autres synergies.
- Déterminer la concentration inhibitrice minimale.

Références bibliographiques

A

Abad N.A.A., Nouri M.H.K. et Tavakkoli F. (2011). Effect of *Salvia officinalis* hydroalcoholic extract on vincristine-induced neuropathy in mice. *Chin J Nat Med* .9: 354- 358.

Abdeldjelil M. (2016). La peau : de la santé à la beauté : notions de dermatologie.

Afnor. (2000). Association française de normalisation française : huile essentielle, Ed, Afnor, Paris.

AL-Mamary M. AL-Meeri A et AL-Habori M. (2002). Antioxidant activities and total phenolics of different types of honey, *nutrition research* 22, 1041-1047.

Alphandéry, R. (1992). La route du miel. Le grand livre des abeilles et de l'apiculture. Ed Nathan. P 262.

Altman, N. (2010). «The honey prescription: the amazing power of honey as medicine ». Healing Arts Press: division of Inner traditions international. Vermont. P25.ISBN: 978-1-59477-346-4.

AMRI, A. (2006). Évaluation physico-chimique et détermination de l'origine botanique de quelques variétés de miel produites à l'Est d'Algérie. Mémoire de magistère : biochimie .Université badji mokhtar. Annaba.

B

Bajpai, V.K., Baek, K.-H. et Baek, S.C. (2012). Control of Salmonella in foods by using essential oils: A review. *Food Res. Int.*45: 722-734.

Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D. et Idaomar, M. (2008). Biological effects of essential oils a review. *Food and chemical toxicology*, 46(2): 446-475.

Barbara R. (2009). Le chemin du miel. Atelier de reproduction, Agridea, 23p.

BARCELO.D.(2013). Comprehensive analytical chemistry volume 60 : Food Protected Designation of Origin: Methodologies and Applications.Elsevier.P527- 528.ISBN :978-0-444-59562-1.ISSN :0166-526X.

Belaiche P., (1979). Traité de phytothérapie et d'aromathérapie. Tome 1 : l'aromatogramme. éd. Maloine. Paris.

Benaziza, D et Benhalima, Y. (2017). Etude de l'activité antibactérienne de certaines huiles essentielles sur un des agents responsables de Scombrotisme (*Klebsiella pneumoniae*). Mémoire de Master, Université Djilali Bounaama, Khemis Miliana, Algérie.

Benbelaid, F. (2015). Effets des huiles essentielles de quelques plantes aromatiques sur *Enterococcus faecalis* responsable d'infections d'origine dentaire. Thèse de Doctorat. Université Abou Bekr Belkaid, Tlemcen, Algérie.

Benedetti, J. (2021). Structure et fonction de la peau—Troubles cutanés. Manuels MSD pour le grand public.

Betts, T.J. (2001). Chemical characterisation of the different types of volatile oil constituents by various solute retention ratios with the use of conventional and novel commercial gas chromatographic stationary phases. *J. Chromatogr. A* 936: 33-46.

Blanc M. (2010). Propriétés et usage médical des produits de la ruche. Thèse de doctorat, Univ. Limoges, 142 p.

Bogdanov S, Ruoff K, Oddo LP. (2004). Physico-chemical methods for the characterisation of unifloral honeys: a review. *Apidologie.*;35(Suppl. 1):S4-S17.

Bonté, F., et Desmouliere, A. (2013). « Le miel : origine et composition ». *Actualités Pharmaceutiques*, 531,18-21.

Brune K. & Patrignani, P. (2015). New insights into the use of currently available non-steroidal anti-inflammatory drugs. *J Pain Res*; 8:105-111.

Burt, S. (2004). Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications in foods—A review. *Int. J. Food Microbiol.* 94: 223-253.

C

Caballero, B., Trugo, L.C et Finglas, P.M. (2003). *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition*; Academic Press: Amsterdam, The Netherlands.

Cavelier E. (2013). Le miel : Composition et techniques de production [Mémoire]. Paris : Université de Sorbonne Nouvelle-Paris 3.

Church, D., Elsayed, S., Reid, O., Winston, B., et Lindsay, R. (2006). Burn Wound Infections. *Clinical Microbiology Reviews*, 19(2), 403–434.

Clemence Hoyet. (2005). le miel : de la source à la thérapeutique. Thèse pour obtenir : le diplôme d'état de docteur en pharmacie, université Henri Poincaré - Nancy, France.

Codex Alimentarius. (2019). CXS 12-1981. Adoptée en 1981. Révisée en 1987 et 2001. Amendée en 2019. Norme pour le miel. Programme mixte FAO/OMS sur les normes alimentaires internationales. Disponible sur https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/shproxy/en/?lnk=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252Fstandards%252FCXS%2B12-1981%252FCXS_012f.pdf

Couquet, Y., Desmoulière, A., et Rigal, M.-L., (2013). Les propriétés antibactériennes et cicatrisantes du miel. *Actualités pharmaceutiques* 52, 22–25.

Croteau, R., Kutchan, T.M. et Lewis, N.G. (2000). Natural products (secondary metabolites). In: Buchanan, B., Grisse, W., Jones, R. (Eds.), *Biochemistry and Molecular Biology of Plants*. American Society of Plant Physiologists.

D

Da Silva P., Gauche C., Valdemiro L., Costa Ana Carolina O .et Fett R. (2016). Honey: Chemical composition, stability and authenticity. *Food Chemistry*, 196, 309-323.

Darrigol, J.-L. (2007). Apithérapie. Miel, pollen, propolis, gelée royale, venin d'abeilles et autres remèdes—Jean-Luc Darrigol (Dangles).

DAVID, M. (2019). Le thymol – Sources, propriétés et applications. Université de Limoges.

Davidson, P. M., Sofos, J. N., et Branen, A. L., (2005). *Antimicrobials in Food* (éd. Third Edition). Boca Raton: CRC Press, 429p.

Delphine I. (2004). Physico-chemical methods for the characterisation of unifloral honeys: a review. *Apidologie*.(Suppl. 1):S4-S17.

DESCOTTES B. (2004). Le miel comme agent cicatrisant. Thèse de doctorat en médecine, université Toulouse III-Paul SABATIER, Limoges : p 24-6-7-8-9, 32-3, 42- 8 ,52.

Donadieu, Y. (1978) : le miel thérapeutique naturelle. 2^{ème} édition MALOIN : 14-18 .

E

Echinard et Latarjet J. (2010). Brûlures graves : constitution de la lésion. In C. Les brûlures, 21-28.

Efem S.E. (1988). Clinical observations on the wound healing properties of honey 183. Br. J. Surg., 75; p 679-681.

Ezzoubi, M., Ettalbi, S., Elmounjid, S., Mradmi, W., Bahechar, N. et Boukind E. (2004). L'INFECTION DANS UN SERVICE DE BRULES. Service des Brûlés et de Chirurgie Réparatrice, Centre Hospitalier Universitaire Ibn Rochd, Casablanca, Maroc. Annals of Burns and Fire Disasters, 17(2).

G

Gauzit, R. (2006). Infections cutanées graves : définitions, caractéristiques cliniques et microbiologiques. Annales Françaises d'Anesthésie et de Réanimation, 25(9), 967–970.

Gouizi, H et Ghellab, M. (2019). Contribution à l'étude de l'activité fongicide des extraits de thym (*Thymus vulgaris*). Mémoire de Master, Université Akli Mohand oulhadj, Bouira, Algérie.

Grose R., Hutter C., Bloch W., (2002). A crucial role of β 1-integrin for keratinocyte migration *in vitro* and during cutaneous wound repair. Development.,2303-2315

Guinoiseau, E. (2010). Molécules antibactériennes issues d'huiles essentielles: séparation, identification et mode d'action. Sciences du Vivant. Thèse de Doctorat, Université de Corse, France.

H

Hoyet c. (2005), le miel de la source a la thérapeutique .Thèse d'Etat, université Henri Poincaré-Nancy 1, Nancy, p17-19.

Huchet E., Couste I .J. et Guinot L. (1996). Les constituants chimiques du miel. Méthode d'analyse chimique. Département de science et l'aliment.

Hyldgaard M., Mygind, T. et Meyer, R.L. (2012). Essential oils in food preservation: mode of action, synergies, and interactions with food matrix components. front microbiol. 3: 1-24.

I

Irina D., Georgiaa G., Livia P., Alina M. E. and Rodica S. (2010). The antioxydant activity of selected Romanian honeys. Food Tech; 34(2): 77-83.

Isabelle A. 2014. Edition le Sureau. Pages : 80-81-89-111-112. Grande traité des miels.

J

JEAN- LUV DARRIGOL. (2007). Apithérapie Miel pollen propolis gelée royale. Edition Dangles B.P.44-53960 BONCHAMP-LES-LAVAL.

JEAN-PROST PIERRE, (2005). Apiculture, connaître l'abeille, conduire le rucher.7ème Edition, J.B. BAIUIERE, Pa.

K

Kalemba, D. et Kunicka, A. (2003). Antibacterial and antifungal properties of essential oils. Current Medicinal Chemistry. 10: 813-829.

Khoddami, M., Hosseini, M.S. et Hassanshahian, M. (2018). Antibacterial Activity of *Semenoviasuffruticosa* (Essential Oil) Against Pathogenic Bacteria and Determination of Chemical Composition of Essential Oils by Gas Chromatography- Mass Spectrometry Analysis in Four Regions of Kerman. Journal of Dietary Supplements: 1-11.

Knobloch, K., Pauli, A. et Iberl, B. (1989). Antibacterial and antifungal properties of essential oil components. J Essent Oil Res. 1(3):119-28

Koechler, S. (2015). « Le miel dans la cicatrisation des plaies : un nouveau médicament ? ». Thèse d'obtention de diplôme d'état de docteur en pharmacie. Université Lorraine, 114p.

Kohen, R. et A. Nyska, (2002). Oxidation of biological systems: oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions, and methods of their quantification. ToxicolPathol. 30 (6): 620-50.

L

Labiod et Aouadi. (2016). Valorisation des huiles essentielles et des extraits de *Satureja calamintha nepeta* : activité antibactérienne, activité anti oxydante et activité fongicide. Thèse de Doctorat, Université Badji-Mokhtar, Annaba, Algérie.

Lafourcade, D. (2015). Prise en charge de la brûlure cutanée thermique : parcours-type du centre de traitement des brûlés jusqu'à celui de rééducation. Sciences pharmaceutiques.

Lahlou, M., (2004). Methods to study the phytochemistry and bioactivity of essential oils. *Phytotherapy Research*, 18(6): p. 435-448.

Lequet L. (2010). Du Nectar au Miel de Qualité: Contrôle Analytique du Miel et Conseils Pratiques à l'Intention de l'Apiculteur Amateur. Thèse de Doctorat Vétérinaire. Université Claude-Bernard Lyon I, France, pp.46-121.

Loiriche, N., (1984): les abeilles pharmaciennes aillées (science pour tous). Ed. Mir, Mosco :40-71.

M

Madhavi, D., S. Deshpande, et D.K. Salunkhe, (1995). Food antioxidants: Technological: Toxicological and health perspectives: CRC Press.

Maquart François-Xavier. (2015). La matrice extracellulaire : un partenaire majeur de la cicatrisation des plaies. *Bulletin de l'Académie Nationale de Médecine*, Volume 199, Issue 7 Pages 1199-1209

Martini, Marie-Claude. (2011). Introduction à la dermopharmacie et à la cosmétologie. Éd. Médicales internationales. Cachan: Lavoisier.

Meda A., Lamien CE., Marco R., Millogo J et Nacoulmaa. (2005). Determination of the total phenolic, flavonoïde and proline contents in Burkina Fasan honey, as well as their radical scavenging activity. *Food Chemistry*, vol. 91 (3) : 571-577.

Mélistopoulos, Alexandre, Christine Levacher, Ladislav Robert, et Robert Ballotti. (2012). La peau structure et physiologie. Éd. TEC & DOC. Paris: Lavoisier.

Mokni, M., Dupin, N., del Giudice, P. (2014). Dermatologie infectieuse. Flore cutanée, microbiote et microbiome. Elsevier Masson, Issy-les-Moulineaux.

Morse R., Lisk D.J., (1980). Elemental analysis of honeys from several nations. *Bee.J*, 522-523.

Murphy-Ullrich J.E., Poczatek M. (2000). Activation of latent TGF-beta by thrombospondin-1: mechanisms and physiology. *Cytokine Growth Factor Rev.*, 59-69.

N

Nataro JP, Kaper JB (1998) .Diarrhea genic Escherichia coli. *Clinical Microbiology Reviews*, 11 ,142–201.

Niu C.,Gilbert E. (2004). "Colorimetric method for identifying plant essential oil components that affect biofilm formation and structure." *Appl. Environ. Microbiol.* 70(12): 6951-6956.

O

Orsted HL, Keast DH, Lalande LF, Kuhnke JL, Jin S , Halay J. (2021). La peau : anatomie, physiologie et cicatrisation des plaies. *Fondements des pratiques exemplaires pour la gestion des soins de peau et des plaies ; 27(5) : 19-23.*

P

Paris M.et Hurabielle M. (1981). Abrégé de matière médicale (pharmacognosie) Tome. Ed. Masson p.339.

Parthasarathy, V. A., Chempakam, B., et Zachariah, T. J. (2008). Chemistry of spices. Édition CABI, Londres, Royaume-Uni.

Pichersky, E., Noel, J.P. et Dudareva, N. (2006). Biosynthesis of plant volatiles: nature's diversity and ingenuity. *Science*, 311: 808-811.

Piochon, M. (2008). Étude des huiles essentielles d'espèces végétales de la flore laurentienne: composition chimique, activités pharmacologiques et héli-synthèse, Université du Québec, chicoutimi.

R

Rahal S., (2004). Chimie des produits naturels et des êtres vivants. O.P.U. Edition. p.162

Rahman A.U., Nasim S., Baig I., Jalil S., Orhan I., Sener B., Choudhary M.I (2003). Anti-inflammatory isoflavonoids from rhizomes of *Iris germanica*. *Journal of Ethnopharmacology*, 86, (2-3), 177-180.

Rossant A., (2011). Le miel, un composé complexe aux propriétés surprenantes. Thèse de doctorat en pharmacie. Université de LIMOGES. Disponible sur: [file:///C:/Users/A-DMIN/Downloads/P20113314%20\(3\).pdf](file:///C:/Users/A-DMIN/Downloads/P20113314%20(3).pdf)

S

Sanz M. L. Gonzalez M. Lorenzo C. Sanz J et Martinez-Castro I. (2005). A contribution to the differentiation between nectar honey and honeydew honey. FoodChem. 91, 313- 317.

SCHWEITZER PAUL. (2005). Pouvez-vous me faire une analyse pour savoir si ce miel est un miel de qualité.

Souza, C.M., Pereira Junior, S.A., Moraes, T. da S., Damasceno, J.L., Amorim Mendes, S., Dias, H.J., Stefani, R., Tavares, D.C., (2016). Antifungal activity of plant-derived essential oils on *Candida tropicalis* planktonic and biofilms cells. Med Mycol, 54:515-523.

Stevens, Alan, et J. S Lowe. (2006). Histologie humaine. Paris: Elsevier.

T

Tattevin, P. (2011). Les infections à *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM) d'acquisition communautaire. Médecine et Maladies Infectieuses, 41(4), 167–175

Teyssou, R., Koeck, JL. & Buisson, Y. (1997). La flore cutanée. Revue Française Des Laboratoires, (291), 49–55.

TOOMEDICAL. (2019, juillet 11). La composition de la peau humaine : Rôle et structure. BLOG TOOMED. <https://www.toomed.com/blog/la-composition-de-la-peau/>

U

Ugarte-Valdivieso, M., Carolina, G-L., Julio, P-D et Ángel, G. (2019). Antimicrobial, Antioxydant, and Immunomodulatory Properties of Essential Oils: A Systematic Review. Nutrients. 11, n° 2786.

V

Vokou D., Kokkini S. & Bressiere J.M., (1988). *Origanum onites* (Lamiaceae) in Greece Distribution , volatile oil yield, and composition . Economy botanic. 42, p:407-412.

W

Walker J.E.M., Saraste M.J., et Runswick N.J. (1982). Distantly related sequences in the alpha- and beta-subunits of ATP synthase, myosin, kinases and other ATP requiring enzymes and a common nucleotide-binding fold. *The Embo Journal*, 1(8), 945-51.

Wassermann, D. (2002). Critères de gravité des brûlures. *Épidémiologie, prévention, organisation de la prise en charge. Pathologie Biologie*, 50(2), 65–73.

White J.R, Donner L. (1980). Honey composition and properties. *Beekeeping in the United States. Agricultures handbook number: p335.*

Y

Yamaguchi Y., Mann D.M., Ruoslathi E. (1990). Negative regulation of the transforming growth factor- β by the proteoglycan decorin. *Nature*, 281-284.

Zhou Z., Wang J., Cao R., (2004). Impaired angiogenesis, delayed wound healing and retarded tumor growth in perlecan heparan sulfate deficient mice. *Cancer Res.*, 4699-4702.

Z

Ziti-Freville, N. (2019). L'aromathérapie anti-infectieuse est-elle une alternative essentielle à l'officine. Thèse de Doctorat, Université de Lille, France.

ANNEXES

Annexes

Annexe 1

Types de milieux	nom de chaque milieu et son caractérisation
Géloses	<p>Gélose Mueller-Hinton (MH) : Le Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie recommande l'utilisation de cette gélose pour tester la sensibilité des bactéries aux antibiotiques.</p> <p>Gélose Sabouraud : Ce milieu sélectif est utilisé pour cultiver et isoler les dermatophytes, les levures et divers autres champignons pathogènes et non pathogènes.</p> <p>Dans notre étude, les géloses ont été utilisées pour évaluer la sensibilité des bactéries et levure aux miels et aux huiles essentielles en milieu solide.</p>
Bouillons	<p>Bouillon Sabouraud : Ce milieu repose sur le même principe que celui cite dans la partie Gélose Sabouraud.</p> <p>Bouillon Tryptone Soja (TSB) : Est un milieu de croissance polyvalent et non sélectif. Il favorise la croissance d'un large éventail de bactéries Gram-négatives et Gram-positives non exigeantes, ainsi que de nombreuses levures et moisissures.</p> <p>Ces bouillons ont été utilisés pour déterminer les concentrations minimales inhibitrices (CMI) par la méthode de dilution en milieu liquide par incorporation directe de l'huile essentielle de thym, des miels et des miels additionnés aux milieux</p>
Autres milieux	Différents milieux en tubes ont été utilisés pour les tests biochimiques, tels que le TSI, le citrate de Simmons, le mannitol mobilité, le MEVAG et le BHIB

Tableau 16: Milieux utilisés dans la partie méthodes

Table de correspondance des sucres invertis (table de Bertrand) (Wikibis. 2010).					
Sucre en mg	Cuivre en mg	Sucre en mg	Cuivre en mg	Sucre en mg	Cuivre en mg
10	20,6	40	77,7	70	129,2
11	22,6	41	79,5	71	130,8
12	24,6	42	81,2	72	132,4
13	26,5	43	83,0	73	134,0
14	28,5	44	84,8	74	135,6
15	30,5	45	86,5	75	137,2
16	32,5	46	88,3	76	138,9
17	34,5	47	90,1	77	140,5
18	36,4	48	91,9	78	142,5
19	38,4	49	93,6	79	143,7
20	40,4	50	95,4	80	145,3
21	42,3	51	97,1	81	146,9
22	44,2	52	98,8	82	148,5
23	46,1	53	100,6	83	150,0
24	48,0	54	102,5	84	151,6
25	49,8	55	104,0	85	153,2
26	51,7	56	105,7	86	154,8
27	53,6	57	107,4	87	156,4
28	55,5	58	109,2	88	157,9
29	57,4	59	110,9	89	159,5
30	59,3	60	112,6	90	161,1
31	61,1	61	114,3	91	162,6
32	63,0	62	115,9	92	164,2
33	64,8	63	117,6	93	165,7
34	66,7	64	119,2	94	167,3
35	68,5	65	120,9	95	168,8
36	70,3	66	122,6	96	170,3

37	72,2	67	124,2	97	171,9
38	74,0	68	125,9	98	173,4
39	75,0	69	127,5	99	175,0
				100	176,5

Annexe 3

1. Préparation des milieux de culture

1.1. Composition des milieux de culture

Tableau 2 : composition des milieux de cultures utilisés (milieu gélose MH, gélose Sabouraud, bouillon TSB, bouillon Sabouraud)

<i>Milieu MH</i>	
Composition	g/L
Hydrolysats acides de caséine (peptone)	17,5 g
L'infusion de viande de bœuf déshydratée	300g/L
Amidon de Mais	1,5 g
L'agar-agar	1,7 g
Ca ²⁺	20 à 25 mg/L
Mg ²⁺	10 à 12,5 mg/L
Eau distillée	1000mL

<i>Milieu TSB</i>	
FORMULE	
Tryptone	17g
Peptone de farine de soja	3g
Chlorure de sodium	5g
Glucose	2,5g
Phosphate di potassique (anhydre)	2,5g
Eau distillée	1000mL

<i>Milieu Sabouraud gélose</i>	
FORMULE	
Peptone mycologique	10 g
Glucose	20 g
Agar	20 g
Eau distillée	1000mL

<i>Milieu Sabouraud bouillon</i>	
FORMULE	
Peptone mycologique	10 g
Glucose	20 g
Eau distillée	1000mL

Tableau 3 : pH de chaque milieu préparé

Milieu de culture	pH	Intervalle d'erreur
Gélose MH	7,3	±0,1
Gélose Sabouraud	6,5	
Bouillon TSB	7,3	±0,1
Bouillon Sabouraud	6,5	

Tableau 4 : Temps et température de stérilisation de chaque milieu





Les milieux de culture	Temps de stérilisation	Température de stérilisation
Gélose MH	30 min	120 °C
Gélose Sabouraud	20 min	115 °C
TSB	15 min	120 °C
Bouillon Sabouraud	15 min	120°C

Annexe 4

2.1. Caractérisation des souches

1.1.L'étude macroscopique

Table 1 : Repiquages des souches

Souches ensemencées	Résultats	Lecture
<i>E. coli</i>		Colonies blanches, arrondies, lisses, à bord réguliers.
<i>S. aureus</i>		Colonies opaques, rondes, lisses, à bord réguliers
<i>P. aeruginosa</i>		Colonies jaunes, vertes, lisses, à bord réguliers
<i>C. albicans</i>		Colonies blanches crémeuses, rondes

1.2. Étude microscopique

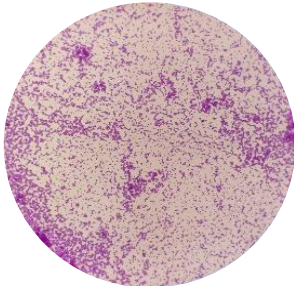
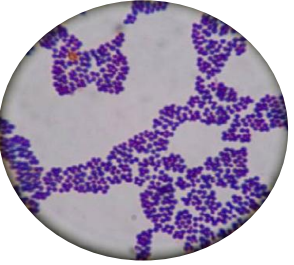

➤ État frais

Table 2: observation de l'état frais des souches sous le microscope

Souchesensemencés	Résultats
<i>E. coli</i>	Forme de bâtonnet, mobiles, se trouvent isolées ou en chainettes
<i>S. aureus</i>	Forme de Cocci, immobile, disposées en grappes irrégulières (grappes de raisin)
<i>P. aeruginosa</i>	Bacille (bâtonnet), mobile, se trouvent isolées
<i>C. albicans</i>	- Unicellulaire, sphérique, isolées. - Pseudo-mycélienne, forment des filaments ou de chaînes de cellules

➤ **État fixé : Coloration de Gram**

Table 3 : observation de l'état fixé des souches sous le microscope

Souches ensemencés	Résultats	Lecture
<i>E. coli</i>		Coloration en rose : gram négative
<i>S. aureus</i>		Coloration en violet : gram positive
<i>P. aeruginosa</i>		Coloration en rose : gram négative

1.3. Etude biochimique

➤ **Test de la catalase**

Table 4 : test de la catalase

Souches ensemencés	Résultats	Interprétation
<i>E. coli</i>	Apparition de bulles de gaz	Catalase +
<i>S. aureus</i>	Apparition de bulles de gaz	Catalase +
<i>P. aeruginosa</i>	Apparition de bulles de gaz	Catalase +


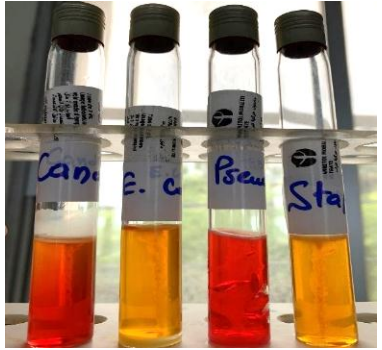
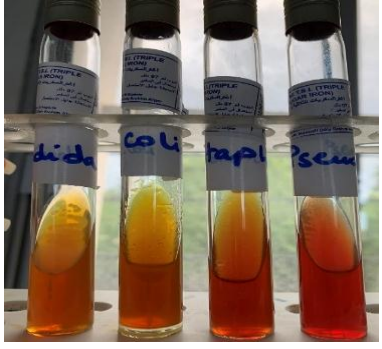

➤ Test de l'oxydase

Table 11: test de l'oxydase

Souchesensemencés	Résultats	Interprétation
<i>E. coli</i>	Couleur inchangée dans 10 à 30 secondes.	Oxydase -
<i>S. aureus</i>	Couleur inchangée dans 10 à 30 secondes.	Oxydase -
<i>P. aeruginosa</i>	Apparition de couleur violette en 10 à 30secondes.	Oxydase +

➤ Tests biochimiques

Tableau 6: Tests biochimiques

Milieu		Résultat
Citrates de Simmons		<ul style="list-style-type: none"> - <i>E. coli</i> : Absence de croissance : pas de changement de couleur : Citrates de Simmons (-). - <i>P. aeruginosa</i> : Virage de la couleur verte en bleu : Citrates de Simmons (+). - <i>S. aureus</i> : Absence de croissance : pas de changement de couleur : Citrates de Simmons (-). - <i>C. albicans</i> : Absence de croissance : pas de changement de couleur : Citrates de Simmons (-).
Mannitol mobilité		<ul style="list-style-type: none"> - <i>E. coli</i> : virage au jaune et diffusion sur gélose, alors elle est mannitol+ et mobile - <i>P. aeruginosa</i> : pas de changement de couleur, diffusion sur gélose ; Alors elle est mannitol- et mobile. - <i>S. aureus</i> : virage au jaune, et absence de diffusion, alors elle est mannitol+ et immobile - <i>C. albicans</i> : pas de changement de couleur, diffusion sur gélose ; Alors elle est mannitol- et mobile.
TSI		<ul style="list-style-type: none"> - <i>E. coli</i> : virage au jaune du culot, Virage au jaune du la pente, Décollement de la gélose. - [Glu (+), Lac (+), Sacch (+), H2S (-), Gaz (+)] - <i>S. aureus</i> : virage au jaune du culot, Virage au jaune du la pente. - [Glu (+), Lac (+), Sacch (+), H2S (-), Gaz (-)] - <i>P. aeruginosa</i> : pas de changement - [Glu (-), Lac (-), Sacch (-), H2S (-), Gaz (-)] - <i>C. albicans</i> : virage au jaune du culot, Virage au jaune du la pente. - [Glu (+), Lac (+), Sacch (+), H2S (-), Gaz (-)]
King A, King B		<ul style="list-style-type: none"> - Sur le Milieu King A : Observation d'une culture bleue mettant en évidence la production de pyocyanine. - Sur le Milieu King B : Observation d'une culture jaune-vert mettant en évidence la production de pyoverdine.

Résumé

Malgré l'existence des divers produits pour traiter les brûlures et lutter contre les infections qui peuvent s'engendrer comme complication, l'utilisation de remèdes naturels reste une option thérapeutique intéressante pour diverses raisons. Le miel et les huiles essentielles figurent parmi les produits les plus courants et les plus appréciés.

Le miel est utilisé à des fins thérapeutiques depuis des millénaires ; il est réputé pour ses propriétés cicatrisantes et antimicrobienne, il peut favoriser la guérison des brûlures et minimiser l'utilisation des antibiotiques. Tout comme le miel, l'huile essentielle de thym est connue pour ses propriétés médicinales ; elle est largement utilisée dans la médecine traditionnelle.

Sur la base d'un effet synergique recherché dans la thérapie entre le miel et l'huile essentielle de thym, nous avons développé notre projet en nous concentrant sur l'étude de l'effet curatif du miel de thym, du miel toutes fleurs et du miel semi-synthétique mélangés à l'huile essentielle de thym pour le traitement des brûlures induites chez les souris. L'expérimentation in vitro se base sur l'étude de l'effet antimicrobienne des miels utilisés, des miels additionnés et d'huile de thym sur des souches microbiennes (*Staphylococcus aureus* ; *Pseudomonas aeruginosa* ; *Escherichia coli* ; *candida albicans*) a montré un effet antimicrobien significatif. Elles ont été testées sur des souris et comparées à un témoin négatif dont la cicatrisation s'est faite naturellement.

Les résultats de ce travail ont été concluants, que les miels additionnés à l'huile essentielle de thym entraînent une meilleure activité antimicrobienne comparant d'autres miels. Ainsi que, le miel de thym et le miel semi-synthétique additionnés à l'huile essentielles de thym ont montré leurs efficacités dans la cicatrisation.

Mots clés : miels, huiles essentielles de Thym, brûlures, effets antimicrobiens, effet thérapeutique, effet cicatrisant, cicatrisation.

Abstract

Despite the existence of various products to treat burns and combat the infections that can arise as a complication, the use of natural remedies remains an interesting therapeutic option for a variety of reasons. Honey and essential oils are among the most common and popular products.

Honey has been used therapeutically for thousands of years; it is renowned for its healing and antimicrobial properties, and can help burns heal and minimize the use of antibiotics. Like honey, thyme essential oil is known for its medicinal properties and is widely used in traditional medicine.

Based on the synergistic effect sought in therapy between honey and thyme essential oil, we developed our project by focusing on studying the curative effect of thyme honey, all-flower honey and semi-synthetic honey mixed with thyme essential oil for the treatment of induced burns in mice. In vitro experimentation based on the study of the antimicrobial effect of the honeys used, the added honeys and thyme oil on microbial strains (*Staphylococcus aureus*; *Pseudomonas aeruginosa*; *Escherichia coli*; *candida albicans*) showed a significant antimicrobial effect. They were tested on mice and compared with a negative control, which healed naturally.

The results of this work were conclusive, with honeys added to thyme essential oil showing better antimicrobial activity than other honeys. Thyme honey and semi-synthetic honey added to thyme essential oil showed their effectiveness in wound healing.

Key words: honey, Thyme essential oil, burns, antimicrobial effects, therapeutic effect, healing effect, wound healing.