



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Dr. MOULAY TAHAR



-SAIDA-

Faculté des Sciences

Département de Biologie

Laboratoire de bio intoxication

Pharmacognosie et valorisation biologique des plantes

Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme

De master en biologie

Option: microbiologie appliquée

Etude comparative entre l'effet antibactérien et cicatrisant du miel et de l'antibiotique (in vitro et in vivo)

Présenté par :

➤ ***M^{lle}. HAMIDAT NADJATE***

➤ ***M^{lle}. AOUISSI GHANIA***

Soutenu le, **05 - 06 - 2016**, devant le jury composé de :

Mr : AMMAM. A

M. A.A à U. Saida

Encadreur

Mr : TERRAS.M

M.C.A à U. Saida

Président

Mr : BERROUKCHE.A

M.C.A à U. Saida

Examineur

Année Universitaire ;2015/2016



REMERCIEMENTS

*Avant tout, nous remercions **ALLAH** le tout puissant qui nous a donné le courage ; la volonté et la patience pour faire ce travail.*

Nous tiens à remercier tous ceux qui,

*D'une façon ou d'une autre, n'ont aidé pendant Notre travail de fin d'études. Mes premiers remerciements vont à Ms **Ammam**, pour avoir accepté de nous encadrer et de nous suivre tout au long de la réalisation de ce mémoire de fin d'étude.*

Nous tiens aussi à remercions les membres de jury :

*Mr : **TERRAS.M** Enseignant à l'université Moulay Taher, Saida pour avoir accepté de présider le jury.*

*Mr: **BERROUKCHE.A** pour avoir voulu accepter de juger ce travail*

*Nous remercions également tous les techniciens du laboratoire, **AHMED** et grande merci à Mr **BEN AHMED***

Nous terminerons en rendant hommage à tous les enseignants du primaire, du Secondaire et de l'université qui nous donné le goût des études. Leur tâche est ingrate et trop peu souvent reconnue. Nous leur dois beaucoup.

Merci à tous ceux qui m'ont apporté, à tous ceux que nous oublie.





DEDICACES

*Au nom dm **DIEU** clément et miséricordieux et que le salut de **DIEU** soit sur son prophète*

Je dédie ce modeste travail à:

*Mes très chers parents qui a attendu avec patience les fruits de sa bonne éducation. qui m'ont entouré de leurs affections et qui m'ont toujours orienté avec leurs conseils judicieux. Qu'**ALLAH** lui procure joie et quiétude dans leur vie*

A Mes très chères grandes mères et pères et Mes Oncles et mes tentes

*A mes Frère et sœurs: **Ali , Fatima Zohar , Lalia, Nadjet, Cheikh, Aicha , Mohamed , Soumia***

*A mon binôme **Nadjet** et ; Symbole de l'amitié, l'amour et la fidélité et toute sa famille.*

*A mes très chère frère et sœur de l'université : **mechemesh, nadjat, milodaz ,manel, Fatna, Aida , Touha,***

*A mes cousins : **Aicha , Khadidja, Meriam, Zineb, Souad***

A tous ceux qui m'ont soutenu de prés ou de loin et mes souhaités toujours la réussite et le bonheur. et toutes personnes qui me connaissent et m'aiment Profondément

Ghania





DEDICACES

*Au nom dmu **DIEU** clément et miséricordieux et que le salut de **DIEU** soit sur son prophète*

Je dédie ce modeste travail à:

*Mes très chers parents qui a attendu avec patience les fruits de sa bonne éducation. qui m'ont entouré de leurs affections et qui m'ont toujours orienté avec leurs conseils judicieux. Qu'**ALLAH** lui procure joie et quiétude dans leur vie*

A Mes très chères grandes mères et pères et Mes Oncles et mes tentes

*A mes Frère et sœurs: **Habibe, Abdelhadi, Imane, Bochera, Rachod, Fatom***

*A mon très chers l'intime **Halima** et mon binôme **Ghania** et ; Symbole de l'amitié, l'amour et la fidélité et toute sa famille.*

*A mes très chère frère et sœur de l'université :**Abode, sliman, nor***

eldin, kada, med, mechemesh, nadjat, milodaz, manel, nani, fadol, rabiaa, naima

*A mes cousins : **Nawal, Hanan, Asma, Fati, saliha, amina, rayhana, sara, khadija***

A tous ceux qui m'ont soutenu de prés ou de loin et mes souhaités toujours la réussite et le bonheur. et toutes personnes qui me connaissent et m'aiment Profondément



Nadjet

Table De Matière

Remerciement

Dédicace

Résumé

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des Photos

Introduction.....1

Synthèse bibliographique

Généralités sur le miel

1 Définition.....2

2. Origine du miel.....3

2.1. Le nectar.....3

2.1. 1. Les miels mono floraux.....3

2.1.2. Les miels poly floraux.....4

2.2. Le miellat.....5

2.3. Le pollen.....5

3. Principales différences entre miels de nectar et de miellat.....6

4. Formation du miel.....6

5. Composition et caractéristiques du miel.....8

5.1. Composition et propriétés chimiques essentielles.....8

5.1.1. Composants majeurs.....8

5.1.1.1. L'eau.....8

5.1.1.2. Les Glucides.....	9
5.1.2. Composants mineurs.....	9
5.1.2.1. Les acides.....	9
5.1.2.2. Sels minéraux.....	9
5.1.2.3. Protéines.....	10
5.1.2.4. Enzymes.....	10
5.1.2.5. Vitamines.....	10
5.1.2.6. Les substances aromatiques.....	10
5.1.2.7. Les pigments.....	10
5.2. Propriétés biologiques.....	11
5.2.1. La valeur nutritionnelle du miel.....	11
5.2.2. Les valeurs thérapeutiques.....	11
5.2.2.1. Activité antibactériennes.....	11
5.2.2.2. Propriété cicatrisant.....	14
5.2.2.3. Effet antioxydant.....	16
5.2.2.4. Effet anti-inflammatoire.....	16
5.2.2.5 Effet anticancéreux.....	17

Les antibiotiques

1. Historique.....	18
2. Origines.....	18
3. Découverte des antibiotiques.....	19
4. Définition des antibiotiques.....	19
5. Classification des antibiotiques.....	20
5.1. Critères de Classification.....	20
5.2. La classification.....	20
5.2.1 La classification selon le mode d'action.....	20
5.2.1.1. La paroi.....	21

5.2.1.2. La membrane cytoplasmique.....	21
5.2.1.3. Le chromosome.....	22
5.2.1.4. Le ribosome.....	22
5.2.2. La classification selon le spectre d'activité.....	23
5.2.3 la classification selon la famille d'antibiotique et leur structure chimique.....	23
6. Activité antibactérienne.....	25
6.1. Modalités d'action bactériostate ou bactériocine.....	25
6. 2. Spectre d'activité antibactérien d'un antibiotique.....	26
6.3. Effet indirects des antibiotiques.....	27
7. La résistance aux antibiotiques.....	28
7.1. Généralité.....	28
7.2. Définitions.....	28
7.3. Mécanisme de résistance.....	29
7.3.1. Principales caractéristiques.....	29
7.3.2. Mécanisme biochimique de la résistance.....	30
7.3.2 .1 Interférence avec le mécanisme de transport de type imperméabilité.....	30
7.3.2.2. Interférence avec le mécanisme de transport de type efflux.....	30
7.3.2.3. Inactivation de l'antibiotique.....	30
7.3.2.4. Modification d'affinité de la cible.....	30
7.3.3. Origine génétique de la résistance.....	31
7.3.3.1. Résistances naturelles.....	31
7.3.3.2. Résistances acquises.....	31
7.3.3.3. Résumé de la Résistance bactérienne.....	32

Généralités sur lapin

I. Lapin.....	33
I.1 Présentation du lapin.....	33
I.2. Taxonomie du lapin.....	34
I.3 Les besoins nutritifs.....	34
I.4. Habitat.....	35
I.5. Les affections cutanées d'origine bactérienne du lapin.....	35
I.5.1. Les abcès de la peau chez lapin.....	35
II. Histopathologie de la peau et mécanisme de cicatrisation.....	37
II .1 .Histopathologie de la peau.....	37
II .1.1. Les compositions de la peau.....	37
II.1.1.1L'hypoderme.....	37
II.1.1.2.Le derme.....	37
II.1.1.3.L'épiderme.....	38
II.1.2. flore bactérienne cutanée.....	38
II.2. Le plaie cutanée.....	39
II.2. 1. Physiopathologie.....	39
II.2. 1.1. Définition.....	39
II.2.1.2. Signes cliniques.....	39
II.2.1.3. Classification.....	39
II.2.2. phénomènes de cicatrisation de la peau.....	40
II.2.3. Le temps de cicatrisation.....	42

Matériel et méthodes

I .In vitro.....	43
I.1. Le miel.....	43
I.1.1 Analyse physico-chimiques.....	45
I.1 .1.1.Dosage de l'humidité.....	45
I.1.1. 2. Détermination du PH.....	46
I.1.1.3. Teneur en cendres.....	47
I.1.1 .4 . La Densité.....	48
I.1.1.5. Détermination de la conductivité électrique à 20°C.....	49
I.1.1.6. L'acidité.....	51
I.1.2. Etude de l'activité antibactérienne de miel.....	52
I.2. Les Antibiotiques.....	53
I.2.1. Le choix d'antibiotique.....	54
I.2.2. l'effet antibactérienne des antibiotiques.....	54
II - In vivo.....	57
II-1. Animaux et conditions d'hébergement et d'alimentation.....	57
II-2.Traitement des animaux.....	59
II.2.1.Chirurgie.....	59
II.2.2.Traitement et évaluation du processus cicatriciel.....	60
II.2.2.1.Traitements des plaies.....	60
II.2.2.1.1. L'application du miel.....	60
II.2.2.1.2 .Injection l'antibiotique.....	61
II.2.2.2. Évaluation du processus cicatriciel.....	62

II.2.2.2.1. Détermination la densité optique de la suspension bactérienne.....	62
II.2.2.2.2. Diamètre de la plaie.....	63
II.2.2.2.3. le poids.....	63
II.2.2.2.4 .Observation macroscopique.....	64

Résultats et discussion

I. In vitro.....	65
I .1. Le miel.....	65
I .1.1.Les analyses physicochimiques.....	65
I .1.1.1. Le taux de l'humidité.....	65
I .1.1.2. Détermination du pH.....	65
I .1.1.3.cendre.....	66
I .1.1.4.La densité.....	66
I.1. 1.5. La conductivité électrique.....	67
I .1.1.6.L'acidité.....	67
I. .2. Activité antimicrobienne de miel.....	68
I.2. Activité antimicrobien de l'antibiotique.....	69
I.2.1. teste de sensibilité d'antibiotique.....	69
II - In vivo.....	71
II.1. Etude de l'activité cicatrisante.....	71
II .1.1.Variation de densité optique.....	71
II .1.2.Variation du diamètre des plaies des lapins (1, 2,3).....	72
II .1.3.variation du poids.....	73

II .1.4 . Les observations macroscopiques.....	74
Discussion.....	75
Conclusion.....	79
Référence bibliographie.....	81

Résumé

Le miel est un produit particulier. sa composition est d'une grande complexité, lui confère des propriétés utiles dans de nombreux domaines de la santé, notamment les infections cutanées.

D'une part, en thérapeutique le miel est principalement utilisé en tant qu'agent cicatrisant dans le traitement des plaies, quel que soit leur degré de contamination et leur stade de cicatrisation.

L'objectif de cette étude est une contribution scientifique à la détermination de certains paramètres physico-chimiques de miel du fêrle, ainsi que l'étude de quelques effets antibactérien et cicatrisant du miel puis les comparer avec celle des Antibiotiques (Duphapien).

Dans la première partie de notre travail vise à faire une étude physicochimique de miel pour prouver qu'il dispose d'un échantillon qui répond aux normes internationales

Dans la deuxième partie d'évaluer l'activité cicatrisante de miel, Cette activité est étudiée en complément de l'activité antibactérienne en réalisant une plaie de 3 cm sur la partie dorsale des lapins l'un traité par le miel et l'autre par l'antibiotique puis on contrôlé la diminution de diamètre et la concentration bactérienne de la plaie.

Les résultats ont montré que le miel possède une activité cicatrisante et antibactérienne plus efficace.

Mot clé : Miel, Antibiotique, Activité antibactérienne, activité cicatrisante,

Analyses physicochimiques.

Abstract:

Honey is a particular product its composition is very complex, giving it properties useful in many areas of health, including skin infection.

On the one hand, in therapeutic honey is mainly used as a healing agent in the treatment of wounds whatever their degree of contamination and their stage of cicatrization.

The objective of this study is a scientific contribution to the determination of some physical and chemical parameters of honey (ferul) , and the study of some antibacterial and healing effects of honey can compare with that of Antibiotics (Duphapen)

In the first part of our work is to make a physicochemical study of honey to prove that it has a sample that meets international standards.

In part to evaluate the healing activity of honey this activity is designed to complement the antibacterial activity by performing a 3 cm wound on the dorsal part of the rabbits one treated with honey and the other by the antibiotic and diameter reduction is controlled and bacterial concentration of the wound.

The results showed that honey has healing and antibacterial activity more effective.

Key word: Honey, Antibiotic, antibacterial Activity, activity healing,
Analyze physic-chemical.

ملخص :

العسل مركب بيولوجي جد معقد ذات عالي مما يعطيه عدة خواص بيولوجية، يستعمل من الناحية الطبية أساسا كمضاد للبكتريا وعامل لتلحيم الجرح.

الجزء الأول من عملنا هو دراسة فيزيوكيميائية لعسل الكلخ حتى نتأكد من أن هذه العينة مطابقة للمعايير الدولية.

الجزء الثاني هو تقييم تأثيره ضد البكتريا وتلحيمه للجرح ، حيث قمنا بجرح ارناب في الجزء الظهري (3 سنتم) عالجنا احدى بالهسل والاخر بالمضاد الحيوي ديفابان ، مع مراقبة انكماش الجرح والتركيز البكتري

اظهرت هذه الدراسة أن العسل لديه فعالية عالية ضد البكتريا وملم للجرح.

الكلمات المفتاحية:

العسل ، المضاد الحيوي، فعالية ضد البكتريا ، فعالية لتلحيم الجرح ، تحاليل فيزيوكيميائية .

Liste Des Figures

Figure n°1 : Exemples de nectaires.....	03
Figure n°2 : Les phases d'élaboration du miel.....	07
Figure n°3 : Composition moyenne du miel.....	08
Figure n°4: Effet osmotique et action des molécules de sucres sur la croissance microbienne.....	12
Figure n°5 : Schéma représentant les effets de l'osmolarité du miel.....	15
Figure n°6: Les cibles bactériennes des antibiotiques.....	21
Figure n°7 : Cycle β -lactame.....	23
Figure n°8: cycle de Cyclines.....	24
Figure n°9 : cycle de Macrolides.....	24
Figure n°10: cycle de Les quinolones.....	24
Figure n° 11 : courbe d'interactions bactérie-antibiotique (bacteriostase-bactériocidie).....	25
Figure n°12: courbe d'interactions bactérie-antibiotique (bacteriostase).....	25
Figure n°13 : courbe d'interactions bactérie-antibiotique (bactériocidie).....	25
Figure n°14 : Illustration des principaux mécanismes de résistance aux antibiotiques.....	29
Figure n°15: Les tubes de Mécanisme biochimique de la résistance.....	31
Figure n°16: structure de la peau	38
Figure n °17 : Les différentes étapes de cicatrisation	41
Figure n°18: Représentation graphique de la variation de densité optique on fonction de temps.....	71
Figure n°19: Représentation graphique de la variation de diamètre plaie en fonction du temps.....	72
Figure n°20: Représentation graphique de la variation du poids en fonction du temps.....	73

Liste Des Tableaux

Tableau n°01 : Principales différences entre miel de miellat et miel de nectar.....	6
Tableau n°2 : Les dates de découverte de quelques molécules d'antibiotique naturelles.....	19
Tableau n°3 : Principaux antibiotiques classés selon leur site d'action.....	22
Tableau n° 4: Spectre d'activité des antibiotiques selon la nature de la paroi bactérienne.....	27
Tableau n°5 : Les caractères de résistance bactérienne naturelle et acquise.....	32
Tableau n°6 : Besoins nutritionnels du lapin.....	34
Tableau n°7 : présentation de l'échantillon de miel.....	44
Tableau n°8 : le volume de miel et volume de gélose Muller Hinton.....	52
Tableau n°9 : L'antibiogramme.....	55
Tableau n°10 : Valeurs en ml de la CMI de miel.....	68
Tableau n°11 : le résultat de teste de sensibilité d'antibiotique.....	70
Tableau n°12 : Variation la densité optique en fonction du temps.....	71
Tableau n°13 : Variation du diamètre des plaies en fonction du temps.....	72
Tableau n°14 : Variation du poids en fonction du temps.....	73

ADN : Acide désoxyribonucléique

E.P.A : Effet post-Antibiotique).

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

ATB : Antibiotique

Kg: kilogramme

Mg : Milligramme

J : jour

E coli : Escherichia coli

°C : Degré Celsius

M.H: Muller Hinton

ml : millilitre

BN: boillon nutritif

UE : union européenne

K: potassium

Na: sodium

Ca: calcium

DO: densité optique

I R: Indice de réfraction

Introduction :

Les plaies contiennent généralement des bactéries souvent sans effet délétère (*Arding K, 2008*). L'infection des plaies en pratique clinique, un consensus international.

Le traitement pour ces infections est basé sur l'utilisation des antibiotiques, qui doit répondre à des règles précises d'utilisation (*Talbert et al, 2009*). La résistance des bactéries vis-à-vis à des agents destinés à les combattre pose de graves problèmes, surtout dans le domaine médical et, plus particulièrement, en milieu hospitalier où, souvent 99% des souches isolées présentent des résistances.

De nos jours, devant l'essor des médecines naturelles et face à certaines pathologies résistantes aux traitements conventionnels, le miel peut être un atout grâce à ses activités thérapeutiques, Le miel a été utilisé pour ses propriétés médicinales dans de nombreuses cultures, depuis les anciens temps (*Jull et al, 2008*).

Aristote écrivait que le miel était un onguent pour les plaies et les yeux douloureux. L'emploi du miel en tant que médicament s'est ensuite poursuivi jusqu'à aujourd'hui dans le cadre de la médecine traditionnelle. Cependant, son utilisation est largement tombée en dés études au milieu du 20^{ème} siècle avec l'entrée dans « l'ère des antibiotiques ». Paradoxalement, c'est suite à la progression des résistances bactériennes aux antibiotiques et à la recherche d'alternatives à ces antibiotiques pour le traitement des maladies infectieuses que le miel a été « redécouvert » à la fin du 20^{ème} siècle.

Ce présent travail repose essentiellement sur l'évaluation de l'activité antibactérienne et cicatrisant de miel naturel par rapport les antibiotiques. Par des essais pré cliniques chez les animaux de laboratoires (lapins).

La première partie de ce travail décrit le contexte général dans lequel se notre travail c'est-à dire présentation le processus de fabrication du miel, les compositions et les effets du miel. Ensuite on situe la classification des antibiotiques, leur modes d'action et les mécanismes de résistances bactérienne. Enfin on parle généralement sur lapin et la histopathologie de la peau.

La présentation de l'ensemble des dispositifs expérimentaux, de l'appareillage de mesure, de la méthodologie adoptée, sera abordée dans une deuxième partie.

Le travail se termine par une conclusion rassemblant l'ensemble des résultats et l'énoncé de perspectives qui pourraient constituer une suite intéressante à cette étude.

Le miel nous fait tous fondre de plaisir. Savoureux délice de notre nature, il est apprécié depuis des milliers d'années. Et pas que par l'homme ! Ours, fourmis et autres animaux gourmands adorent aussi ce si doux « nectar de fleurs »... Mais d'où vient-il, ce miel si généreux ? Et comment passe-t-il de la ruche bourdonnante aux jolis pots qui ornent nos étagères ?

1. Définition

Le miel est la matière sucrée recueillie par l'abeille sur les plants vivants et qu'en la modification, elle emmagasine dans ses rayons de cire (***Andria manalina F, 2003***). Définit comme étant << la denrée produite par les abeilles mellifiques à partir du nectar des fleurs ou de sécrétions provenant de parties vivantes de plantes ou se trouvant sur elles, qu'elles butinent, transforment, combinent avec des matières spécifique propres, emmagasinent et laissent murir dans les rayons de la ruche. Cette denrée peut être fluide, liquide ou cristallisée>> (***Donnadieu, 2003***).

Dans de nombreux pays, la loi fourni une définition légale du miel. Cette dernière a pour objet la protection du consommateur contre les différents types de fraudes susceptibles d'être pratiqués (***Louveaux. J, 1968***).

Le *Codex alimentaires* définit le miel comme suit :

<< Le miel est la substance naturelle sucrée produite par les abeilles "*Apis mellifera*" à partir du nectar des plantes ou à partir des sécrétions provenant de parties vivantes de 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 >> (***Codex, 2001***).

2. Origine du miel

L'élaboration du miel est un procédé naturel complexe (Rossant, 2010). Les éléments de base de la nourriture des abeilles sont le nectar et le pollen des fleurs, et le miellat.

2.1. Le nectar

Le nectar, qui est en général la source principale de miel, est le liquide sucré sécrété par les glandes, dites nectarifères, présentes sur de nombreuses plantes. (Marchenay. P. et Berard. L. 2007).

Les nectaires qui abritent ces glandes sont situés soit sur les feuilles, appelés nectaires Extra floraux, soit sur les fleurs, (sépalés, pétales, carpelles) appelés nectaires Floraux, (figure1) retrouvés par exemple chez la plante de Thym. Pour recueillir un litre de nectar, on estime qu'il faut entre 20000 et 100000 voyage des abeilles (Gonnet. m, 1982, Donadieu, 1984, Louveaux. J, 1968, Ziegler. H, 1968).

Le nectar des plantes a une composition qui dépend bien entendu de l'espèce florale mais aussi des conditions Hygrométriques de l'air et du sol et des conditions climatiques en général. (Domerego. R et al., 2009 ; Prost. J 2005; Wykes. G 1952).

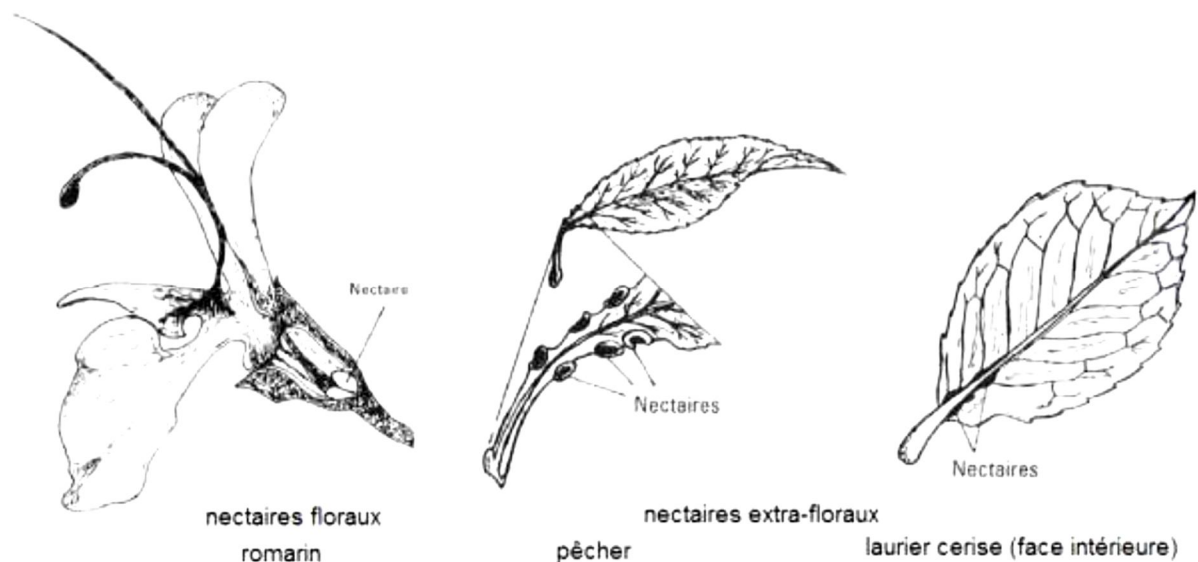


Figure 01 : Exemples de nectaires, Modifié d'après (Prost. J, 2005)

Les miels de nectar peuvent être de deux types : mono floraux ou poly floraux.

2.1. 1. Les miels mono floraux

Les miels mono floraux sont issus à partir du nectar des fleurs ou du miellat, provenant d'une seule origine végétale.

- **Le miel d'acacia** : jaune ou clair, transparent, pratiquement toujours liquide, est un bon régulateur intestinal.
- **Le miel d'aubépine** : est un miel des maladies cardiovasculaires non diabétiques. De couleur ivoire légèrement crémeuse, il présente une saveur agréable et douce à la dégustation.
- **Le miel de bruyère** : brun foncé et de saveur amère, très antiseptique, il est conseillé pour les prostatites ou les cystites chroniques.
- **Le miel de châtaignier** : de couleur ocre et d'odeur forte, avec une saveur d'une certaine âcreté, est conseillé pour les troubles vasculaires.
- **Le miel de romarin** : très apprécié depuis l'antiquité pour son onctuosité et sa saveur très douce, est conseillé pour ses vertus cholagogues.
- **Le miel de tilleul** : odeur très parfumée et de saveur très agréables à des propriétés antiseptiques, calmantes sudorifiques, diurétiques, cholagogues....
- **Le miel de trèfle** : odeur légère et de saveur délicate, est le miel des sportifs (*Brunet, 2006*).

2.1.2. Les miels poly floraux

Si le miel provient de fleurs ou de plantes diverses et variées, on parle alors de miels poly floraux, de miel « toutes fleurs » ou miel « mille fleurs ». Les saveurs, textures, couleurs et propriétés thérapeutiques de ces miels sont variables et plus difficiles à déterminer.

Les miels poly floraux peuvent être classés en fonction de leur origine géographique.

On peut aussi distinguer les miels selon la saison de récolte. On parle alors de miel de printemps ou de miel d'été.

Enfin, les miels poly floraux peuvent être classés en fonction de la terre ou ont poussé les fleurs dont ils sont issus. Il existe ainsi des miels de garrigues, de causses, de plaines..., les miels de montagne n'ont pas nécessairement plus de vertus thérapeutiques que les miels de plaines ou de garrigues. Il faut cependant noter que, comme ils sont en

partie élaborés en partie élaborés à partir de miellat, ils sont plus riches en minéraux et en poly phénols. Leurs capacités antioxydants sont donc plus marquées (*Kékes, 2010*).

2.2. Le miellat

Le miellat est un liquide sucré que butinent les abeilles et autres insectes sur les feuilles de divers arbres ou arbustes : sapin, mélèze, épicéa, pin, cèdre, érable, chêne, tilleul, mais aussi sur les céréales dont le maïs. (*Prost. J, 2005*). Cette excrétion comprend essentiellement des sucres, 90 à 95 % de la matière sèche (monosaccharides : fructose, galactose, glucose, etc. ; disaccharides : maltose, mélibiose, sucrose, tréhalose, turanose, etc. et tri saccharides : fructomaltose, mélézitose, raffinose, etc.) (*Wäckers F, 2000 ; Yao I et al. 2001*).

Cependant, lorsque les conditions climatiques sont défavorables, le miellat peut représenter une source nutritive intéressante pour l'abeille. (*Clement. H, 2006*).

Les miels de miellat sont rares. Voici néanmoins un bref descriptif de ceux que l'on peut le plus facilement se procurer :

- **Miel de chêne** : brun foncé quasiment noir, liquide, crémeuse, parfumée, légèrement maltée et très riche en fer et autres minéraux, c'est le meilleur contre l'anémie.
- **Miel de sapin** : brun foncé, noir verdâtre liquide à crémeuse parfumée, légèrement maltée très riche en fer et autres minéraux, antiseptique est meilleur contre l'anémie, la fatigue et les affections des voies respiratoires ou urinaires. Citons enfin le miel de forêt, qui est en large partie élaboré à partir de miellat (*Kéké, 2010*).

2.3. Le pollen

Le pollen est l'aliment fécondant mâle d'une fleur qui se trouve sur les anthères des étamines (*Starub, 2007*)

En moyenne, un grain renferme 20% de protides, dont 50% sont des acides aminés indispensables, 5% de lipides, 36% de glucides, 11% d'eau et 3% de sels minéraux (potassium, magnésium, calcium, fer, etc.). Il comporte également de nombreux pigments (caroténoïdes, rutine) et des vitamines issues des groupes B, C, D, E, et A.

Le pollen constitue la principale source de protéines pour l'abeille. Au total, 10 à 30 mg sont ramassés par voyage, travail qui peut être réalisé en dix minutes. Une ruche récolte ainsi 30 à 40 kg de pollen durant le printemps et l'été (*Rossant, 2010*).

3. Principales différences entre miels de nectar et de miellat

Le miel de miellat est de couleur plus sombre et possède un goût plus prononcé que le miel de nectar. Il possède également des sucres plus complexes comme le mélézitose ou l'erlose, qui sont formés dans le tube digestif des Homoptères. Il est aussi plus riche en azote, en acides organiques et en minéraux. Ces différentes caractéristiques permettent d'identifier les miels de miellats (**tableau 01**).

Tableau 01 : Principales différences entre miel de miellat et miel de nectar (**Bruneau E, 2002**)

Les caractéristiques	miellat	nectar
pH	4,5	3,9
Minéraux (cendres	0,58%	0,26%
Fructose + glucose	61,6%	74%
Autres sucres exprimés en % des sucres totaux		
Mélézitose	8,6%	0,2%
Raffinose	0,84%	0,03%
Maltose +isomaltose	9,6%	7,8%

4. Formation du miel

L'élaboration du miel commence dans le jabot des abeilles butineuses. Sitôt prélevée, la matière première est mélangée aux sécrétions des glandes salivaires de l'insecte, qui la modifie. Ce miel brut est ensuite travaillé et stocké par de jeunes ouvrières. L'élaboration du miel comporte les phases suivantes: l'abeille dégorge tout d'abord rapidement, par saccades, le contenu de son jabot et l'étale en une goutte à l'aide de sa trompe puis le réabsorbe. La goutte de miel sera alors mélangée à de nouvelles sécrétions, provenant principalement des glandes du pharynx. Ce processus durera de 15 à 20 minutes. Parallèlement, une partie de l'eau s'évapore, de sorte que le miel brut, qui contenait 25 à 40 g de matière sèche, deviendra du miel à demi mûri contenant 60 % de matière sèche. A ce stade, il est à nouveau déposé dans les alvéoles où se déroulera la deuxième phase de l'élaboration: sous l'influence de l'air sec passant au travers des rayons de la ruche, le miel s'épaissira jusqu'à ce que sa teneur en eau ne soit plus que de 17 à 20%. Lorsqu'il est ainsi parvenu à maturité, les abeilles ferment les

alvéoles au moyen de la cire. Quand le miel est extrait des rayons, il contient en général plus de 20 g d'eau/100 g de miel et ne peut être conservé que dans certaines conditions (miel non mûr). Lors de la préparation du miel, les teneurs en protéines (enzymes), en acides organiques et en sels minéraux augmentent. Pendant le processus de maturation de même que plus tard dans les alvéoles operculées, le miel subit des transformations chimiques importantes, en particulier une augmentation des hexoses (fructose et glucose) suite à l'hydrolyse du saccharose en même temps que la formation de nouveaux types de sucre (oligosaccharides), à haut poids moléculaire (*Bogdanov. S et al., 1995*). Cité par (*Boukraa. L, 2007*)

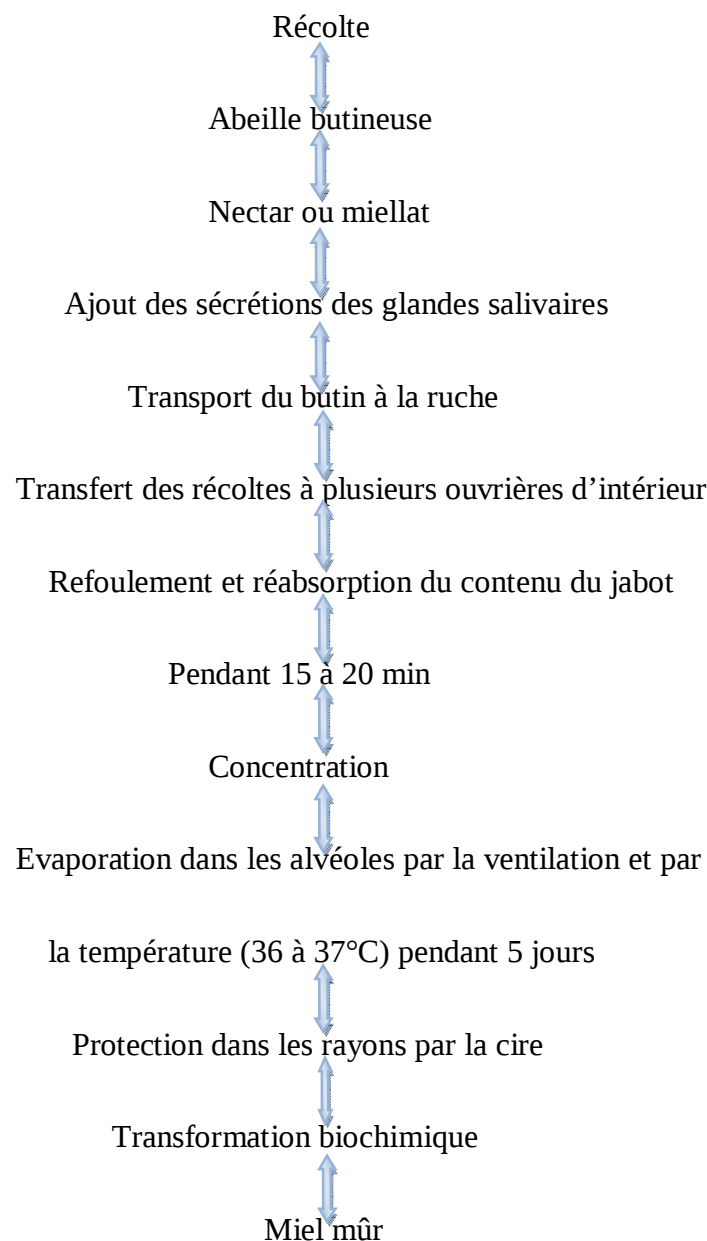


Figure 02 : Les phases d'élaboration du miel (*Gonnet. M, 1982*) Cité par (*Boukraa, 2007*).

5. Composition et caractéristiques du miel

La composition du miel varie en fonction de sa provenance, de la saison de sa récolte, des plantes butinées, des modalités de son recueil et de sa conservation. Toutefois, dans le miel certains groupes de substances sont toujours présents mais en quantité variable : eau, glucides, protides ou substances azotées, acides organiques, lactones, substances minérales, oligo-éléments, vitamines, lipides, produits polluants comme le plomb, le cadmium et l'hydroxyméthylfurfural (*Bogdanov. S et al., 1996*).

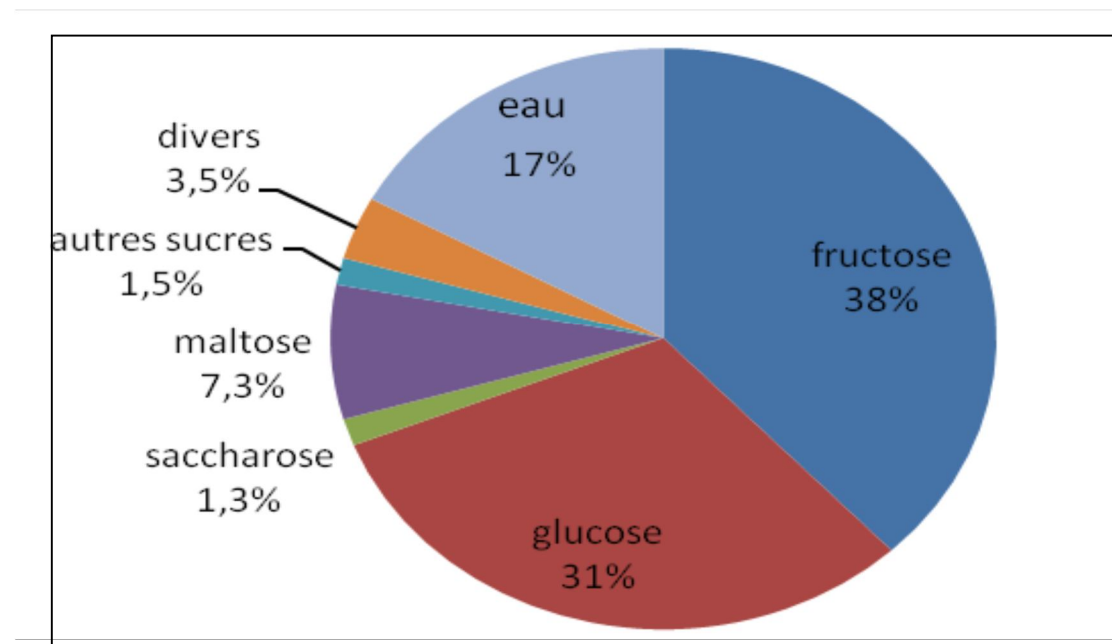


Figure 03: Composition moyenne du miel (*Bruneau. E, 2002*).

5.1. Composition et propriétés chimiques essentielles

5.1.1. Composants majeurs

5.1.1.1. L'eau

La teneur en eau est une donnée très importante à connaître, car elle conditionne la qualité du miel. En effet, seuls les miels avec une teneur en eau inférieure à 17% sont stables lors de la conservation et ne risquent pas de fermenter (*Bogdanov. S et al., 2006*).

Selon Gonnet. M (1982), Lorsque les abeilles operculés les contenants du miel au niveau des alvéoles, la teneur en eau de celui-ci est de l'ordre de 17 % à 18 %.

Cependant M^{AC}CLESKEY. C et Oertel. E (1950) ont montré que l'operculation peut se faire pour les valeurs très variables de la teneur en eau, allant jusqu'à plus de 21 %, ce qui explique la fermentation du miel dans la ruche dans certaines localités chaudes et humides.

5.1.1.2. Les Glucides

Les glucides représentent 95 à 99 % de la matière sèche du miel. C'est-à-dire que l'eau et les sucres ensemble forment la quasi-totalité du miel (*Louveaux. J, 1985*).

Les deux sucres les plus abondants du miel sont le glucose (ou dextrose) et le fructose (ou lévulose), la teneur moyenne en fructose des miels est de 38% environ, elle est de 31% pour le glucose. Les chiffres des rapports fructose/glucose et glucose/eau sont spécifiques à chaque variété de miel et une teneur basse, si possible inférieure à 18% ou même à 17%, garantit la bonne conservation du miel (*Bogdanov. S et al., 2005*).

5.1.2. Composants mineurs

5.1.2.1. Les acides

Bien que le miel en contienne moins de 1% (miel de forêt < 2%), les acides jouent néanmoins un rôle déterminant dans la formation de son goût. Les miels riches en acides (par exemple le miel de miellat) paraissent moins sucrés que ceux contenant peu d'acides (miel d'acacia). L'acide principal est l'acide gluconique. (*Bogdanov. S et Gallmann. P, 2006*).

5.1.2.2. Sels minéraux

La teneur en sels minéraux du miel est en moyenne, selon (*White et al, 1962*) de 0,169 % (déviations standard 0,15 ; valeur extrême : 0,020-1,028), elle est donc faible ou très faible et sujette à des variations très importantes. En règle générale, les miels de miellat contiennent deux fois plus de minéraux que les miels de nectar.

White. J et al ; (1962) ont confirmé l'existence d'une relation entre la couleur des miels et leur teneur en cendres.

5.1.2.3. Protéines

Ils sont présents en faible quantité dans le miel (0,26%) et la teneur en azote est négligeable, de l'ordre de 0,041%. Il s'agit essentiellement de peptones, d'albumines, de globulines et de nucléoprotéines qui proviennent soit de la plante (nectars, grains de pollen), soit des sécrétions de l'abeille. Il y a également des traces d'acides aminés comme la proline, la trypsine, l'histidine, l'alanine, la glycine, la méthionine, etc. La proline est le plus abondant des acides aminés du miel. La quantité de proline donne une indication sur la qualité du miel, et elle ne doit pas être inférieure à 183 mg/ kg (*Meda. A et al ; 2005*).

5.1.2.4. Enzymes

Les enzymes proviennent soit de la salive de l'abeille, soit du nectar (*Domerego. R et al., 2009*).

Les principaux enzymes du miel sont : l'invertase (α -1,4 glucosidase), l'amylase (α amylase; diastase), glucose oxydase, catalase et la phosphatase. Elles proviennent principalement des abeilles. (*White. J et al, 1978*).

Il existe aussi d'autres enzymes: catalase, phosphatase et gluco-oxydase qui transforme le glucose en acide gluconique. Ces enzymes étant dégradées par la chaleur (*Pham, 1999*).

5.1.2.5. Vitamines

Le miel est un aliment pauvre en vitamines, puisqu'il présente des teneurs qui sont loin de couvrir les besoins de l'homme (*Donadieu. Y, 1978*). Les vitamines sont majoritairement apportées via les grains de pollen. Les vitamines liposolubles A, D, E et K sont présentes de façon virtuelle. La vitamine C peut également être retrouvée de façon occasionnelle, notamment dans le miel de menthe (*Domerego. R et al., 2009 ; Apimondia, 2001*).

5.1.2.6. Les substances aromatiques

Les substances aromatiques sont, comme leur nom l'indique, à l'origine de l'arôme du miel (*Sesta G et al., 2008*).

Dès 1930, Nelson. E, mettait en évidence la présence de l'anthranylate de méthyle dans les miels d'oranger. Tandis que (*Schmalfus S et Barthmeyer H, 1929*), découvraient un constituant aromatique important, le diacétyl. (*Hoopen, 1963*) a mis en évidence le formaldéhyde, l'acétaldéhyde, l'acétone, l'isobutyraldéhyde et le diacétyl.

5.1.2.7. Les pigments

Les pigments participent dans une moindre mesure à la coloration des miels, on trouve (*El-Hady. F et Hegazi. A 2001*) :

- Caroténoïdes
- Flavonoïdes (0,006%)

5.2. Propriétés biologiques

5.2.1. La valeur nutritionnelle du miel

Le miel étant composé de sucres simples (glucose et fructose), il est facilement assimilé par l'organisme : il passe dans le sang très rapidement et la glycémie décroît ensuite lentement, doué d'un pouvoir sucrant important. Il permet de couvrir les besoins énergétiques de l'organisme dans des conditions optimales (*Gout. J, 2009*).

En effet 100g de miel représentent 5 œufs ou 0.6 litre de lait ou 3 bananes ou 4 oranges ou 180grs de viande ou 78grs de fromage (*khenfer et Ferral, 1997*).

Il est souvent utilisé par les sportifs pour sa valeur énergétique : 310kCal / 100g (*Guinot et al, 1996*).

Il est cependant moins calorique que le sucre (environ 405kCal / 100g), ce qui en fait un aliment apprécié des diététiciens (*Gout. J, 2009*). Il a été prouvé que le miel favorise aussi l'assimilation du calcium et la rétention de magnésium (*Chauvin. R, 1968*).

Traditionnellement, il a été utilisé dans la nourriture comme agent édulcorant.

Cependant, plusieurs aspects de son utilisation indiquent qu'il fonctionne comme un conservateur alimentaire (*Ferreres et al, 1993*).

5.2.2. Les valeurs thérapeutiques

5.2.2.1. Activité antibactériennes

Le miel, il est stérile à l'origine et sa composition (78% de sucre) empêche le développement des germes pathogènes (*Gret, 2002*). Il faut savoir que l'on ne prend aucun risque à consommer un miel, même les très ancien. Les bactéries ne peuvent pas se multiplier dans un milieu sucré et les risques pour la santé sont nuls, quelque soit l'âge du miel (*Gout, 2008*).

Selon Prost. J (1987), on a rapporté que le miel a un effet inhibiteur à environ 60 espèces des bactéries comprenant les aérobies et les anaérobies, les grams-positifs et les grams-négatifs, comme *staphylococcus aureus*, de certains agents pathogènes de l'intestin et des levures comme *condida albicans* (*Prost. J, 1987*). Ces propriétés antibiotiques dépendent de plusieurs facteurs :

➤ L'effet osmotique

Le miel est une solution sursaturée de sucres, il est hypertonique. L'hypertonie provoque la lyse des membranes bactériennes et inhibe la croissance des bactéries avant d'induire leur mort (**Cooper. R, 2007**).

L'osmolarité est la conséquence de la forte teneur en sucre du miel. En effet, il est connu qu'une osmolarité importante, induite par une forte teneur en sucre, présente un effet bactéricide et favorise la cicatrisation (Archer HG et al, 1990). Le miel agit donc de manière osmotique, en provoquant une forte déshydratation des germes qui n'ont alors plus suffisamment d'eau pour survivre. Cependant, il est intéressant de noter qu'à osmolarité équivalente avec une solution de sucre, le miel est plus efficace pour inhiber la prolifération de nombreux germes et notamment celle des *Staphylocoques* à coagulase négative (**French VM et al, 2005**)

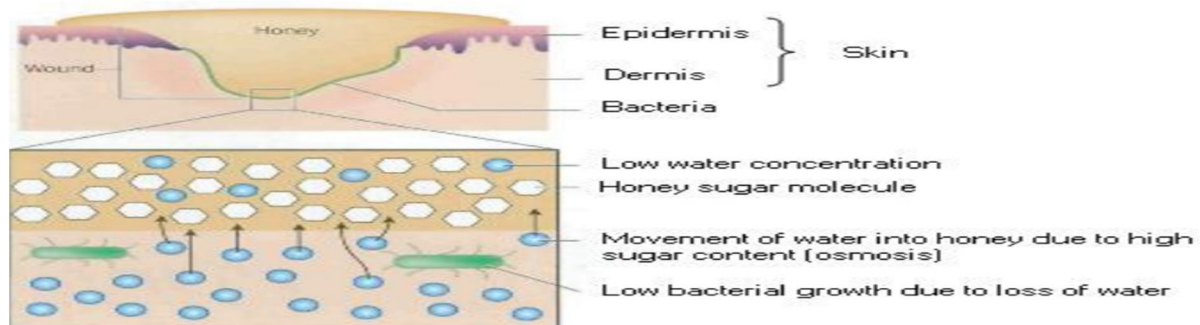


Figure04: Effet osmotique et action des molécules de sucres sur la croissance microbienne (**Laure RIGAL2012**).

➤ le pH

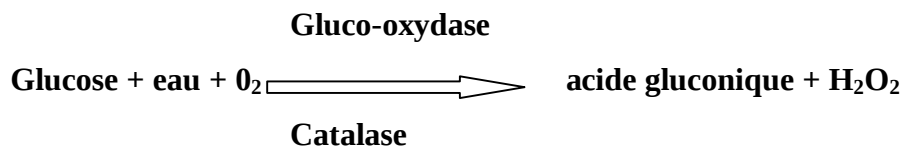
Le pH du miel varie entre 3.2 et 5.5 il est généralement inférieur à 4 dans le miel de nectar, supérieur à 5 dans ceux de miellat (sapin=max 5.3). Les miels à pH bas (type lavande= min3.3) se dégradent plus facilement : il faudra alors prendre un soin particulier à leur conservation (**Leyral et Vierling, 2007**).

Le miel est acide, du à l'action du système gluconolactone/acide gluconique et est actif contre les germes *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus pyogenes*, *Corynebacterium diphtheriae*, *Bacillus aureus* (**Ceyhan. N, Ugur. A, 2001**).

➤ Le peroxyde d'hydrogène

Le peroxyde d'hydrogène H_2O_2 est considéré comme la principale inhibée contenue dans le miel (**Bogdanov. S, 2001**).

Dans 1937 Dold. H a démontré que l'inhibine, qui est thermolabile et photo labile, provenait de la production naturelle du peroxyde d'hydrogène par le glucose oxydase du miel par la réaction suivante :



L'acide gluconique formé accroît l'acidité du miel et le rend ainsi peu favorable au développement de colonies bactériennes. Lors de l'application de miel, la libération de peroxyde d'hydrogène s'opère de façon lente et prolongée, permettant ainsi une action locale efficace. L'action du peroxyde d'hydrogène contenu dans le miel sur des bactéries résistantes (*Staphylococcus aureus* résistant à la pénicilline et quatre souche d'*Enterococcus faecium* résistantes à la vancomycine) prélevées dans des plaies infectées a été récemment soulignée (**Brudzynski K, Lannigan R, 2012**).

➤ Les facteurs non peroxydiques

L'origine florale du miel serait responsable des activités antibactériennes dues aux substances autres que des peroxydes (**Bogdanov. S, 2001**). Par exemple acides aromatiques et composés avec les propriétés chimiques différentes, phénoliques et flavonoïdes, (**Russel et al., 1988**).

➤ Défensines

Les défensines sont de petites protéines retrouvées à la fois chez les insectes et les animaux, tout comme chez l'homme. Elles sont impliquées dans la défense immunitaire et servent à combattre les infections. Chez les abeilles, les défensines sécrétées se retrouvent dans le miel, où elles conservent leurs propriétés immunitaires et antibactériennes (**Patrick D, 2012**).

Dans le processus de cicatrisation, la libération d'eau oxygénée n'est qu'un des mécanismes d'action du miel, elle n'explique pas tout ! En utilisant une nouvelle approche de neutralisation successive des différents facteurs bactéricides individuels du miel, des chercheurs néerlandais ont identifié, très récemment, en juillet 2010, une molécule sécrétée par les abeilles et baptisée la défensine-1 qui serait responsable d'une grande partie de l'activité antibactérienne du miel. Cette protéine, fabriquée par les glandes hypopharyngiennes et mandibulaires des abeilles, conserve dans le miel ses propriétés immunitaires.

Pour le professeur à l'origine de cette découverte, le Pr. Sebastian AJ Zaat, chercheur du département de microbiologie médicale du centre médical académique d'Amsterdam, «*le miel ou ses composants isolés pourraient être d'une grande valeur pour la prévention et le traitement des infections causées par des bactéries résistantes aux antibiotiques.*» (**Nathalie Petit, 2012**)

5.2.2.2. Propriété cicatrisant

Le miel a tendance à absorber l'humidité de l'air. En effet, grâce à ses propriétés hygroscopiques, en partie dues au fructose, le miel génère un milieu humide permettant l'hydratation de la peau qui peut être favorable au processus de cicatrisation.

En application sur une plaie, le miel contribue à la première étape de la cicatrisation. En effet, la détersion en milieu humide permet de solliciter la flore bactérienne normalement présente sur la peau ainsi que les enzymes protéolytiques qui sont capables d'éliminer les débris nécrotiques et/ou fibrineux (Hoyet, 2005). Sur une plaie, le milieu humide a également d'autres avantages : il réduit la douleur, protège la plaie, favorise la formation du tissu de granulation et l'épithélialisation (**Lusby et al., 2002**).

➤ Le pH acide

Le pH du miel, variant entre 3 et 6, permet de maintenir des conditions optimales pour l'activité fibroblastique. En effet, la migration et la prolifération des fibroblastes, ainsi que la synthèse de collagène sont optimales dans un environnement légèrement acide (**Lusby et al., 2002**).

➤ L'osmolarité

Le miel est une solution saturée ou sursaturée de sucres, les principaux étant le glucose et le fructose (**Olaitan et al, 2007**). Il possède donc une osmolarité élevée, liée à sa forte concentration en sucres, qui lui confère une partie de ses propriétés thérapeutiques. L'effet osmotique permet de drainer le plasma et la lymphe (qui peuvent contenir des éléments favorisant la reconstitution cutanée) à partir des tissus sous-jacents. De plus, l'osmolarité du miel favorise l'exsudation et donc la diminution de l'œdème au sein de la plaie (**Descottes, 2009 ; Rossant, 2011**). Enfin, l'effet osmotique du miel favorise un milieu humide qui facilite les différentes étapes de la cicatrisation (Figure 5).

Le traitement des plaies par pression négative, très employé de nos jours, est à mettre en parallèle avec l'action osmotique du miel. Cette technique consiste à placer la surface d'une plaie sous pression inférieure à la pression atmosphérique ambiante. Pour cela, un pansement spécialement réalisé est raccordé à une source de dépression et à un système de recueil des exsudats. Les effets obtenus sont le drainage de la plaie, une réduction de l'œdème, et la formation du tissu de bourgeonnement (b. www.has-sante.fr).

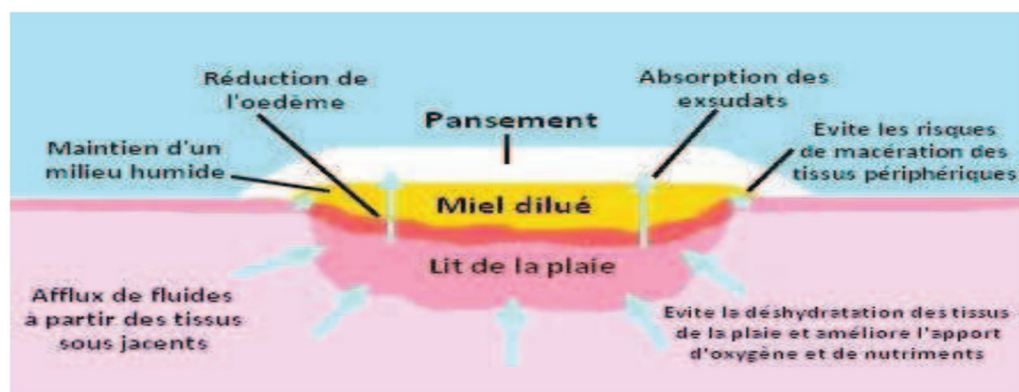


Figure 05 : Schéma représentant les effets de l'osmolarité du miel (Tomczak, 2010).

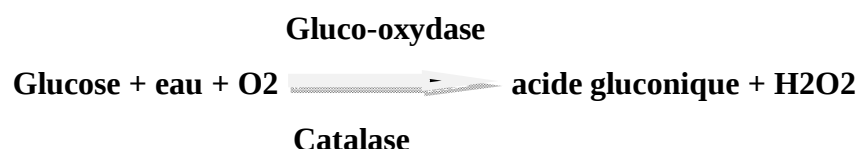
➤ Les sucres

Les sucres et notamment le lévulose et le fructose présents dans le miel améliorent localement la nutrition de la plaie et donc accélèrent le processus d'épithélialisation.

Les cellules (macrophages, fibroblastes ...) impliquées dans le processus de cicatrisation trouvent grâce à ces sucres une source d'énergie supplémentaire qui contribue à leur bon fonctionnement (Lusby et al, 2002).

➤ Le peroxyde d'hydrogène

Le peroxyde d'hydrogène est produit par réaction enzymatique. En effet, la glucose-oxydase, sécrétée par les glandes hypopharyngiennes de l'abeille, transforme le glucose en présence, d'eau et d'oxygène, en peroxyde d'hydrogène et acide gluconique, selon la réaction suivante :



Encore appelé eau oxygénée, le peroxyde d'hydrogène joue un rôle dans la détersion des plaies. Lorsqu'il est en contact avec des tissus et du sang, il se décompose en eau et oxygène ce qui crée une « micro effervescence » et un nettoyage mécanique de la plaie (Rossant, 2011).

Il apparaît également que le peroxyde d'hydrogène stimule la multiplication cellulaire et favorise une évolution normale de l'inflammation au cours de la cicatrisation. Il stimule notamment la croissance des fibroblastes et des cellules épithéliales qui vont participer à la réparation tissulaire. Dans le même temps, il stimule également le développement d'une néo vascularisation dans le tissu cicatriciel (*Descottes, 2009*).

5.2.2.3. Effet antioxydant

Le terme que le "stress de l'oxydant", décrit au manque d'équilibre dans l'organisme entre la production de radicaux libres et l'activité antioxydant de protection. La protection contre l'oxydation est pensée prévenir des maladies chroniques. La modification de l'oxydant des lipoprotéines est considérée comme un facteur important dans la pathogénèse d'artériosclérose. Il a été démontré que le miel contient une significative activité antioxydant incluant, le glucose oxydase, la catalase, l'acide ascorbique, les flavonoïdes, acides phénoliques, les dérivées de caroténoïdes, acides organiques, produits de réaction de Maillard, acides aminés, protéines. (*Ames. B, Shigenaga. M, Hagen. T, 1993*).

Il y a une corrélation considérable entre l'activité antioxydant, le contenu phénolique de miel et l'inhibition de l'oxydation in vitro de la lipoprotéine de sérum humain. (*Frauenfelder. R, 1921*).

5.2.2.4. Effet anti-inflammatoire

Les propriétés anti-inflammatoires du miel viennent de ses propriétés antioxydantes. Dans le cas où un stimulus inflammatoire persiste, l'activité de phagocytose provoque la libération de radicaux libres, qui stimulent la production de cytokines ce qui amplifie la réponse inflammatoire. En neutralisant les radicaux libres, le miel joue un rôle anti-inflammatoire (*Schreck et al. 1991 ; Molan 2009 ; Gharbi. M, 2011*), Les flavonoïdes présents semblent provoquer la disparition des douleurs et gonflements. L'ingestion de miel est à recommander aux patients traités pour cancers de la bouche, tête et cou qui subissent une hypo-salivation et une fragilisation des muqueuses O.R.L irradiées, avec souvent amaigrissement multifactoriel associé. (Des bains de bouche à la camomille, riches en flavonoïdes, sont utilisés en milieu universitaire). (*Géraud. D, 2005*).

L'ingestion de miel avait un effet positif dans un modèle expérimental de maladie de l'intestin provocatrice dans les rats. (*Biswas. I, 2009*).

5.2.2.5 Effet anticancéreux

Chez des souris et des rats, l'administration orale et quotidienne de miel durant les 10 jours avant l'inoculation de cellules cancéreuses de carcinome mammaire et colique a permis d'inhiber la formation de métastases ($p < 0,05$) avec des doses de 2 g/kg pour les souris et 1 g/kg pour les rats (*Orsolić. N et al. 2003*).

Chez la souris, une administration orale de miel (10 ; 100 ou 1000 mg/100g de poids vif) a montré une action préventive *in-vitro* et *in-vivo* sur le développement de la tumeur « *Ehrlich ascites tumor* », injectée en intra-péritonéal. La prolifération tumorale et la viabilité des cellules tumorales ont été inhibées (*Attia. W et al., 2008*) cité par (*Gharbi. M, 2011*).

1. Historique :

L'histoire de la découverte et du développement de la pénicilline, le premier antibiotique à usage thérapeutique, est complexe et fascinante. La pénicilline fut réellement découverte en 1896 par un étudiant français en médecine, Ernest DUCHESNE, mais son travail fut oublié et la pénicilline fut redécouverte et portée à l'attention des scientifiques par le médecin écossais, Alexander Fleming (**Prescott, et al, 2007**). En 1928, Fleming constat que les staphylocoques dorés qu'il avait ensemencés sur une gélose nutritive ne se sont pas développés à proximité d'une moisissure de type *Pénicillium* qui avait souillé une culture ; il a émet l'hypothèse que le *Pénicillium* sécrète une substance qui tue ou inhibe le développement des staphylocoques. C'est par hasard, qu'il a ainsi découvert la pénicilline (**Figarella et al, 2007**).

Ce premier antibiotique donna la possibilité de combattre les anciens fléaux qu'étaient la pneumonie, la tuberculose, la syphilis, les infections staphylococciques, le typhus et les agents d'autres maladies humaine (**Perryet al, 2002**).

La découverte de la pénicilline stimula la recherche d'autres antibiotiques. Selman Waksman annonça en 1944 qu'il avait trouvé un nouvel antibiotique, la Streptomycine, produit par l'actinomycète *Sreptomyces griseus*. Cette découverte fut faite après l'examen sélectif patient d'environ 10.000 souches de bactéries et de mycètes du sol.

De plus, les antibiotiques se sont montrés exceptionnellement utiles en recherche microbiologique (**Prescottet al, 2007**).

2- Origines

Il existe trois sources d'antibiotiques :

- Des molécules sécrétées par le métabolisme intermédiaire de certaines bactéries ou de champignons sont douées d'activité anti biotique sur des bactéries d'autres espèces. Par exemple la gentamicine est produite par *Micromonospora purpurea*, et les céphalosporines par des champignons de la famille des *Aspergillaceae*.

- Des molécules dérivées des précédentes par Hémisynthèse :

C'est le cas des pénicillines hémisynthétiques, par exemple: l'ampicilline.

- Des molécules non produites dans la nature et obtenues par synthèse totale comme les quinolone (**Idrissa N ; 1965**).

3. Découverte des antibiotiques

Tableau 02 : Les dates de découverte de quelques molécules d'antibiotique naturelles, (Anonyme 2 e, 2005) ; (Chatellet, 2007) ; (Anonyme 7 d, 2008).

Micro-organisme	Famille	Molécule	Date decouverte
Pénicillium	Pénicillines	Pénicillines	1929
Streptomyces	Aminoglycosides	Streptomycine	1944
		Néomycine	1949
		Kanamycine	1957
		Tobramycine	1967
		Amikacine	1975
	Tétracycline	Chlorotétracycline	1948
		Oxytétracycline	1949
	Quinolones	Acide malidixique	1962
Céphalosporum	Macrolides	Chloramphénicol	1946
	Phénicolés	Erythromycine	1952
	Céphalosporines	Céphalotine	1954

4. Définition des antibiotiques

- **WAKSMAN(1943)** : « toute substance chimique produite par des micro-organismes capable d'inhiber le développement et/ou de détruire les bactéries et d'autres micro-organismes»
- **TURPIN et VELU(1957)** : « Tout composé chimique, élaboré par un organisme vivant ou produit par synthèse, à coefficient chimiothérapeutique élevé dont l'activité thérapeutique se manifeste à très faible dose d'une manière spécifique , par l'inhibition de certains processus vitaux, à l'égard des virus, des micro-organismes ou même de certains êtres pluricellulaires» (*Guezlane T et al ,2010*).

Les antibiotiques sont des composés antimicrobiens et sont plutôt des substances naturelles que synthétiques. Ils sont produits par un large éventail de micro-organismes fongiques et bactériens. Un grand nombre d'antibiotiques a été identifié en milieu naturel, mais moins de 1% sont médicalement utiles. Cependant, ceux qui le sont ont eu un impact déterminant sur le traitement des maladies infectieuses.

Beaucoup d'antibiotiques naturels ont été structurellement modifiés en laboratoire, pour augmenter leur efficacité formant ainsi, la classe des antibiotiques semi-synthétiques (*Madigan M et Martinko J ,2007*). Mais toutefois chaque antibiotique a une spécificité d'action. Ils n'agissent pas sur les virus (*Figarella et al, 2007*).

5. Classification des antibiotiques

5.1. Critères de Classification

La classification des antibiotiques peut se faire selon :

- ✓ **Origine** : élaboré par un organisme (naturel) ou produit par synthèse (synthétique ou semi synthétique)
- ✓ **Mode d'action** : paroi, membrane cytoplasmique, synthèse des protéines, synthèse des acides nucléiques
- ✓ **Spectre d'activité** : liste des espèces sur lesquelles les antibiotiques sont actifs (spectre étroit ou large)
- ✓ **Nature chimique** : très variable, elle est basée souvent sur une structure de base (ex : cycle β lactame) sur laquelle il y a hémi synthèse. La classification selon la nature chimique nous permet de classer les antibiotiques en familles (β lactamines, aminosides, tétracyclines.....etc.) (*Adam F et Drouillared I, 2003*).

5.2. La classification

5.2.1. La classification selon le mode d'action :

Les antibiotiques se différencient des antiseptiques par leur mécanismes d'action (figure 06), ils agissent à un niveau précis des structures bactériennes, dénommé site d'action. L'action d'un antibiotique est le résultat des interactions organisme-antibiotique d'une part et antibiotique-bactéries d'autre part. Pour résumer ces dernières, on peut dire que pour être actif, un antibiotique doit :

- Pénétrer jusqu'à sa cible bactérienne.
- Ne pas être inactivé.
- Être capable de se lier à sa cible (**GAUDY.C et BUXERAUD.J ,2005**).

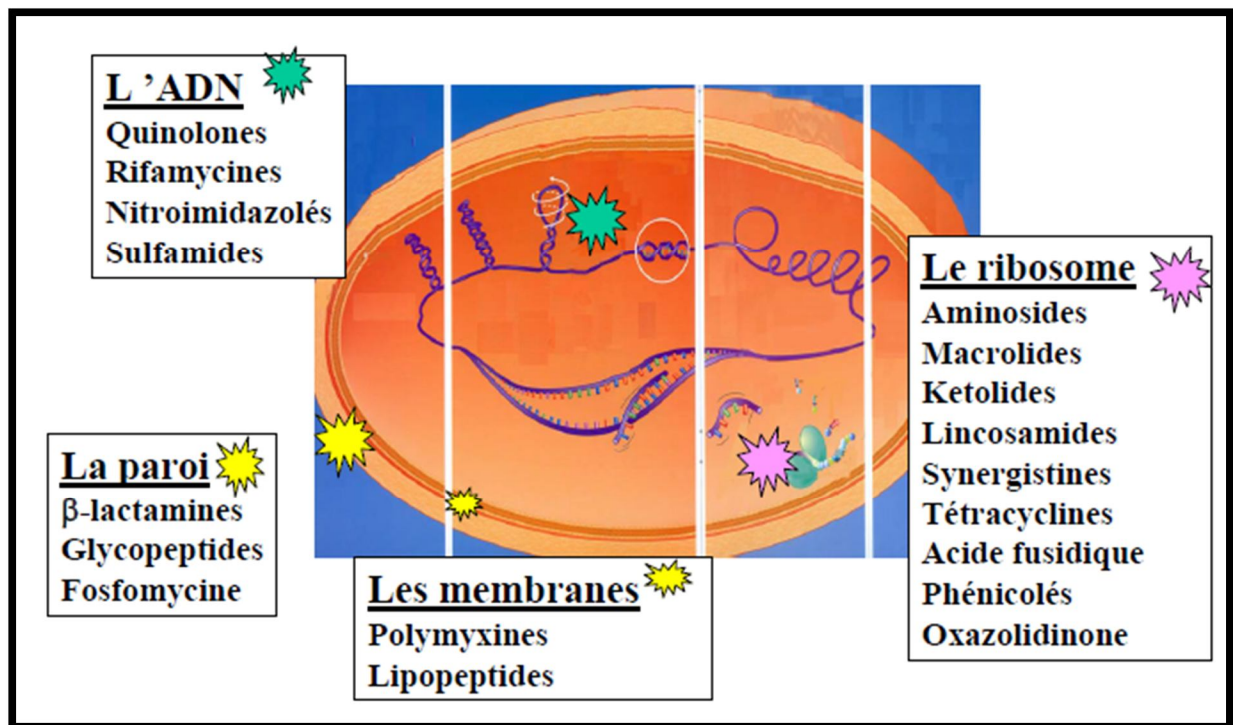


Figure 06 : Les cibles bactériennes des antibiotiques (M. Archambaud, 2009).

Les quatre cibles principales sont

5.2.1. 1. La paroi

Inhibition de la synthèse de la paroi bactérienne (bêtalactamines, glycopeptides, fosfomycine) (TALBERT, et al, 2009).

La pénicilline et les antibiotiques chimiquement apparentés empêchent la réaction de transpeptidation qui est une étape importante dans l'assemblage du peptidoglycane, le polymère de la paroi cellulaire. Ceci entraîne la fragilisation de la paroi cellulaire, notamment chez les micro-organismes Gram positif. Les micro-organismes vivant généralement dans un environnement osmotiquement hostile, et ceux qui auront une paroi défectueuse, pourront absorber de l'eau et éclater ou se lyser. Les bactéries Gram négatives ont tendance à être moins sensibles à la pénicilline car leur enveloppe externe empêche l'antibiotique d'atteindre la couche de peptidoglycane de la cellule (PERRY et al, 2002).

5.2.1. 2. La membrane cytoplasmique

Inhibition de la synthèse de la membrane (polymyxines) (TALBERT et al, 2009).

La polymyxine et la tyrocidine sont tous deux, des antibiotiques polypeptidiques qui altèrent les membranes cellulaires. Les deux sont produites par des bactéries du genre *Bacillus*. La tyrocidine est un ionophore, qui perturbe la perméabilité sélective en formant des canaux à travers la membrane cellulaire, entraînant la perte de cations monovalents. Par conséquent, le

microorganisme ne peut établir de force proton motrice, et le transport vers l'intérieur ou l'extérieur de la cellule est altéré. La polymyxine provoque des dommages similaires à la membrane cytoplasmique. Les antibiotiques peptidiques ne sont pas ingérés mais sont appliqués par voie externe pour traiter des infections de la peau. Les enzymes présentes dans le tractus intestinal sont capables de dégrader ce type d'antibiotiques (*Perry, et al, 2002*).

5.2.1.3. Le chromosome

Inhibition de la synthèse de l'ADN (quinolones) (*Talbert et al, 2009*) Les quinolones inhibent l'ADN gyrase et interfèrent ainsi avec la réplication, la réparation et la transcription de l'ADN (*Prescott et al, 2007*).

5.2.1.4. Le ribosome :

Inhibition de la synthèse protéique (cyclines, aminosides, macrolides) (*Talbert et al, 2009*)

Les antibiotiques qui inhibent la synthèse protéique, le font par fixation au ribosome bactérien (*Perry et al, 2002*). Dans certaines situations cliniques, l'association de deux antibiotiques ayant des sites d'action distincts sur la bactérie permet d'obtenir une meilleure efficacité thérapeutique (*Talbert et al, 2009*) Les antibiotiques les plus sélectifs sont ceux qui interfèrent avec la synthèse des parois bactériennes (les pénicillines, les céphalosporines, la vancomycine et la bacitracine). Ces produits ont un indice thérapeutique élevé parce que les parois bactériennes possèdent une structure unique inexistante dans les cellules eucaryotes (*Prescott et Klein, 2007*)

Tableau 3 : Principaux antibiotiques classés selon leur site d'action (*Figarella J et Terret M, 2007*).

Site d'action	Paroi	Membrane	Chromosome	Ribosomes
Antibiotiques	Pénicilline	Thyothricine	Actinomycine	Aminosides
	Cyclosérine	Polymyxine	Rifamycine	Chloramphénicol
	Bacitracine		Mitomycine	Chloramphénicol
	Novobiocine		Acide nalidixique	

5.2.2-La classification selon le spectre d'activité

Liste des espèces sur lesquelles les antibiotiques sont actifs (spectre étroit ou large) ; Le spectre sera évoqué lors de l'étude des classes thérapeutiques (*Philippon A ,2001*).

Chaque antibiotique est caractérisé par un spectre qui correspond à l'éventail des germes qu'il peut toucher, à dose plus ou moins élevée. Il est différent pour chaque famille d'antibiotiques, bien qu'il puisse se recouper, en partie ou en totalité, avec celui d'autres antibiotiques, c'est-à-dire que les mêmes germes peuvent être sensibles à plusieurs antibiotiques à la fois (*Maur, 1979*).

5.2.3 la classification selon la famille d'antibiotique et leur structure chimique

Il existe plusieurs familles d'antibiotiques. Les principales sont les bêta-lactamines (pénicillines et céphalosporines), les macrolides, les aminosides, les cyclines et les quinolones (*Vidal, 2009*).

Les β -lactamines :

Les β -lactamines constituent la famille d'antibiotique la plus vaste et la plus importante, aussi bien par le nombre que par la diversité des molécules utilisables par leurs indications en thérapeutique et en prophylaxie des infections bactériennes. Cette famille comprend un grand nombre de molécules, toutes caractérisées par une structure de base : le noyau de base est le cycle β -lactame (**Figure 7**). Les antibiotiques de cette famille sont bactéricides (*Cavallo et al, 2004*).

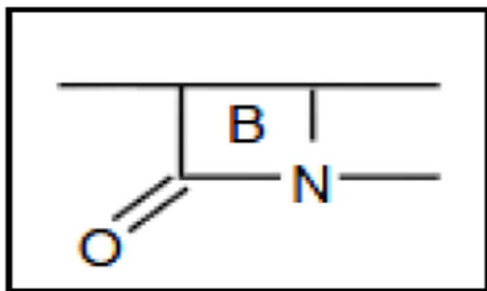


Figure 7 : Cycle β -lactame (*Cavallo et al, 2004*).

Les aminosides

Les aminosides sont des molécules bactéricides polycationiques (*Faure, 2009*). Ce sont des hétérosides naturels formés par un ou plusieurs glycosides liés à un aminocyclitol. Il existe plusieurs centaines de molécules naturelles et hémi-synthétiques. Elles sont classées en fonction de la structure chimique centrale en trois classes : Streptamine, 2 désoxystreptamine et Streptidine (*Yala et al., 2001*).

Les Cyclines

Ces molécules, correctement appelées tétracyclines, ont pour caractéristique de posséder quatre cycles accolés. Elles sont capables de pénétrer les cellules eucaryotes.

Elles ont donc pour cible les parasites intracellulaires (Exemple : *Chlamydia pneumoniae*).

Ces molécules sont bactériostatiques donc il y a un risque de récurrence (Jiji, 2014).

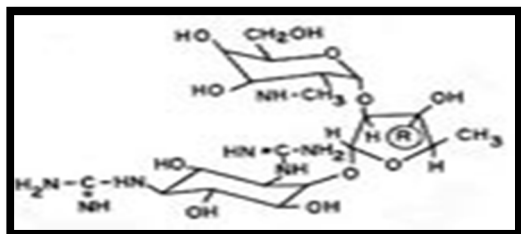


Figure 08 : cycle de Cyclines

Les Macrolides

Antibiotiques bactériostatiques, Ces molécules ont des macrocycles (figure 09) souvent associés à des sucres neutres ou aminés. Ces antibiotiques sont capables de diffuser dans les tissus, Ils sont donc actifs sur les germes intracellulaires (Jiji, 2014).

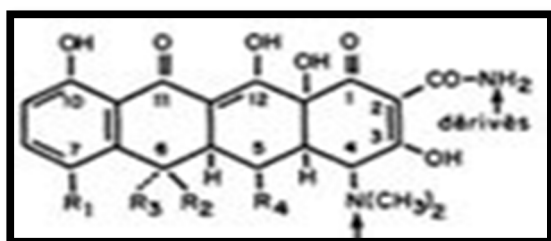


Figure 09: cycle de Macrolides

Les quinolones

Les quinolones sont des agents antibactériens obtenus par synthèse chimique, dérivent de l'acide nalidixique (Page et al., 1999). Toutes les quinolones actuelles présentent une structure bicyclique, avec un azote en position 1, un carboxylate en position 3 et un carbonyl en position 4 (Figure 10) (Faure, 2008).

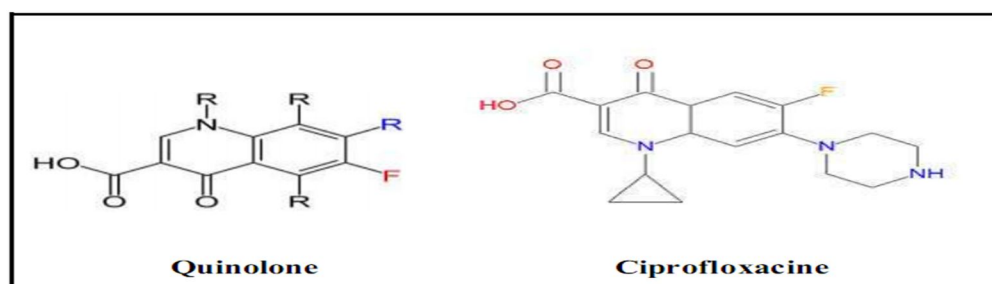


Figure10 : cycle des quinolone

6. Activité antibactérienne :

6.1-Modalités d'action (bactruestate ou bacteriocine):

Etudions les interactions dans le temps entre des concentrations variables d'un antibiotique et d'une bactérie:

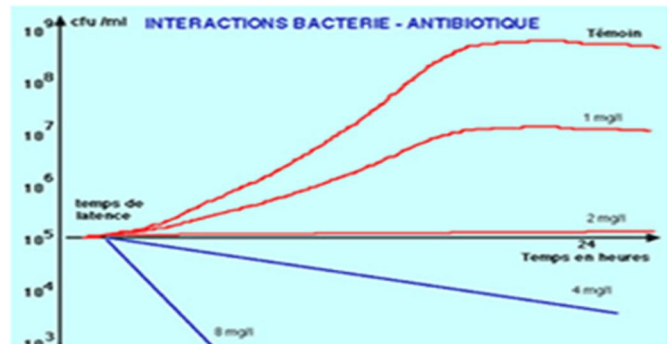


Figure11: courbe d'interactions bactérie-antibiotique (bacteriostase-bactériocidie)

Bactériostase : Elle est définie comme une diminution de la croissance bactérienne sans phase de destruction. Lorsque cette activité est maximale, le nombre des bactéries reste égal à celui de l'inoculum. (*Idrissa N, 1994*)

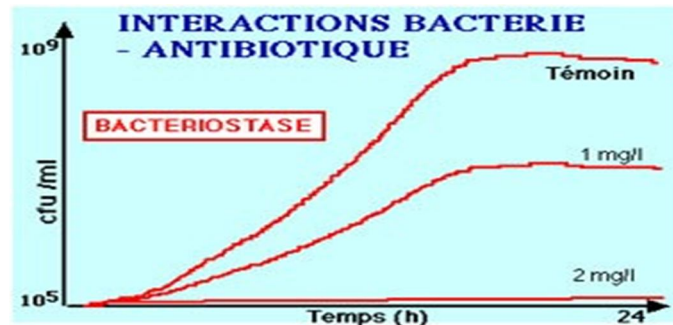


Figure12 : courbe d'interaction bactérie-antibiotique (bacteriostase)

Bactéricidie: Elle est définie comme l'activité d'antibiotique qui entraîne la mort accélérée des bactéries. Elle est fonction de la concentration en antibiotique et de son temps d'action. (*Idrissa N, 1994*)

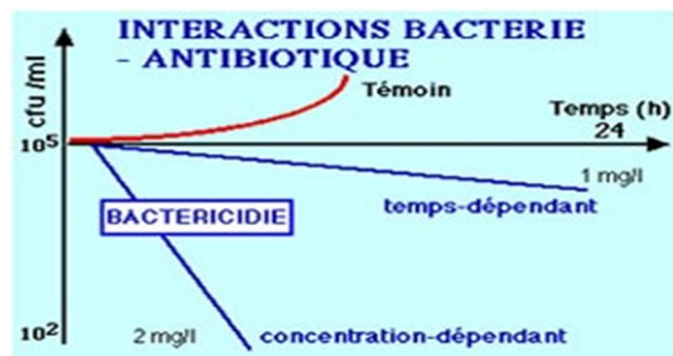


Figure 13: courbe d'interaction bactérie- antibiotique (bactériocidie)

6. 2- Spectre d'activité antibactérien d'un antibiotique

La catégorisation clinique d'une souche bactérienne vis-à-vis d'un antibiotique (sensible, intermédiaire, résistante) repose sur la détermination in vitro de sa concentration minimale inhibitrice confrontée aux concentrations critiques proposées par des Comités d'experts nationaux ou internationaux. Le spectre d'activité d'un antibiotique présenté dans le résumé des caractéristiques du produit établi par les Agences nationales ou européennes caractérise des espèces de façon globale dans un objectif de traitement probabiliste.

L'établissement de la catégorisation clinique et du spectre est basé sur la définition de concentrations critiques établies suivant des paramètres pharmacocinétiques et pharmacodynamiques, du profil habituel de sensibilité à l'antibiotique au sein de l'espèce, du taux de résistance acquise et si possible, de données issues de l'expérience clinique. Cet article souligne la nécessité de standardisation des tests de sensibilité in vitro, d'harmonisation des concentrations critiques au sein des différents pays européens et l'intérêt d'études cliniques établissant par pathologie et par espèce la relation entre succès thérapeutique et concentration minimale inhibitrice des souches (*Patbio, 2004*).

Les trois catégories cliniques de souches :

-Sensibles : probabilité de succès thérapeutique élevé dans le cas de traitement systémique avec la posologie recommandée (plus de 90% des souches sont sensibles)

-Intermédiaires : succès thérapeutique imprévisible, incertain (plus de 90% des souches se situent dans la zone intermédiaire)

-Résistantes : forte voire très forte probabilité d'échec thérapeutique quel que soit la posologie, la voie d'administration du traitement CMI à l'AB > à la concentration sanguine maximale d'AB susceptible d'être atteinte avec une posologie standard développement en présence d'une forte dose d'AB (au moins 50% des souches sont résistantes) (*M. Archambaud, 2009*).

Tableau 4: Spectre d'activité des antibiotiques selon la nature de la paroi bactérienne (**Philippon A; 2001**). :

Famille	Antibiotique	Gram +	Gram-
B-lacamines	Benzylpénicilline	+	-
	Oxacilline	+	-
	Ampicilline	+	+
	Imipénème	+	+
Aminosides	Gentamicine	+	+
	Tobramycine	+	+
Phénicolés	Chloramphénicol	+	+
Tétracyclines	Doxycycline	+	+
Macrolides	Erythromycine	+	-
Glycopeptides	Vancomycine	+	-
Quinolones	Acide nalidixique	-	+
Autres	Acide fusidique	+	-

6.3 Effet indirects des antibiotiques

Aux concentrations thérapeutiques ou, même à des concentrations sub-inhibitrices, les antibiotiques peuvent produire d'autres types d'effets antibactériens (**Corpet et Brugere, 1995 ; Martel, 1996 ; Anonyme 8, 2000**).

Certains antibiotiques continuent à inhiber la croissance bactérienne, alors que leurs taux sériques sont redescendus en dessous de la CMI : c'est l'Effet post-Antibiotique (**E.P.A**).

Les plus long EPA enregistrés (3 heures ou plus) sont obtenus avec les tétracyclines et les macrolides, cet effet est assez important et est directement lié à leur accumulation cellulaire (phénomène de bactériopause) (**Corpet et Brugere, 1995 ; Martel, 1996 ; Anonyme 8, 2008**).

Certains d'autres, en interférant avec les mécanismes de synthèse protéique, sont responsables d'une inhibition de l'attachement bactérien aux cellules de l'hôte, ainsi qu'à l'inhibition de la production des toxines bactériennes. Ce sont les pilis ou facteurs d'attachement et les toxines qui confèrent aux bactéries leur pathogénicité ;

D'autres antibiotiques aussi, en se concentrant dans les leucocytes peuvent maintenir une activité intracellulaire (macrolides et apparentés, fluoroquinolones). Cependant, la valeur de cet effet chez la volaille est probablement limitée (**Corpet et Brugere, 1995**)

7. La résistance aux antibiotiques

7.1. Généralité

Lorsqu'une population de bactéries est soumise à l'action d'un antibiotique dans son milieu, elle subit une pression de sélection, qui favorise les cellules qui sont les mieux capables de résister à l'effet de ces molécules. Petit à petit, l'émergence de modifications génétiques permettant un niveau de résistance plus élevé se trouve ainsi sélectionnée. L'action des antibiotiques sur les bactéries induit ainsi un processus d'évolution darwinienne « en accéléré » que l'on peut observer à l'échelle de temps humaine. Les premiers antibiotiques ont été introduits à la fin des années 1930 et aujourd'hui, la résistance à ces composés de première génération, pénicilline, streptomycine, s'est très largement répandue chez les bactéries, si bien que l'on a cessé de les utiliser pour des fins thérapeutiques. **(Stephen R et Palumbi, 2001)**

7.2. Définitions

OMS définit la résistance aux antibiotiques comme :

- 1- une souche résistante est une souche qui supporte une concentration d'antibiotiques notamment plus élevée que celle qui inhibe le développement de la majorité des souches de la même espèce (définition de catégories de populations bactériennes).
- 2- une souche résistante est une souche qui supporte une concentration notablement plus élevée que la concentration qu'il est possible d'atteindre *in vivo* (définition de catégories cliniques).

7.3. Mécanisme de résistance

Une souche bactérienne est dite résistante à un ATB quand elle est capable de se développer en présence d'une concentration élevée d'antibiotique. Les mécanismes de résistance décrits à l'heure actuelle sont résumés et illustrés à la figure 14, mais il est bien clair que la situation est en constante évolution.

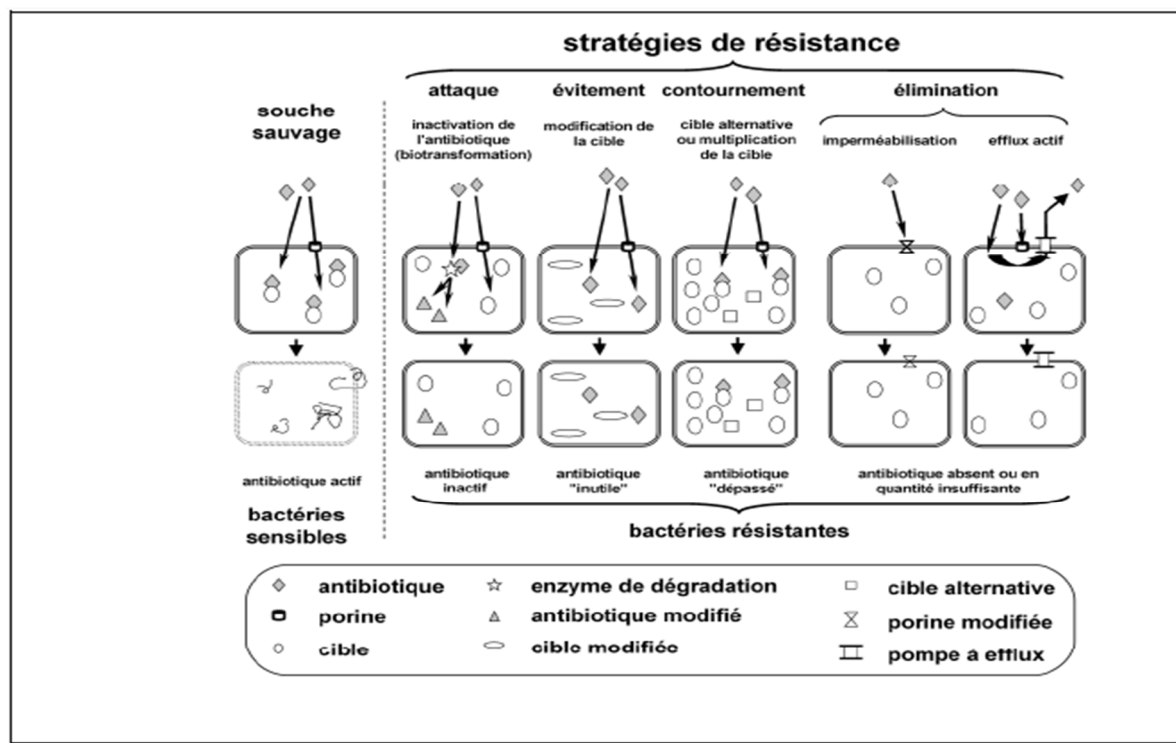


Figure 14: Illustration des principaux mécanismes de résistance aux antibiotiques (francoise v, 2007)

7.3.1. Principales caractéristiques

- a-** Émergence rapide de quelques souches résistantes après l'introduction d'un antibiotique
- b-** Fréquence de ce nouveau mécanisme rapidement en augmentation mais variable selon l'antibiotique.
- c-** Résistance transférable, car liée à la présence de gènes transférables comme ceux intégrés dans un plasmide, transposon ou intégrons.
- d-** Ces gènes transférables peuvent avoir une diffusion épidémique
- e-** L'addition de mécanismes de résistance est devenue monnaie courante dans le monde bactérien, aussi les bactéries deviennent de plus en plus résistantes, d'où l'appellation de BMR pour Bactéries Multi-Résistantes.

7.3.2. Mécanisme biochimique de la résistance

Les bactéries se défendent contre l'action des antibiotiques:

- en se rendant imperméables à leur pénétration
- en produisant des enzymes capables de les inactiver
- en modifiant la structure de leurs cibles

7.3.2 .1 Interférence avec le mécanisme de transport de type imperméabilité

Les porines : canaux aqueux ou hydrophiles constitués de trois molécules de protéines qui laissent diffuser diverses molécules de faible masse moléculaire comme des substrats ou encore des antibiotiques.

- Le dysfonctionnement ou la perte de l'une d'entre elles peut entraîner une imperméabilité
- Un ATB touché ou plusieurs familles d'ATB
- Niveau de résistance variable

7.3.2.2. Interférence avec le mécanisme de transport de type efflux

- Spécifique d'un ATB ou touchant plusieurs familles d'ATB
- niveau de résistance variable

7.3.2.3. Inactivation de l'antibiotique

- Sécrétion d'enzymes
- Mécanisme de résistance très fréquent, très important et très varié

7.3.2.4. Modification d'affinité de la cible

- Affinité diminuée ou cible modifiée
- Niveau de résistance variable (*Lavigne J, 2007*)

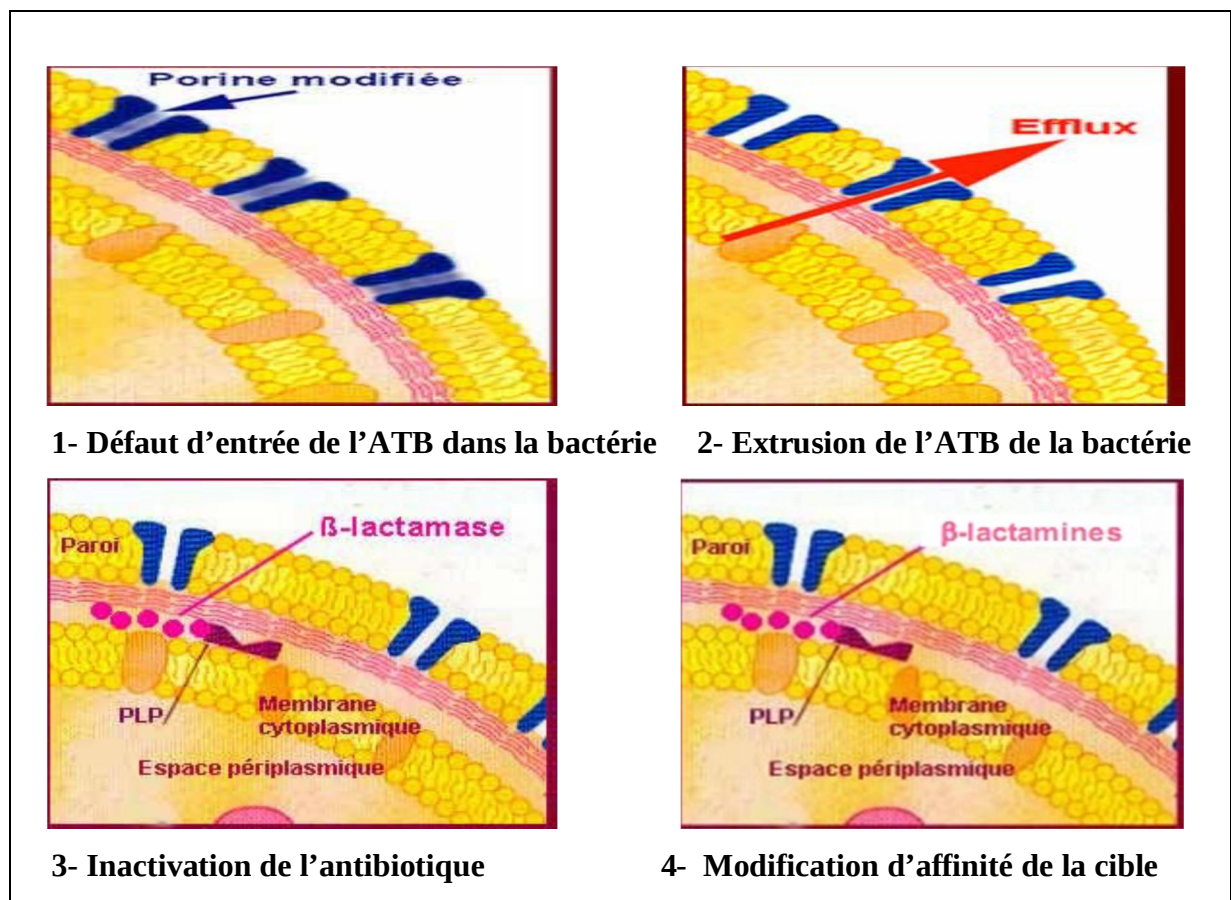


Figure 15: Les tubes de Mécanisme biochimique de la résistance (*Lavigne J, 2007*).

7.3.3. Origine génétique de la résistance

La résistance bactérienne à un antibiotique est d'origine génétique. Les gènes de résistance se trouvent soit dans le chromosome (résistance chromosomique), soit dans un élément mobile, comme les plasmides, les éléments transposables ou les intégrons (résistance extra chromosomique). La résistance peut être soit naturelle, soit acquise (*Mandel GL, et al ; Lewis R et al, 2009*)

7.3.3.1. Résistances naturelles

Espèces bactériennes qui sont naturellement résistantes à certains antibiotiques, programmées sur le génome bactérien, donc fixes et constantes à l'intérieur du taxon.

7.3.3.2. Résistances acquises

Résistance qui apparaît chez des bactéries jusqu'alors sensibles aux ATB, consécutives à des modifications de l'équipement génétique chromosomique ou psalmodique. Elles ne concernent que quelques souches d'une même espèce mais peuvent s'étendre (*Lavigne J, 2007*).

Tableau5 : Les caractères de résistance bactérienne naturelle et acquise

7.3.3.3. Résumé de la Résistance bactérienne



I. Lapin

I.1 Présentation du lapin

Le lapin est un petit mammifère prolifique originaire du Sud-Ouest de l'Europe, et sa domestication remonte à 1000 ans après JC. Il a été utilisé comme animal de laboratoire depuis le XIXème siècle mais ce n'est que récemment qu'il est devenu également animal de compagnie. On trouve de nombreuses races, du lapin nain, pesant 800 g à 1,5 kg, au lapin d'élevage pesant jusqu'à 8 kg. Les premiers lapins nains ont été obtenus par croisement de la race polonaise avec de petites races anglaises, au début du XXème siècle. Ensuite, ce sont les hollandais qui vont fixer la race naine. **(Delobre F, Nathalie 2004)**

Le lapin se distingue des rongeurs -par la présence de 2 incisives accessoires supplémentaires par rapport à ces derniers. Les différentes races domestiques sont les races naines, représentées par le polonais, le nain de couleur, le béliet nain et le nain à fourrure (angora nain, rex nain, nain satin), et les races classiques, représentées par le béliet française et anglais, le géant papillon français, le blanc de Vienne, le chamois de thuringe, l'argenté anglais, le hollandais et la zibeline, avec de nombreuses variétés de nuances **(Haffar, 1999)**. Il s'agit bien sûr des principales races de lapin mais cette liste n'est pas exhaustive.

les lapins Comme tous les animaux, elles exigent des soins spécifiques si l'on veut assurer leur production et leur reproduction. Il faut inspecter les clapiers le soir avant d'aller se coucher et les surveiller pendant la journée. Il ne suffit pas de constater qu'un lapin est malade, il faut apprendre à voir qu'un animal va tomber malade. De même, il ne suffit pas de voir que la lapine a fait un nid et a mis bas, il faut savoir à l'avance quand elle fera un nid et mettra bas. Donnez à vos lapereaux la meilleure nourriture et la meilleure eau possibles **(J.B. Schiere C.J. Corstiaensen , 2008)**

I.2. Taxonomie du lapin

La position taxonomique du lapin (*Oryctolagus cuniculus*) est la suivante (*Grasse, 1949 ; Lebas et al, 1984*) :

- **Classe** : des mammifères
- **Super Ordre** : des Glires
- **Ordre** : des Lagomorphes
- **Famille** : des Léporides (lièvre et lapin)
- **Sous-famille** : des Leporinae
- **Genre** : *Oryctolagus*
- **Espèce** : *Oryctolagus cuniculus*

I.3. L'alimentation et l'abreuvement

Les besoins alimentaires des lapins dépendent de leur âge et de leurs stades physiologiques. Les besoins nutritionnels du lapin ont été longtemps négligés du fait que cette espèce, qualifiée de pseudo ruminant, présente des particularités nutritionnelles telles que la ceacotrophie ou corprophagie» (*Djago et Kpodekon, 2000*).

Tableau 7 : Besoins nutritionnels du lapin

Composantes	males, lapines non gestantes et lapereaux à l'engraissement	Lapines gestantes et lapereaux avant servage
M.A.T. (%)	12-15	16-20
E.M. (Kcal)	2200-2600	2500-2700
C.B. (%)	13-18	13-15
M.G. (%)	3,5	3,5

La consommation en eau est très importante. Une lapine et sa portée consomment en moyenne 2,5 litres d'eau par jour. Ainsi, l'eau apportée doit être fraîche et en permanence dans les abreuvoirs, surtout si les lapins sont nourris exclusivement avec un aliment commercial.

I.4. Habitat

A l'état sauvage les lapins creusent des terriers qui comportent des aires de repos où ils se réfugient à la moindre alerte et où ils vivent en « sociétés ». La femelle, avant de mettre bas, creuse un terrier particulier dénommé « rabouillère » dans lequel elle dépose ses petits et vient leur donner à téter.

Pour les lapins domestiques, ils convient de prévoir un habitat de sorte que les lapins soient hors des agressions extérieures telles que le bruit, la poussière, les prédateurs, une température forte. Le lapin étant sensible aux agents microbiens, une bonne hygiène s'avère indispensable en cuniculture (*Lebas et al, 1996*)

I.5. Les affections cutanées d'origine bactérienne du lapin

I.5.1. Les abcès de la peau chez lapin

Les abcès sont des accumulations de pus qui se présentent sous la forme d'une boule dans le tissu musculaire, dermique ou glandulaire (*yaou A et all*) qui résulte d'une attaque par un organisme pathogène suivi de destruction des cellules, les microorganismes qui provoquent cette maladie sont essentiellement la pasteurellose et d'autres bactéries telles que les staphylocoques et les streptocoques, et pseudomonas (*Ester V, 2005*)

Le traitement d'un abcès est difficile, long et une récurrence n'est pas rare chez les lapins. L'utilisation d'antibiotique n'est pas très effective et une thérapie plus agressive est souvent nécessaire.

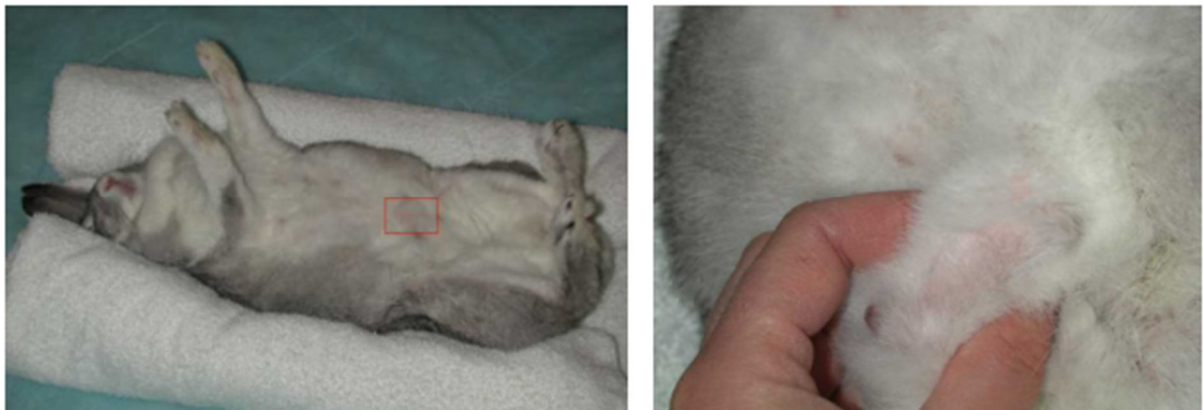
La meilleure option reste l'excision totale de la poche de l'abcès des tissus nécrotique et de la capsule de tissu fibreux environnante. Cette intervention ne peut néanmoins pas être réalisée si plusieurs abcès sont présents ou si l'os est affecté (par exemple ostéomyélite infection des os mandibulaire)

L'excision et le parage chirurgical est le traitement de choix. Malgré cela, les récurrences ne sont pas exclues. Le drainage des abcès chez le lapin est souvent inefficace étant donné que le pus est solide. Par ailleurs, des applications d'antiseptiques, telle la chlorhexidine à 0,5% ou la

povidone-iodine (Vétédine®) doivent suivre la chirurgie et se poursuivre jusqu'à la cicatrisation (**Bensignor, 1996**).

L'excision est également suivie d'une antibiothérapie par voie systémique d'au moins dix à quatorze jours. L'enrofloxacin convient bien aux antibiothérapies de longue durée, à la dose de 2,5 à (**Hillyer, 1994**).

L'oxytétracycline convient aussi. Chez le lapin, il convient de faire très attention au choix de l'antibiotique. Certains sont contre-indiqués chez cette espèce car ils perturbent l'équilibre des acides gras volatils ainsi que la flore microbienne digestive, en particulier au niveau du caecum, provoquant une entérotoxémie mortelle, Le choix de l'antibiotique et sa voie d'administration doit être parfaitement adaptée à l'affection en cause. (**Laval, 1990**).



Photos 1: l'abcès sous cutané chez lapin d'après (**Ester V, 2005**)

II. Histopathologie de la peau et mécanisme de cicatrisation

II .1 .Histopathologie de la peau

La peau des mammifères constitue un organe à part entière et joue un rôle d'une importance fondamentale celui d'interface entre l'organisme et le milieu extérieur.

Elle tient lieu de barrière protectrice contre les agressions physiques, chimiques et biologiques (par la sécrétion de substances aux propriétés antibactériennes et antifongiques) Pour mieux comprendre comment la peau cicatrise et comment nous pouvons la soigner, il est nécessaire d'appréhender sa composition (*Marie .F 2013*).

II .1.1. Les compositions de la peau

La peau est constituée de trois couches :

II.1.1.1L'hypoderme

Couche la plus profonde, c'est un amoncellement de cellules graisseuses. Cette couche permet d'amortir les chocs, de protéger du froid et contient la plus grande réserve d'énergie de notre corps.

L'hypoderme est une couche de tissu adipeux rattachée à la partie inférieure du derme par des expansions de fibres de collagènes et de fibres élastiques. Il recouvre l'ensemble du corps mais son épaisseur est variable. De plus, il présente des localisations anatomiques préférentielles selon le sexe de l'individu (*Melissopoulos et Levacher, 1998*).

II.1.1.2.Le derme

Est un tissu conjonctif compressible et élastique qui constitue le support solide de la peau. Son épaisseur varie en fonction des différentes régions du corps, pour être maximale au niveau des paumes et des plantes, et minimale au niveau des paupières (*Prost-Squarcioni et al, 2005*).

Il renferme le système vasculaire cutané et des terminaisons nerveuses sensorielles, et constitue la zone d'implantation des annexes cutanées.

Il contient également des cellules qui entrent en jeu lors des mécanismes de défense contre des éléments pathogènes et il joue un rôle très important lors des processus de réparation tissulaire (*Melissopoulos et Levacher, 1998*). Il contient beaucoup de fibres mais peu de cellules. Ces fibres de collagènes assurant la résistance et l'élasticité de la peau.

II.1.1.3.L'épiderme : très fin mais très résistant. Il sert d'isolant et permet de bloquer l'entrée de la plupart des bactéries, des substances toxiques et empêche également les liquides vitaux de s'échapper comme le sang ou la lymphe.

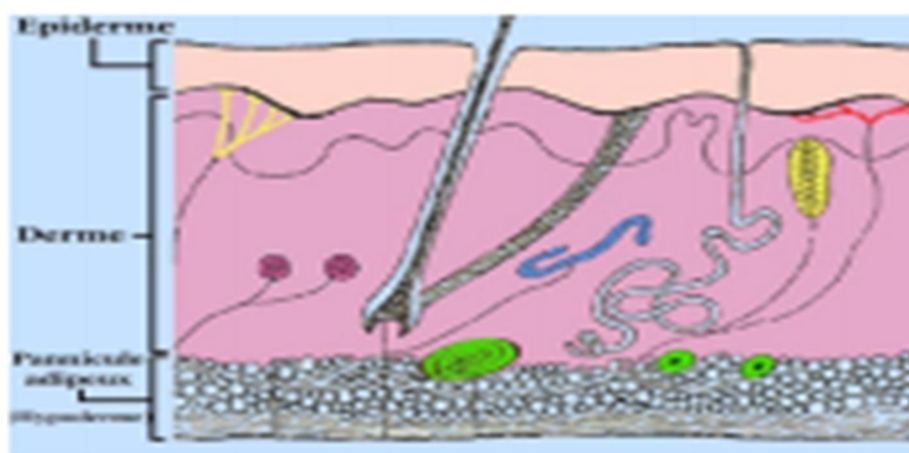


Figure 16 : structure de la peau d'après (*Marie .F, 2013*)

II.1.2. flore bactérienne cutanée

La flore bactérienne cutanée participe à la protection de l'organisme contre les agents pathogènes. Cette flore bactérienne mixte, située dans les couches superficielles de l'épiderme et les follicules pileux, peut évoluer en fonction des facteurs extérieurs tels que le pH, la salinité, l'humidité, le taux d'acide gras... Comme chez l'homme, on retrouve une flore résidente et une flore transitoire. D'un animal sain et qui ne peuvent être éliminées en totalité, même avec un antiseptique puissant.

La flore transitoire est, elle, constituée de bactéries présentes de façon occasionnelle, en quantité moindre et pour une durée limitée. Ces bactéries sont normalement inhibées par la flore résidente. Cependant elles peuvent intervenir dans la surinfection d'une affection existante. Leur implantation est peu aisée et leur élimination totale par un lavage antiseptique est possible. *Staphylococcus aureus*, *Proteus mirabilis*, *Ecoli* font partie de cette flore transitoire. (*Mathilde S ;2012*)

II.2. Le plaie cutanée

II.2. 1. Physiopathologie

II.2. 1.1. Définition

Une plaie est une lésion de la peau qui s'effectue par rupture de la continuité des tissus et effraction de la barrière cutanée nécessitant un processus dynamique complexe pour être réparée ou cicatrisée. Les plaies doivent être différenciées des contusions dans les quelles le revêtement cutané reste intact (*Tomczak C, 2010*).

II.2.1.2. Signes cliniques

La rupture des tissus peut être associée à un écartement des lèvres de la plaie. Cet écartement peut être passif (dû à l'élasticité des tissus) ou mécanique (par contraction d'un muscle lésé par exemple). La plaie s'accompagne également d'une hémorragie plus ou moins abondante en fonction de la nature et de la profondeur de la plaie.

La douleur est variable : elle est faible lors de plaies nettes et franches et plus intense lors de plaies irrégulières (*Tomczak C, 2010*).

II.2.1.3. Classification

Il n'existe aucune classification officielle des plaies mais il est indispensable d'évaluer précisément la nature de la plaie afin de mettre en œuvre le traitement approprié et de prévoir tout risque de complications. Les plaies peuvent être classées selon les facteurs suivants :

- Nature lésionnelle
- Etiologie
- Tissus lésés
- Propreté de la plaie
- Propriétés bactériologiques (*Tomczak C .2010*)

II.2.2. phénomènes de cicatrisation de la peau

L'épiderme guérit par régénération, grâce au renouvellement naturel des kératocytes. Le derme guérit par réparation, le tissu d'origine étant remplacé par un nouveau tissu non spécifique avec formation d'une cicatrice.

Des qu'une lésion atteint le derme, les vaisseaux sanguins sont endommagée. Il se produit alors un épanchement de sang dans la plaie. Afin de refermer la blessure et de limiter les pertes sanguines, de nombreux mécanismes visant à stopper ou retenir l'hémorragie se mettent en place : on nomme l'ensemble de ces mécanismes l'hémostase .Cette hémostase est précédée d'un phénomène d'inflammation. **(Foit M, 2013)**

La cicatrisation cutanée fait intervenir une cascade de mécanismes biochimiques et cellulaires qui concourent à la restauration de la continuité de la peau et de la majorité de ses fonctions après un traumatisme. Il s'agit en fait d'un processus inflammatoire propre au tissu cutané qui s'achève par la mise en place d'un tissu conjonctif cicatriciel très fibreux.

La cicatrisation cutanée, sans complications annexes, comprend trois grandes étapes qui se succèdent tout en se chevauchant dans le temps :

- La phase vasculaire et inflammatoire ;
- La phase de réparation tissulaire ;
- La phase de maturation et de remodelage (qui conduit à la formation d'une cicatrice) **(Rigal L, 2012)**

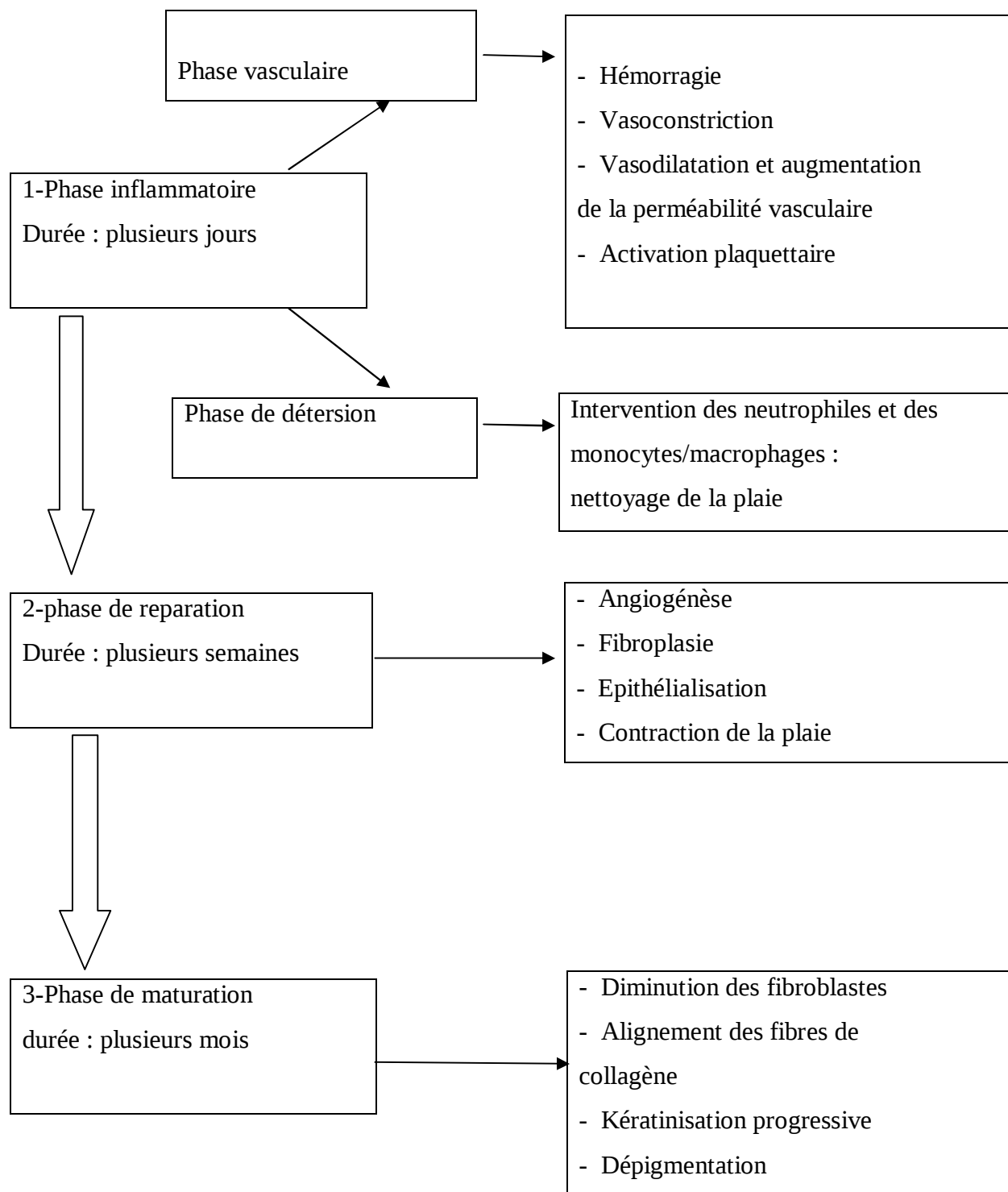


Figure 17: Les différentes étapes de cicatrisation (*Soumont M, 2012*)

II.2.3. Le temps de cicatrisation

a- La détersion

C'est la phase de nettoyage de la plaie; elle a pour but d'éliminer les tissus nécrotiques et de favoriser la cicatrisation par bourgeonnement .Elle peut se faire mécaniquement (avec un bistouri), chimiquement (avec des enzymes), chirurgicalement (par exérèse quand la nécrose est trop épaisse), biologiquement (avec des asticots), ou de façon auto lytique (par l'action des polynucléaires et des macrophages).

b- Le bourgeonnement

Cette deuxième phase se caractérise par l'apparition de nouveaux capillaires qui apportent les nutriments nécessaires à la multiplication cellulaire.

c- L'épithélialisation

C'est pendant cette phase que les cellules épidermiques de la berge de la plaie prolifèrent avant de migrer vers la surface cutanée (*Clémence H, 2005*).

L'objectif :

Le but de notre étude vise les axes suivants :

- ✓ Contribution scientifique à la détermination de certains paramètres physicochimiques du miel.
- ✓ Évaluation de l'activité antibactérienne et cicatrisante du miel et de l'antibiotique.

Matériel et méthodes :

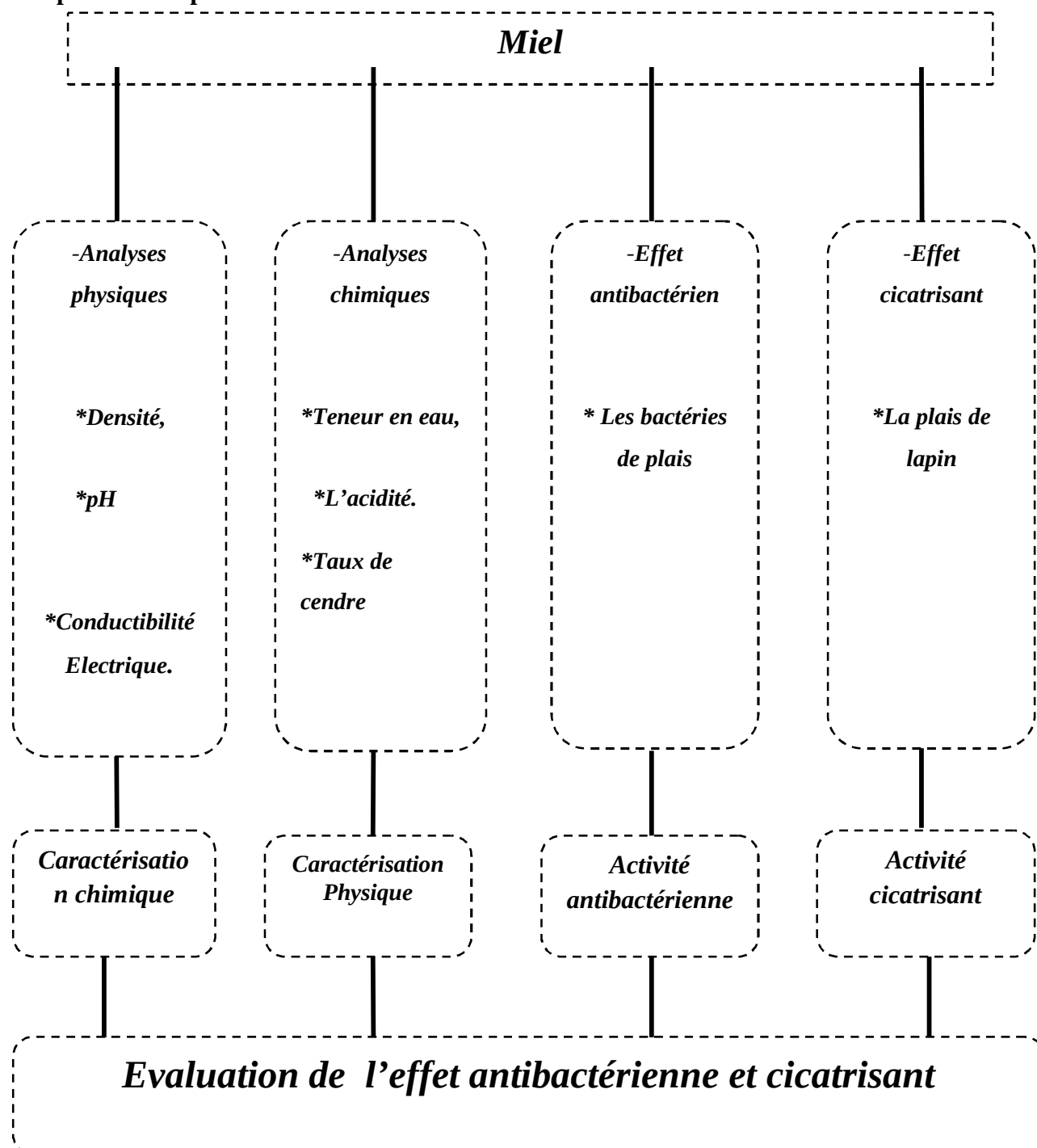
Notre expérimentation a été réalisée au niveau du laboratoire de biologie de l'université Dr Moulay Taher de Ain hedjar - saida entre les moins de (février-mai 2016).

Cette étude consiste à faire une étude comparative entre le miel et l'antibiotique.

- **I. In vitro**

I.1. Le miel

Le protocole expérimental de miel



Présentation de l'échantillon

Notre travail a porté sur l'étude d'un seul échantillon de miel de férule, de la région d'El-Bayadh

Tableau 07: présentation de l'échantillon de miel.

Echantillons de miel	Date de récolte	Origine géographique	Origine botanique
Sud-ouest	2015	Shallala - Elbayadh	Férule

Les échantillons du miel ont été conservés à température ambiante et à l'obscurité



Photo 02: le miel de férule

I.1.1 Analyse physico-chimiques du miel

I.1 .1.1.Dosage de l'humidité (Codex alimentaires 1980).

But

La présente méthode a pour objet de déterminer la teneur en eau du miel, à l'aide du réfractomètre.

Principe

L'indice de réfraction est une mesure optique qui varie en fonction de la concentration en matière du produit à analyser et de la température (**La commission internationale du miel, 2002**). La détermination de la teneur en eau s'effectue par la mesure optique de l'indice de réfraction (IR) du miel à 20°C. Cette mesure est réalisée par un réfractomètre.

Appareillage

- ✓ Bain marie à 50°C.
- ✓ Réfractomètre de type Abbé.
- ✓ Spatule stérile
- ✓ Réfractomètre de l'Abbe

Mode opératoire

Le miel à analyser doit être homogénéisé et parfaitement liquide le miel on le met dans un flacon fermé hermétiquement et on le place dans un bain marie à 50°C, pendant le temps suffisant pour assurer la disparition des cristaux de sucre. Après refroidissement à température ambiante à l'aide d'une spatule est déposée sur la platine du prisme d'un réfractomètre.

La lecture de l'IR est effectuée à travers l'oculaire, la lecture est faite à 20°C. Les résultats obtenus seront comparés à la table standard de la commission internationale du miel (**2002**) qui indique la teneur en eau correspondante (**voir l'annexe**). (MOUSSAOUI 2011)

I.1.1. 2. Détermination du PH

La variabilité du pH des miels serait due à la flore butinée, aux sécrétions salivaires de l'abeille et aux processus enzymatiques et fermentatifs pendant la transformation de la matière première (**Louveaux. J, 1968**). C'est une mesure qui permet la détermination de l'origine florale du miel ; les miels issus de nectars ont un pH compris entre 3,5 et 4,5 par contre ceux provenant des miellats sont compris entre 5 et 5,5 (**Gonnet. M, 1986**). Les valeurs intermédiaires correspondent souvent à des mélanges de nectar et de miellat.

Le pH est mesuré sur une solution de miel à 10%, c'est la mesure du potentiel hydrogène de cette solution à l'aide d'un pH mètre qui est étalonné avant son utilisation à l'aide des solutions tampons (de 7 et 4 par exemple).

Appareillage

- ✓ pH-mètre avec des électrodes.

Technique

La détermination du pH a été effectuée selon la norme du **Codex n° 77-79, (Codex,1977)** : 10g de miel sont pesés, dissous dans quelques ml d'eau distillée et la solution est complétée à 75 ml dans une fiole jaugée à 20°C , puis versée dans un bécher sans cesser d'agiter la solution au moyen d'un agitateur magnétique, la pointe de l'électrode est plongée dans le bécher contenant la solution de miel, la valeur du pH s'affiche au potentiomètre. Cité par (**Mehdi. Y, 2011**).

I.1.1.3. Teneur en cendres

La matière minérale détermine l'origine botanique du miel ; les miels issus des nectars ont une teneur en matière minérales ne dépassant pas 0,6%. Tandis que celles des miels des miellats ou mélanges de miel de nectar et de miellat doivent être inférieurs à 1,2% (**Bogdanov et al, 1997**). Il existe une relation entre la couleur des miels et leur teneur en cendres. D'une façon générale, les miels clairs sont nettement moins riches en cendres que les miels foncés (**White. J et al., 1962 ; Louveaux. J, 1968**).

Réactif et appareillage

- ✓ Huile d'olive.
- ✓ Capsules.
- ✓ Four électrique réglé à $600 \pm 25^{\circ}\text{C}$.
- ✓ Dessiccateur garni d'un déshydratant.
- ✓ Balance analytique.

Mode opératoire

Le taux cendre du miel est le pourcentage de matière minérale. Les cendres obtenues par la dessiccation du miel dans un four à une température de $600 \pm 25^{\circ}\text{C}$ pendant 1 heure.

On place les capsules vide dans l'étuve pendant 15 min .On pèse la capsule vide (**m_2**) 5g de l'échantillon ont été prés de 0,001g dans une capsule (**m_0**), préalablement calcinée et tarée, et on ajouté 2 gouttes d'huile d'olive .Puis les capsules sont placées dans le four à 600°C pendant 1 heures laisser la capsule avec les cendres jusqu'au poids constant (**m_1**).

Expression des résultats

La proportion du cendres W par g/100g du miel est calculée par la formule suivant :

$$W = (m_1 - m_2) / m_0 \times 100$$

Dont :

- ✓ **m_0** : le poids du miel.
- ✓ **m_1** : le poids de capsule+les cendres (après calcination).
- ✓ **m_2** : le poids de la capsule vide.

I.1.1 .4 . La Densité

Principe :

La densité appelée aussi le poids spécifique. Selon **LOUVEAUX (1968)**, Le poids spécifique du miel est en fonction principalement de sa teneur en eau. La mesure du poids spécifique au moyen d'un densimètre ou de réfractomètre. Les valeurs trouvées par les différents auteurs (**Marvin, 1934 ; DEANS, 1953 ; White et al. 1963**) concordent de façon très satisfaisante. Selon PROST, 1987, la densité de miel à 20 °c est comprise entre 1.39 et 1.44, il ajoute qu'un miel récolté trop tôt ou extrait dans un endroit humide contient trop d'eau. **White et al (1962)**, ont trouvé une valeur moyenne de 1,4225 à 20 °C pour 490 échantillons de miel des U.S.A.

Appareillage :

- ✓ Pycnomètre
- ✓ Eaux distillé
- ✓ Balance

Mode d opération :

La densité est obtenue en calculant le quotient de la masse volumique d'un miel et de la même masse volumique d'eau distillée. (**Louveaux, 1968**). On pesé :

- le pycnomètre remplis par le miel M
- le pycnomètre remplis par l eau distillé M'

Calculer la densité de miel, à l'aide de la formule suivante

$$D = M/M'$$

M : Masse du volume du miel;

M' : Masse de même volume d'eau distillée.

I.1.1.5. Détermination de la conductivité électrique à 20°C (Bogdanov, 2002).

But

Cette méthode a pour objet de vérifier que la valeur de la conductivité électrique du miel analysé est compatible avec son appellation florale.

Principe

La conductivité électrique d'une solution de 20 g de matière sèche de miel dans 100 ml d'eau distillée est mesurée en utilisant une cellule de conductivité électrique. La détermination de la conductivité électrique est sur la base de la mesure de la résistance électrique, dont la conductibilité électrique est la réciproque.

Appareillage et réactifs

- ✓ Une solution de chlorure de potassium, 0,1 M (KCL).
- ✓ Conductimètre.
- ✓ Cellule de conductivité.
- ✓ Balance analytique.
- ✓ Thermomètre.
- ✓ Fioles jaugées de 100 ml et 1000 ml.
- ✓ Becher de longueurs forme.

Mode opératoire

Détermination de la constante de cellule

Si la constante de cellule de la cellule de conductivité n'est pas connue, procéder comme suit:

Transférer 40 ml de la solution de chlorure de potassium dans un b cher. Connectez la cellule de conductivité à la conductimètre, rincer soigneusement la cellule avec la solution de chlorure de potassium et plonger le la cellule dans la solution, avec un thermomètre. Lire la conductance électrique de cette solution dans mS après que la température a équilibré à 20 C.

Calculer la constante de cellule K, en utilisant la formule suivante:

$$K = 11,691 \times 1 / G$$

Où:

K = la constante de la cellule en cm^{-1} .

G = la conductance électrique en mS, mesuré à la cellule de conductivité.

11,691 = la somme de la valeur moyenne de la conductivité électrique de l'eau fraîchement distillée dans mS.cm^{-1} et la conductivité électrique d'une solution 0,1 M de chlorure de potassium, à 20 ° C.

Rincer l'électrode avec de l'eau distillée après la détermination de la constante de cellule. Lorsqu'il n'est pas utilisé garder l'électrode à l'eau distillée afin d'éviter le vieillissement de la platine électrode.

Préparation de la solution d'échantillon

Dissoudre une quantité de miel, l'équivalent de 10,0 g de miel dans de l'eau distillée. Transférer la solution quantitativement dans une fiole jaugée de 50 ml et porter au volume avec de l'eau distillée. Verser 40 ml de la solution d'échantillon dans un bécher et placer le récipient dans l'eau thermostaté un bain à 20 ° C. Rincer la cellule de mesure à fond avec la partie restante de la solution d'échantillon.

Immerger la cellule de d'échantillon conductivité dans la solution. Lire la conductance en mS après l'équilibre de température a été atteint

Calculer et expression des résultats

En fin la conductivité du miel est calculée d'après la formule suivante :

$$CE = K \times G$$

D'où :

CE : conductivité électrique du miel exprimée en mS.cm^{-1} ;

K : constante de la cellule ;

G : conductance de l'échantillon. Cité par (*Mehdi. Y, 2011*)

I.1.1.6. L'acidité

L'acidité est un critère de qualité important, elle donne des indications fortes importantes de l'état du miel (*Gonnet. M, 1992*). Selon *Schweitzer. P (2001)*, les miels sont naturellement des solutions acides, mais aussi la fermentation et le vieillissement augmente l'acidité. La présence de certains acides dans ces miels est probablement due aux nectars ou miellats, mais leur origine principale est à rechercher dans les sécrétions salivaires de l'abeille et dans les processus enzymatiques et fermentatifs (*Louveaux. J, 1968*).

Réactif

- ✓ Ethanol
- ✓ Hydroxyde de potassium
- ✓ Phénolphthaléine

Appareillage

- ✓ Burette de 25 ml
- ✓ Balance analytique.
- ✓ Pécher 25ml.
- ✓ Pipettes de 5 ml.

Mode opératoire

Pour mesurer l'acidité, nous avons utilisé la méthode suivant :

Dans un pécher On mélangé 1g de l'échantillon (miel), avec 5 ml d'éthanol neutraliser avec la pipette et mettre 3 gouttes de phénolphthaléine puis neutraliser la solution obtenue avec l'hydroxyde de potassium à l'aide de la burette quelque seconde si la couleur de la solution est varié on arrête le titrage.

En fin de titrage lire le volume de KOH consommé pour calcul l'indice d'acide à l'aide de la relation suivant :

$$AC = \frac{M \times N \times V}{m}$$

V : vol de KOH

m : masse de miel

M : masse molaire de KOH

N : molarité de KOH

I.1.2. Etude de l'activité antibactérienne de miel

❖ Détermination La CMI

Détermination La CMI (Concentration Minimale Inhibitrice) est la plus faible concentration capable de provoquer une inhibition complète de la croissance d'une bactérie donnée après une période d'incubation donnée (**Houssni, 2011**).

➤ Méthodologie

Cette méthode consiste à incorporer des volumes croissants du miel, de façon à additionner le milieu de culture (M.H) de telle manière à obtenir pour chaque lot 10 ml du mélange (**Rios et al, 2001 ; Kawakman et al, 2008**).

-Dans des conditions d'asepsie, incorporer dans un tube à essai et à l'aide d'une seringue gradué stérile un volume de miel à un volume de gélose Muller Hinton préalablement liquéfié au bain-marie. (**Tableau 07**).

-Homogénéisation du mélange se fait à l'aide d'un vortex, ensuite couler le contenu dans les boîtes de Pétri stériles et laisser solidifier sur une surface froide.

Tableau 08: le volume de miel et volume de gélose Muller Hinton

Volumes de miel (ml)	Volumes de Muller Hinton (ml)
1ml	9ml
2ml	8ml
3ml	7ml
4ml	6ml
5ml	5ml

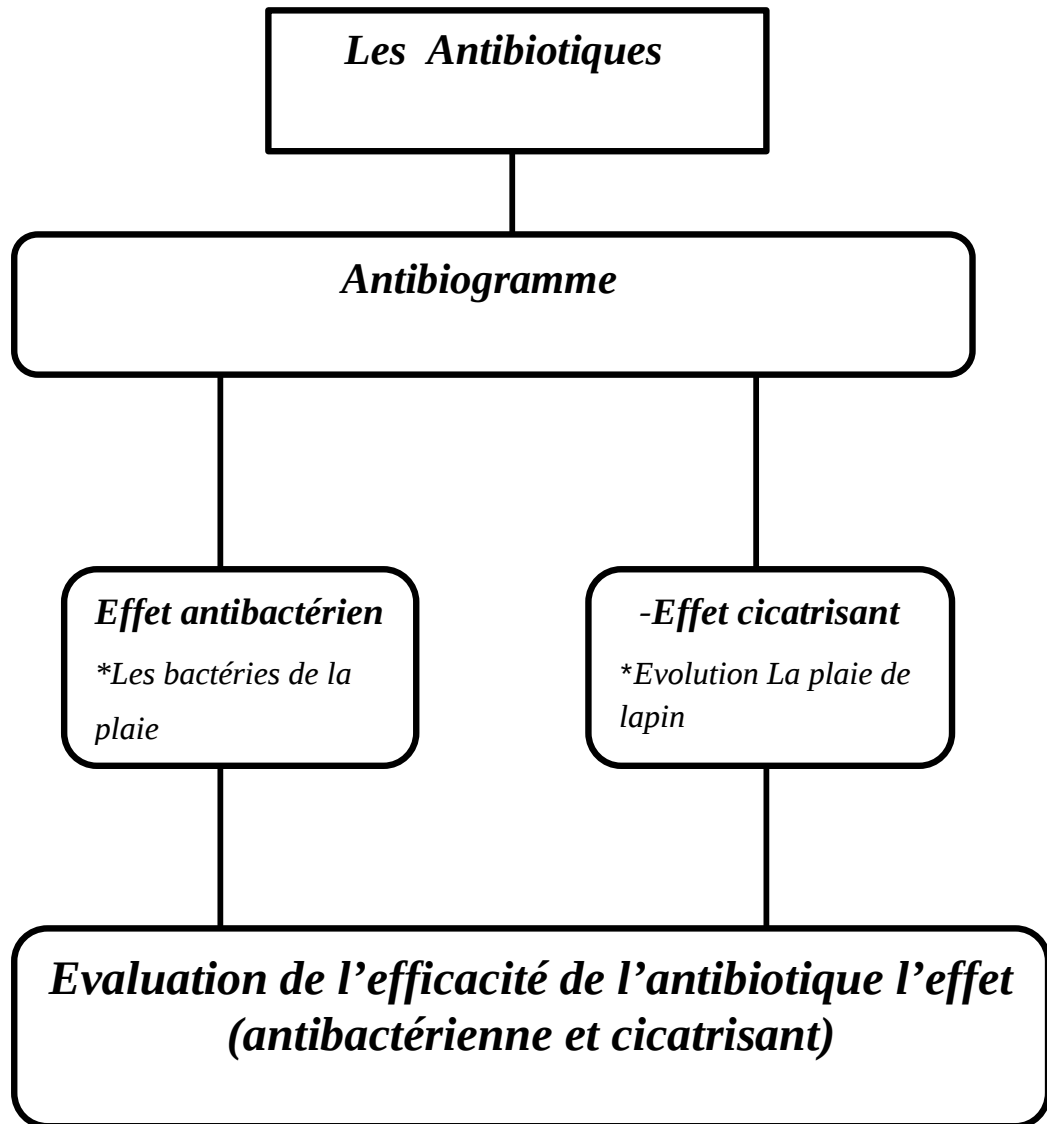
➤ Ensemencement

Après la solidification du milieu, réaliser un ensemencement en surface de 1 ml de la suspension bactérienne de concentration de 10^6 UFC/ml, par la technique de râteau.

L'ensemble est incubé à 37°C pendant 24heures.

I.2. Les Antibiotiques

Le protocole expérimental des antibiotiques :



I.2.1. Le choix d'antibiotique

Le choix d'un traitement antibiotique ne peut être fait uniquement sur la base du spectre théorique des antibiotiques en raison de la possibilité d'acquisition de résistance aux antibiotiques par les espèces bactériennes

Le laboratoire peut préciser *in vitro* quels sont, aux ATB utilisables *in vivo*, les antibiotiques actifs sur la souche bactérienne responsable de l'infection

On a utilisé un antibiotique commercialisé sous le nom de (duphapien) de la famille de pénicilline car c'est le seul antibiotique indiqué en injectable (voir indication en annexes) les autres antibiotiques sont présentés sous forme de poudre par voie orale incorporée dans l'alimentation ou dissoute dans l'eau de boisson.

I.2.2. l'effet antibactérien :

❖ Antibiogramme (Meradi et al, 2009):

L'antibiogramme est l'interprétation de la sensibilité des bactéries à l'antibiotique en termes d'efficacité Clinique. Il permet de catégoriser une souche bactérienne en classes semi-quantitatives (sensible, intermédiaire ou résistante).

La technique utilisée est la méthode de diffusion des disques sur gélose Mueller-Hinton (Bio Rad) et interprétée après mesure des diamètres d'inhibition en accord avec les recommandations du comité d'antibiogramme de la Société française de microbiologie CA-SFM 2012.

➤ Matériel :

* les disques (Tableau08)

*pincettes stériles

*écouvillons

*boîtes pétries

Tableau 09: Les antibiotique utilisés dans le teste antibiogramme

ATB	Code	ATB	code
Amikacin	AK 30	Kanamycin	K30
Ampicilline	AM 10	oxacyllin	OX1
Clindamycines	DA 2	Streptomycine	S10
Erythromycin	E 10	Tropramycin	TOP10

➤ **Milieu**

Nous avons utilisé la gélose MH dont l'épaisseur en boite est= 4mm. Les boites sont ensuite séchées à 37°C-20min afin d'éliminer l'excès d'humidité.

➤ **Méthodes**

✓ **Prélèvements (A)**

Les prélèvements ont été réalisés par écouvillonnage à partir du plaie de lapin puis acheminés au laboratoire (l'écouvillon est introduit dans un tube contenant du bouillon nutritif a fin d'assurer la survie des souches) pour être incubés dans l'étuve à $37^{\circ}\pm 1$ pendant 18 à 24H.

✓ **Ensemencement (B)**

-On ensemence par écouvillonnage les boites de gélose MH ;

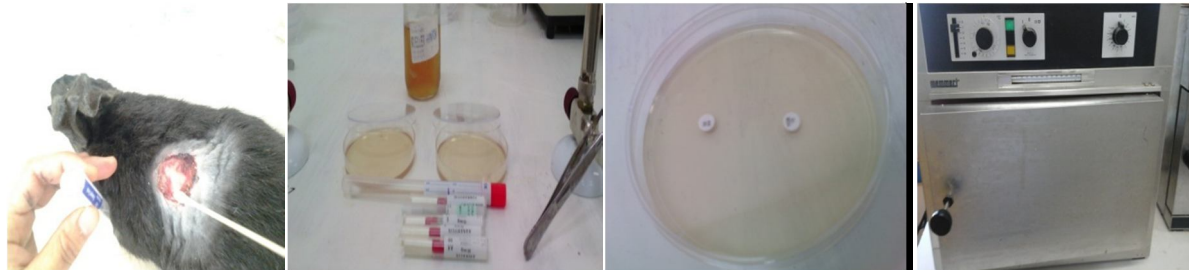
✓ **Application des disques (C)**

-On dépose les disques d'antibiotiques à tester (**AK30, K30, S10, OX1, AM10, E15, TOB10, DA2**)

✓ Incubation (D)

Laisser les boîtes 20 minutes à température ambiante pour permettre une pré-diffusion de l'antibiotique, puis les incuber pendant 18-24 heures à 37°C.

On incube les boîtes 24h à 37°C.



A

B

C

D

Photo03: les étapes de teste antibiogramme

➤ Lecture :

On mesure à l'aide d'une règle les différents diamètres des zones d'inhibition obtenus autour des disques d'antibiotiques.

L'interprétation en sensible(S) ou résistante(R) est effectuée selon les critères définis par le CFA-SFM (Communiqué du CFA-SFM, 2012).

Il y a actuellement une graduation à 3 niveaux de sensibilité :

- **S** = bactérie sensible : la concentration minimale inhibitrice mesurée pour cette bactérie est inférieure à la concentration critique humorale de l'antibiotique administré par voie habituelle aux doses habituelles
- **R** = bactérie résistante : la concentration d'antibiotique qu'elle est capable de supporter est supérieure à la concentration critique chez le malade.
- **I** = niveau intermédiaire : la concentration minimale inhibitrice est à la limite de ces concentrations critiques (*Cronberg.S, Beytout.J et Rey.M.1988*).

II - In vivo

Pour évaluer l'effet antibactérienne du miel et l'antibiotique on s'est disposé des lapins (de même sexe, âge et race) et du poids très proche l'une de l'autre.

L'examen clinique des lapins a révélé que les lapins ne manifestant aucuns signes d'une pathologie grave.

Nos expériences ont été réalisées au niveau de l'élevage expérimental de l'animalerie des lapins du département de biologie Ain Hdjar, l'Université Dr Moulay Tahar Saida.

II-1. Animaux (conditions d'hébergement et d'alimentation) :

Des lapins en bonne santé, (de race locale), ont été achetés chez des fournisseurs et utilisés pour ces études.

✓ Localisation (A)

Les animaux ont été gardés dans des cages collectives et individuelles dans un environnement standard, avec une température ambiante. Les animaux ont été acclimatés aux conditions normales pour une période avant le début des différents tests.

Toutes les procédures expérimentales ont été adoptées en conformité avec les directives internationales de protection des animaux.

✓ Entretien (B)

Les cages doivent être lavées chaque jour. Les supports de cages doivent être nettoyés et désinfectés régulièrement. L'équipement et les surfaces des chambres de lapins doivent être aussi entretenus de façon régulière.

Les plateaux à excréments doivent être nettoyés souvent afin d'empêcher l'accumulation d'ammoniaque dans les chambres.

L'enlèvement des litières souillées et le nettoyage des plateaux à excréments doivent être effectués à l'extérieur des chambres d'animaux.

✓ Alimentation (C

On doit fournir de l'eau fraîche et de la nourriture tous les jours. Tous les animaux doivent être observés au moins une fois par jour et de plus on doit noter leur consommation d'eau et de nourriture de même que l'état de leurs excréments. Les animaux malades ou morts doivent être retirés immédiatement, ces derniers devant être manipulés selon les procédures prévues au protocole de l'expérience.



A



B



C

Photo04: Les conditions d'élevage dans la salle animalerie des lapins de l'Université Dr Moulay Tahar de Ain El Hdjar Saida

II-2.Traitement des animaux

II-2-1.Chirurgie

➤ Matériel

- Animaux (lapins)
- l'anesthésie
- des lames de bistouri
- paire de ciseaux courbes
- une seringue de 5 ml
- des aiguilles à injection
- ciseau courbé
- une paire de gants

➤ Méthode : Au jour (0) On fait :

A- mettre le lapin sous anesthésie générale (kétamine) dose 1.5 ml pour 10kg de poids vif ;
Après la pesée de l'animal on calcule la dose adéquate à injecté.

B- Dégager les poils à laide d'un ciseau courbé.

C- délimité une zone à diamètre 3cm.

D-A laide d'une lame_bistouri on provoque une plaie chirurgicale de forme circulaire.

E- On enlève la peau et on laisse la plaie 24h sans aucun traitement pour laisser le temps a l'infection d'installer.



A

B

C

D

E

Photo 05: les différentes étapes de protocole expérimental sur les lapin

(Durant cette 24 h l'animal prend son alimentation habituelle dans des les mêmes conditions enviromentales qu'avant l'intervention).

II-2-2.Traitement et évaluation du processus cicatriciel

Les lapins expérimentaux ont subi des traitements différents (sauf lapin T) :

-**Lapin T** (témoin) : laisse sans aucun traitement.

-**Lapin 01** : traité par le miel.

-**Lapin 02** : traité par l'antibiotique.

➤ Matériel et produits :

- règle
- balance
- Spectrophotométrie
- Tubes à essai.
- Portoir des tubes
- Les écouvillons
- BN
- une seringue de 5 ml
- des aiguilles à injection
- Miel
- antibiotique

II-2-2- 1.Traitements des plaies

Les traitements sont appliqués quotidiennement (chaque jour), durant la période de l'étude. Toutes les règles de l'asepsie ont été respectées. L'application des différents traitements est réalisée à l'aide d'un matériel stérile renouvelé à chaque application et pour chaque lapin.

II.2.2.1.1L'application du miel

Le miel utilisé doit être homogénéisé et parfaitement liquide on le met dans un flacon fermé hermétiquement et on le place dans un bain marie à 40°C, pendant le temps suffisant pour assurer la disparition des cristaux de sucre.

Après désinfection des mains on porte des gants et :

A- A l'aide d'une seringue (5 ml) stérile on prélève un 03 ml de miel (selon le résultat de la concentration minimale inhibitrice).

B- versés de façon homogène.

C- étalés en une fine couche uniforme sur toute la surface de la plaie.



A

B

C

Photo 06: les étapes de l'application de miel

II.2.2.1.2 .Injection l'antibiotique

La voie injectable est la plus souvent utilisée en élevage, Elle est la plus facile à pratiquer et nécessite peu de manipulations par les étapes suivantes.

- 1** - Utilisez du matériel injectable à usage unique, L'utilisation d'une aiguille souillée peut entraîner la formation d'un abcès au point d'injection.
- 2** - Homogénéisez le produit (ATB) à injecter.
- 3** - d'injection prescrite. Selon le poids d'un animal par voie intramusculaire, vérifiez bien l'absence de sang dans la seringue par un léger retrait du piston, afin de ne pas risquer de réaliser une injection intraveineuse.
- 4** - Respectez les doses (0.1ml) et les délais entre les injections prescrits (24h). La plupart des antibiotiques sont temps-dépendants.
- 5** Conservez les flacons d'antibiotiques a condition adaptée.



Photo07: injection de l'antibiotique par voie intramusculaire

II.2.2.2. Évaluation du processus cicatriciel

L'observation macroscopique des différentes plaies est réalisée avant chaque nouvelle application.

Toutes les plaies sont laissées à l'air libre.

Durant toute la période de notre étude, nous avons contrôlé certains paramètres :

II.2.2.2.1. Détermination la densité optique de la suspension bactérienne

L'une des caractéristiques des plaies est la colonisation bactérienne, souvent de plusieurs souches qui vont altérer le processus de cicatrisation.

Le dosage a été réalisé au niveau de laboratoire :

- A- On fait des prélèvements bactérien par écouvillonnage de la plaie a l'aide d'un écouvillon stérile imbibé dans l'eau physiologique aussi stérile
- B- ensemencé sur bouillon nutritif et incubée **37°/24h.**
- C- La cellule rince et remplie d'eau désilé comme solution de référence puis essayées la cellule avec un papier.
 - Ajustement de 0% puis introduisent la cellule contenant l'eau désilé
- D- Conditionnée une cellule et puis remplie 3/4 avec la suspension bactérien analysé Choisir la longueur d'onde appropriée
 - ajustement du 100% puis Introduisent la cellule de la suspension bactérienne
- E- lecture de l'absorbance de la suspension analysé.



A

B

C

D

E

Photo08: les différents étapes de mesuré de la densité optique

II.2.2.2.2. Diamètre de la plaie

L'évolution de la cicatrisation a été appréciée selon la méthode de Subramoniam et al 2001 : Nous avons mesuré le pourcentage de la Réduction du diamètre de la plaie par rapport à diamètre de la plaie initiale.

➤ Objectif

Détermine les variation du diamètre de plaie pour évaluée l'effet cicatrisant de miel /antibiotique.

A laide d'une règle on mesuré le diamètre de plais dans les 02 sens.

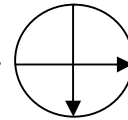


Photo09 : mesure de diamètre de la plaie

II.2.2.2.3. le poid

➤ Objectif

La variation du poids de lapin par apport au témoin reflète son statut sanitaire (selon le degré de l'infection l'état générale de l'animal sera perturbe ou non entre autre la prise de l'alimentation et ca influe sur le poids).

Chaque jour On pesé le lapin par une balance numérique



Photo10 : pesé de lapin

II.2.2.2.4 .Observation macroscopique

L'observation macroscopique des différentes plaies est réalisée avant chaque nouvelle application et en vérifie les signe suivant :

- Comportement des animaux.
- Changement de couleur de la plaie (rose, rouge, bleu).
- présence d'œdème et de bourgeonnement.
- apparition disparition de la croûte.
- présence des sécrétions (d'exsudat, transsudat, sang, pus).

I. In vitro

I .1. Le miel

I .1.1.Les analyses physicochimiques

I .1.1.1. Le taux de l'humidité

Après avoir rapporté les indices de réfraction obtenus à la table de CHATAWAY (**Annexe 1**), nous avons obtenus le résultat suivant :

D'après les résultats nous remarquons que la teneur en eau de nos échantillons du miel est 17%. Cette valeur se situe bien dans l'intervalle préconisé par le *Codex alimentarius*, et qui ne dépasse pas 21% en général.

La teneur en eau est une donnée très importante à connaître, car elle conditionne la qualité du miel, en effet seuls les miels dont la teneur en eau est inférieure à 18% sont bons à conserver (**Gonnet, 1982**). Tant le Codex Alimentaires que la norme de l'UE prescrivent actuellement une teneur en eau maximale de 21%. Le miel qui contient une teneur en eau élevée fermente plus facilement. Les deux projets proposent de maintenir la valeur maximale de 21 g d'eau/100 g de miel (**Bogdanov et al, 2001**). Donc nos échantillons sont bien conservés et sont de bonne qualité.

I .1.1.2. Détermination du pH

Le résultat de pH est $5.31 \pm 0,01$. Donc le miel étudié est acide.

(**Donadieu, 1984**) et (**Gonnet, 1982**), signalent que le miel est acide, son pH est en moyenne entre 3.5 et 6. Le pH d'un miel est en relation avec la quantité d'acides ionisables qu'ils renferment (ions H^+), ainsi que sa composition minérale.

(**Gonnet, 1986**), ajoute que le pH est une mesure qui permet la détermination de l'origine florale du miel. Ainsi les miels issus de nectar ont un pH compris entre 3.5 et 4.5, par contre ceux provenant des miellats sont compris entre 4.5 et 5.5

Donc le miel de férule c'est un miel d'origine de miellat

I .1.1.3.cendre

La teneur en matières minérales de miel expérimental est forte, elle est 0.4%.
La valeur de cendre obtenues est inférieurs à 0,6%.Ceci indiquerait que le miel étudié sont d'origine florale ,puis que cette valeur est inférieurs à celle exigé par le codex alimentaires, qu'établit un maximum de 0,6% pour miels mono floraux et de 1% pour miels de miellat

D'après **Bogdanov et al. , 1997**, la matière minérale détermine l'origine botanique du miel ; les miels issus des nectars ont une teneur en matière minérales ne dépassant pas 0,6%, Tandis que celles des miels de miellat ou mélanges de nectar et de miellat doivent être inférieurs à 1,2%.

White et al. (1962) ont confirmé l'existence d'une relation entre la couleur des miels et leur teneur en cendres. D'une façon générale, les miels clairs sont nettement moins riches en cendre que les miels foncés

Les cendres sont fondamentalement déterminées par le contenu de substances minérales du miel (composées principalement de K, Na et de Ca) ce contenue dépend fondamentalement et qualitativement aux caractéristiques du sol et du climat de la région d'origine du miel (**white, 1981**).

Donc Le miel de férule riche en matières minérales.

I .1.1.4.La densité

La valeur de densité obtenue de notre miel est de 1,40.

Selon (**Louveaux, 1985**), les variations de la densité des miels proviennent surtout des variations de la teneur en eau. Plus un miel est riche en eau et moins il est dense.

Aussi on peut dire que l'échantillon analysé a un taux de densité conforme aux normes fixées par l'association française de normalisation et qui se trouve entre 1,39à 1,52.

Donc Le miel est riche en eau

I.1. 1.5. La conductivité électrique

La valeur de la conductivité électrique de nos échantillons de miel analysé est ($CE = 6,22 \times 10^{-4} \text{ s/cm} \pm 0,06$). Ces valeurs sont inférieures à 0.8 mS/mc ; norme recommandée par **(Bogdanov et al, 2001)**.

La conductivité électrique représente un bon critère pour la détermination de l'origine botanique du miel **(Bogdanov et al, 2004)**. Il apporte une indication précieuse dans la définition d'une appellation. Nos résultats montrent que l'échantillon étudié est de miel de miellat

En général, les miellats et certains miels de fleurs très colorés conduisent beaucoup le courant que les miels des fleurs les plus clairs des échantillons les plus clairs. Selon **(Gonnet, 1982)**, les miels foncés sont plus riches en matière minérale ionisable, donc bons conducteurs de courant. Louveaux (1979) affirme que les sels sont apportés par le pollen par le nectar des fleurs ou les miellats.

Gonnet (1982), signale que les miels foncés sont les plus riches en matières minérales ionisables, donc bon conducteur de courant. **(Louveaux, 1976)**, affirme que les sels sont apportés par le pollen, par le nectar des fleurs ou par les miellats. Nous remarquons que l'échantillon de miel de férule ($CE = 6,22 \times 10^{-4} \text{ s/cm} \pm 0,06$) ont des miels de Est d'Algérie, peuvent contenir une certaine quantité du miellat, ces miels sont les meilleurs conducteurs du courant électrique.

I .1.1.6.L'acidité

La valeur de l'acidité de miel analysés est de 15.5 à 40 m éq /kg.

Ces acides proviennent du nectar ou de miellat mais leur origine principale provient des sécrétions salivaires de l'abeille ; le principal acide dérive de glucose sous forme d'acide gluconique, Sa formation s'accompagne de dégagement d'eau oxygénée **(Gomes et al ; 2010 ; Bogdanov et al ; 2004 ; Louveaux, 1968)**.

La variation de l'acidité dans les différents miels peut être attribuée à l'origine florale ou à des variations en raison de la saison de la récolte **(Pe'rez-Arquillue et al.1995)**.

D'après Schweitzer (2004), l'acidité naturelle du miel s'accroît lorsque le miel vieillit, lorsqu'il est extrait des rayons avec de la propolis et notamment lorsqu'il s'altère par fermentation. L'acidité est un critère important de qualité, elle donne des indications très importantes de l'état du miel **(Bogdanov, 1999, Gonnet, 1982)**.

I.1. 2. Activité antimicrobienne de miel

Les résultats obtenus présentés dans le tableau 10

Tableau 10 : Valeurs en ml de la CMI :

	Concentration de miel	résultats
Miel	1ml /9ml MH	+
	2ml /8ml MH	+ -
	3ml /7ml MH	-
	4ml /6ml MH	-
	5ml /5ml MH	-

+ : croissance

+ - : Faible croissance

– : Inhibition totale de la croissance

D'après les résultats obtenues on a constaté que la croissance des bactéries de la plaie est inhibe totalement a la concentration 3ml de miel (plus forte activité inhibitrice)



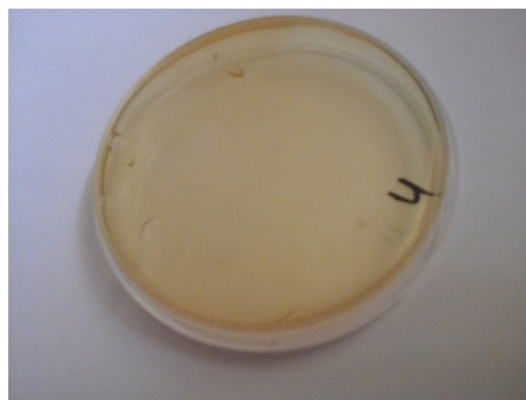
01/10ml



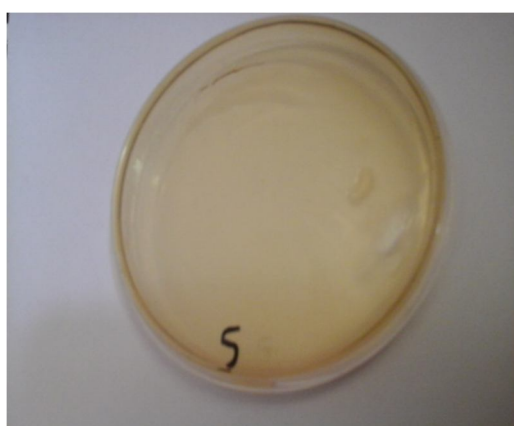
02/08ml



03 /07ml



04/06ml



05/05ml

Photo11: les résultats de CMI de miel

I.2. Activité antimicrobienne de l'antibiotique

I.2.1. test de sensibilité d'antibiotique

L'efficacité de l'antibiotique est mesurée par le diamètre de la zone d'inhibition du disque, Les résultats des antibiogrammes sont résumés dans le tableau 10

Tableau 11: le résultat de test de sensibilité d'antibiotique

ATB	DA2	K30	S10	TOP10	AK30	OX1	AM10	E15
Diamètre	0mm	20mm	17mm	0mm	23mm	0mm	15mm	0mm
S/R/I	R	S	S	R	S	R	I	R

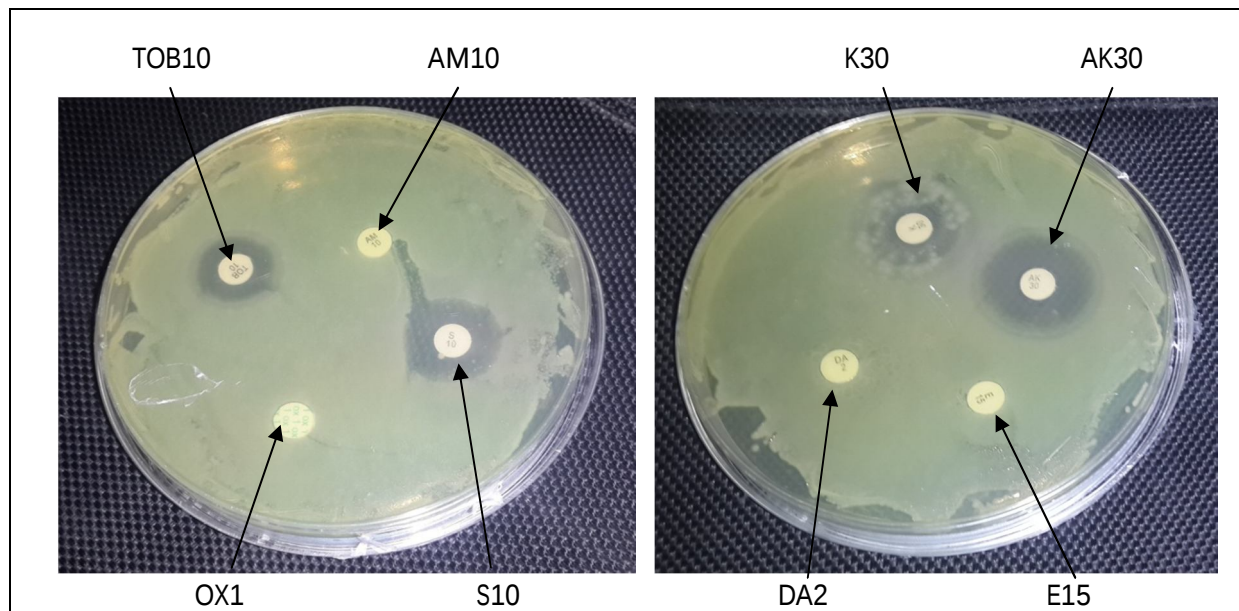


Photo12: les zones d'inhibition des antibiotiques avec méthode de disques pour les germes testés

Les résultats montrent que la présence des germes bactériens localisée dans la plaie

Donc la plaie cutanée est infectée.

II - In vivo

II -1.Etude de l'activité antibatérienne

Les résultats de notre étude Après 24 h de traitement sont présentés ci-dessous.

II .1.1.Variation de densité optique

L'évaluation du l'activité antibactérienne de miel basé sur les mesures de l'absorbance de la suspension bactérien de la plaie par la spectrophotométrie. Les résultats sont résumés dans le tableau 11

Tableau 11: Variation la densité en fonction du temps.

		J0	J1	J2	J3	J4	J5	J6	J7	J8	J09	J10	J11	J12	J13	J14
DO	t	/	2.9	3	3.4	3	2.7	2	1.7	1	0.5	0.09	0.05	0.03	0.01	0
	L1	/	2.7	2	1.5	0.7	0.3	0.09	0.02	0						
	L2	/	2.65	2.4	2	1.7	1.2	1	0.6	0.2	0.05	0.01	0			

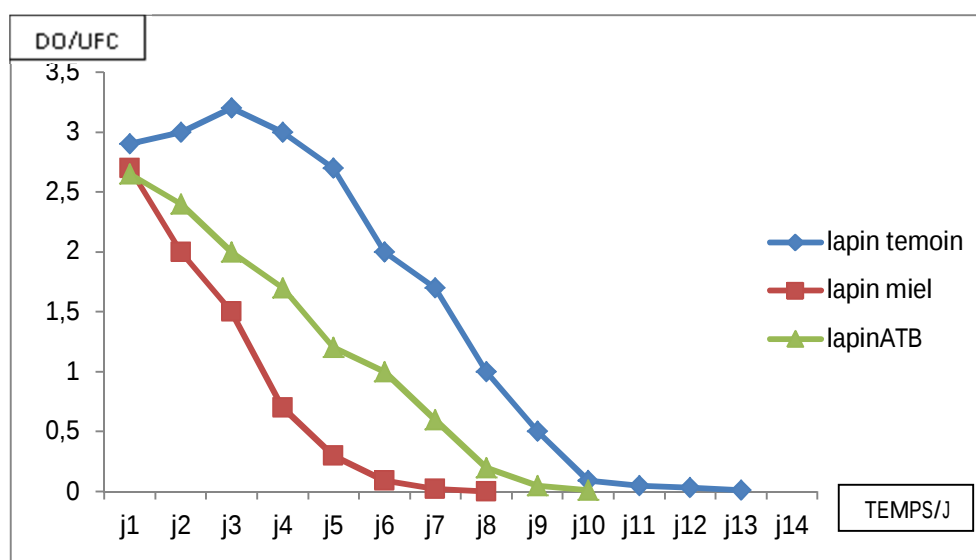


Figure 18 : variation de densité optique on fonction de temps

On observée que la densité optique de suspension bactérienne prélevé sur la plaie de témoin diminuée lentement jusqu' à l'inhibition totale des germes à 14 jours par a port la densité optique de suspension bactérienne prélevé sur la plaie qui traité par le miel (08 jours) et qui traité par l'antibiotique (11 jours).D'après les résultats expérimentaux obtenus montre que le miel utilisé possède une activité antibactérienne plus efficace par apport l'ATB

II .1.2.Variation du diamètre des plaies des lapins (1, 2,3)

Les résultats de mesurée le diamètre de plaie sont présentés dans le tableau 12.

Tableau 12 : Variation du diamètre des plaies

	0j	3j	5j	7j	9j	11j	13j	15j	17j	19j	21j	23j	25j
Lapin t	3/3	2.8/ 2.9	2.7/ 2.7	2.4/ 2.5	2.1/ 2.3	1.8/ 2	1.5/ 1.7	1.1/ 1.3	0.7/ 0.9	0.4/ 0.6	0.4/ 0.2	.0.2/ 0.1	0/0
Lapin1	3/3	2.6/ 2.4	1.9/ 1.6	01/ 1.1	0.6/ 0.5	0.3/ 0.2	0/0						
Lapin2	3/3	2.6/ 2.8	2.3/ 2.2	1.7/ 1.7	1.2/ 1.	0.9/ 0.	1.2/ 1.1	0.7/ 0.6	0.3/0. 3	0/0			

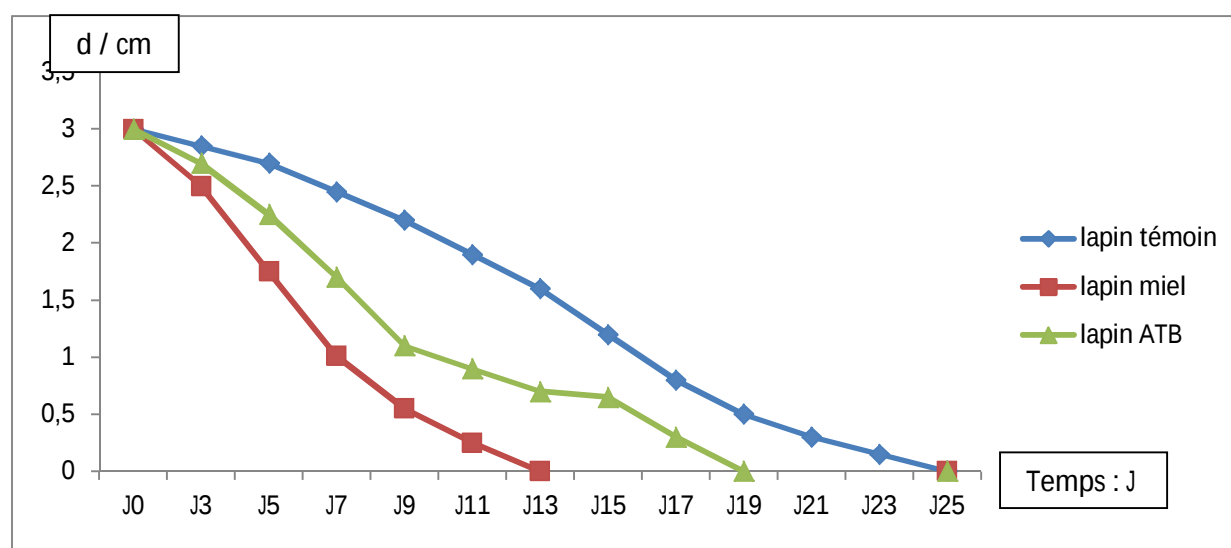


Figure19 : Représentation graphique de la variation de plaie en fonction du temps

Nos résultats montrent que la variation de diamètre des trois plaies augmente à partir du **2ème** jour du traitement. Pour atteindre une cicatrisation totale (100%) au bout du **13ème** jour pour Lapin1 (**traité** par le miel) et **19** jour pour lapin2 (traité par **ATB**) et **25**jour chez lapin **T** (témoin). Nous remarquons que les plaies traitées avec le ATB suivent la même évolution que les plaies traitées avec le miel mais ceci avec un retard de quelques jours. On peut en déduire que l'intérêt du miel en application locale sur les plaies est d'accélérer le processus de la cicatrisation.

II .1.3.variation du poids

Les résultats des valeurs des poids sont résumés dans le tableau 1

Tableau 13: Variation du poids en fonction du temps :

	J0	J2	J4	J6	J8	J10	J12	J14	J16	J18	J20	J22	J24	J25
LT	1.37	1.20	1.22	1.28	1.32	1.33	1.35	1.37	1.42	1.47	1.52	1.55	1.65	1.68
L2	1.60	1.45	1.52	1.65	1.69	1.71	1.76	1.80	1.87	1.90	1.95	/	/	/
L3	1.19	1.18	1.25	1.36	1.37	1.41	1.42	1.45	1.48	1.52	1.61	/	/	/

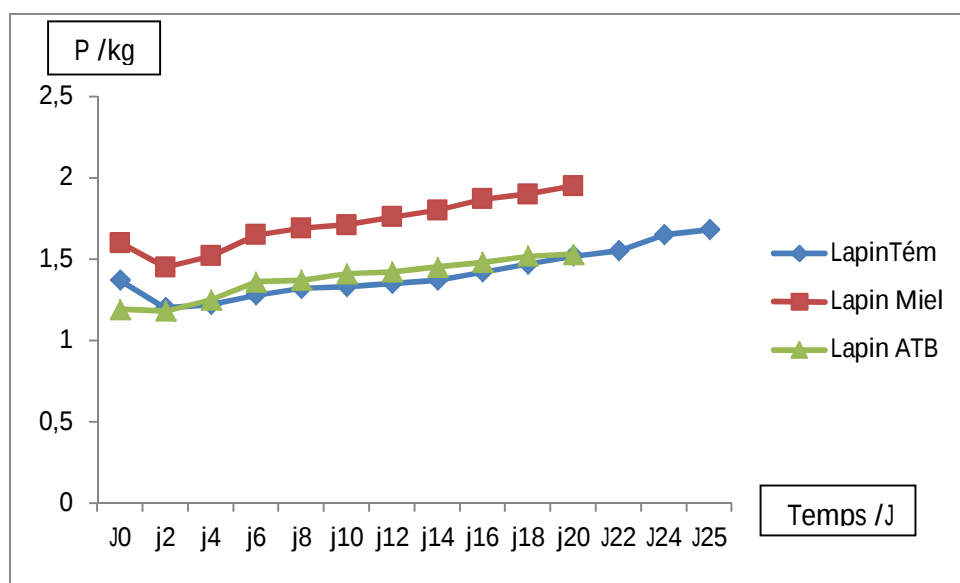


Figure 20: Représentation graphique de la variation du poids en fonction du temps

Nos résultats indiquent que les valeurs des poids augmentent lentement et régulièrement au cours du traitement : de **1.37kg** au début du traitement à **1.68kg** au 25ème jour chez le lapin témoins.

L'évolution du poids de lapin traités par miel suit le même profil de **1.60 kg** au début du traitement à **1.97kg** au 21ème jour, et **1.19kg** à **1.65kg** au 21ème jour traité par ATB.

L'évolution des poids des trois lapins ne présente aucune différence pendant toute la durée de l'expérimentation.

II .1.4 . Les observations macroscopiques



J0

J05

J10

J15

J25



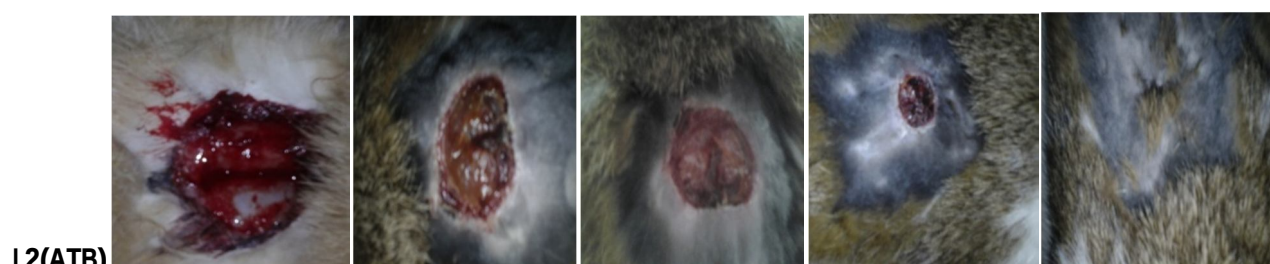
J0

J03

J05

J08

J13



J0

J04

J08

J12

J17

Photo13: les observations macroscopiques de la plaie.

Nos observations macroscopiques (**Photo13**) indiquent que la présence de sang à J0 de toutes les plaies et la disparition de la rougeur, de l'œdème et du bourgeon pour le lapin traité par le miel survient au bout du 3ème jour.

Par contre, ces phénomènes ne disparaissent qu'après le 4ème jour pour le lapin traité par l'ATB et 5ème pour témoins. La croûte observée au 5ème jour pour le lapin traité par le miel et disparaît au bout du 8ème jour. Cependant pour le lapin traité par ATB la croûte n'apparaît qu'au 8ème jour et se maintient jusqu'au 12ème jour. Nous n'avons observé aucun changement dans le comportement des animaux qui ne semblent pas affectés par la présence des plaies. Au cours de l'application du traitement les animaux n'ont montré aucun signe d'agressivité

II .2. Activité antibactérienne et cicatrisante du miel :

Notre travail montre que le miel possède activité cicatrisante et antimicrobienne plus efficace par rapport l'antibiotique. Nos résultats sont en accord avec les travaux de l'équipe du Professeur Bernard Descottes, chef du service de chirurgie générale B au CHU et fondateur de l'Association Européenne d'Apithérapie, qui utilise le miel comme cicatrisant des Plaies (1984 à 2009) sur 3012 patients pour traiter des lésions diverses (ulcères, escarres, Brûlures...), des kystes sacro-coccygiens, des fermetures pariétales après ablation de stomies(iléostomie ou colostomie) et des désunions chirurgicales. Durant la période de l'étude expérimentale, la surface et le volume des plaies prises en charge ont été enregistrés, permettant ainsi une étude randomisée, réalisée en 1988. Elle comparait la vitesse de cicatrisation du miel à celle de la BIOGAZE® et du DEBRISAN® pour des plaies de taille égale en moyenne à 8,5 cm² .

Cette étude a permis de mettre en évidence une vitesse de cicatrisation beaucoup plus importante avec le miel (0,78 cm² par jour) qu'avec les autres traitements (0,39 cm² par jour pour la BIOGAZE® et 0,47 cm² par jour pour le DEBRISAN® (*Marie-L, 2012*).

Les résultats de cette expérience confirment l'intérêt de l'utilisation du miel dans la cicatrisation. Comme nous l'avons constaté, ce Produit apporte une cicatrisation de qualité, et ce, dans la majorité des cas pris en charge .Il a une action anti-bactérienne avérée et confirmée par notre expérience et les différentes publications. (*Descottes, 2009*).

Le miel a été utilisé pour la première fois chez une jeune fille de 20 ans qui avait subi une résection importante de l'intestin grêle. Suite au drainage d'un abcès de paroi important, la patiente présentait une perte de substance au niveau de la partie centrale de sa plaie abdominale. Une application de miel au niveau de cette cavité a conduit en huit jours à une cicatrisation pratiquement complète.

Des cicatrisations ont aussi été obtenues chez des animaux. Des vétérinaires (*Simon A. et al, 1997*) ont traité avec du miel et du sucre une génisse Prim'Holstein âgée d'un an qui présentait trois plaies infectées suintantes et mal odorantes.

Au bout d'une semaine, la mauvaise odeur et les suppurations ont disparu. En un mois, le bourgeonnement conjonctif comblait complètement les plaies. Au bout de deux mois, la cicatrisation était totale. **(Clémence H, 2005)**

Avec l'augmentation de la prévalence des bactéries résistantes aux antibiotiques, le miel est de plus en plus apprécié pour son activité antibactérienne. La puissante activité *in vitro* du miel contre les bactéries résistantes aux antibiotiques et les résultats prometteurs obtenus lors de l'application du miel sur des plaies. Une étude récente a utilisé une nouvelle approche de neutralisation successive des différents facteurs bactéricides sur un miel de qualité médical, le REVAMIL® afin de les caractériser **(Kwakman et al, 2010)**.

Chacun des facteurs pris isolément a été testé sur plusieurs types de bactéries résistantes aux antibiotiques : *Bacillus Subtilis*, *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline, *Escherichia coli* producteur de β -lactamase, *Pseudomonas aeruginosa* résistant à la ciprofloxacine et *Enterococcus Faecium* résistant à la vancomycine. Tous les tests bactériens ont été sensibles à différentes combinaisons de facteurs bactéricides, indiquant la multiplicité des mécanismes mis en jeu.

Elle est la conséquence de la forte teneur en sucre du miel. Le miel agit donc de manière osmotique, en provoquant une forte déshydratation des germes qui n'ont plus alors suffisamment d'eau pour survivre **(Assie B., 2004)**.

Par cette forte concentration en glucose-lévulose (80%) le miel dévie le substrat préférentiel des bactéries. Celles-ci délaissent les acides aminés, les débris cellulaires dont les produits de dégradation aminés et sulfurés sont responsables des odeurs putrides. Elles se tournent vers la fermentation lactique et l'acidification du milieu, par ce mécanisme le miel empêche le développement des bactéries pathogènes responsables des surinfections.

Le pH du miel est relativement acide, variant entre 3,5 et 6. Ce pH semble être efficace pour ralentir ou éviter la croissance de nombreuses espèces de bactéries pathogènes. On peut donc dire que le pH acide du miel renforce l'activité antibactérienne **(Alexandra R, 2011)**

Les fibroblastes jouent un rôle fondamental dans le processus de cicatrisation. Or. Leur migration. Leur prolifération et surtout la synthèse de collagène sont optimales dans un environnement légèrement acide. Le pH du miel varie entre 3 et 6, les pansements au miel favorisent donc l'activité fibroblastique. **(Clémence HOYET, 1980)**

Le miel est une solution saturée voire sursaturée de sucres (glucose et fructose essentiellement). Il possède donc une osmolarité élevée qui lui confère une partie de ses propriétés thérapeutiques.

Ce peroxyde d'hydrogène apparaît comme un véritable Stimulus de la multiplication cellulaire ainsi que de la Réponse à l'évolution de l'inflammation normale de la cicatrisation. Il stimule la croissance des fibroblastes et des cellules épithéliales qui vont participer à la réparation tissulaire. Dans le même temps, il stimule également le développement d'une néo vascularisation dans le tissu cicatriciel **(B.Descottes ; 2009)**

L'activité Antibactérienne des miels est corrélée à la production de Peroxyde d'hydrogène et peut être considéré comme un Facteur prédictif de l'activité antibactérienne du miel utilisé. Ce rôle du peroxyde d'hydrogène est confirmé par différents auteurs comme, Taormina et Cooper **(BangL ; M2003)**.

Le peroxyde d'hydrogène est produit dans le miel suite à une réaction catalysée par une enzyme appelée la glucose oxydase. Le miel contient un inhibiteur du glucose oxydase, celle-ci ne devient active que quand il est dilué comme c'est le cas au contact des fluides de la plaie. Une fois cette dilution réalisée, le peroxyde d'hydrogène va être produit de façon lente, continue et à un taux constant pendant au moins 24h. Les concentrations obtenues sont alors environ 1000 fois inférieures à celles retrouvées dans les solutions d'eau oxygénée à 3% généralement utilisées comme antiseptique. Ces concentrations sont cependant suffisamment élevées pour bénéficier de l'effet antibactérien du peroxyde d'hydrogène mais suffisamment faible pour ne pas être à l'origine de dommages cellulaires. **(Tomczak .C ; 2010)**

Le rôle antibactérien du miel a été à l'origine de son utilisation dans les plaies à haut risque d'infections. Grâce à ses propriétés antibactériennes (Al-Waili NS et al, 2011), il a permis une réduction de la charge bactérienne après 08 jours par rapport à un traitement conventionnel avec un coût économique inférieur dans la prise en charge des maux perforants plantaires **(Moghazy A et al, 2010)**

Une étude prospective menée sur 20 patients para- ou tétraplégiques présentant des escarres (stade 3 ou 4) a noté, quant à elle, une cicatrisation complète des plaies chez 18 patients après 4 semaines de traitement à base de miel et une diminution de la charge bactérienne des plaies **(Biglari B et al, 2012)**. Ainsi, il existe des preuves d'efficacité biologique et clinique suggérant l'intérêt de l'utilisation du miel dans le traitement des plaies mais il manque encore

des études avec de bons niveaux de preuves pour confirmer des effets thérapeutiques indiscutable (**Lee D, 2011**)

Le miel permet une meilleure cicatrisation : il éviterait les cicatrices. Trois mécanismes potentiels sont envisagés : les saccharides à la surface de la plaie encourageraient la production d'acide hyaluronique ce qui empêcherait simultanément la formation anarchique de fibres de collagène. Puis le glucose présent sur la plaie créerait un environnement favorable pour que les protéoglycanes réparateurs agissent sans produire des quantités excessives de collagène. Enfin, le mécanisme par lequel le sucre se fixe au collagène pourrait modifier sa structure tridimensionnelle (**Irlande D, 2010**).

Selon la littérature, le miel produit rapidement la régénération tissulaire et réduit l'inflammation, l'œdème et l'exsudation. Sa viscosité élevée offre une barrière de protection pour éviter l'infection des blessures, effectivement sceller la plaie (**Molan, 1999**). Le miel fournit un pansement humide cicatrisant qui empêche la croissance bactérienne, même si la plaie est fortement infectée (**Mwipatayi et al, 2004**). Un environnement humide est connu pour protéger la plaie, réduire les taux d'infection et la douleur, débrime les tissus nécrosés, favorise la granulation et la formation des tissus (**Subrahmanyam, 1998**). Le pH du miel faible et varie entre 3,2 - 4,5 avec une prédominance de l'acide gluconique (**Abdullah A et Clemencia A, 2009**).

Selon Al-Mamary, (2002), le miel a été rapporté comme étant efficace pour le traitement des troubles gastro-intestinaux, la cicatrisation des plaies et brûlures, de fournir une protection contre les lésions gastriques aiguës et chroniques et comme agent antimicrobien. Le miel est principalement composé d'eau et de glucides (**Sampath K et al, 2010**).

Conclusion :

Aujourd'hui, que ce soit en médecine humaine ou en médecine vétérinaire, l'utilisation du miel pour le traitement d'une plaie est encore souvent considérée comme le dernier recours après l'échec de tous les traitements

Grâce à sa composition, particulière et d'une grande complexité, le miel possède des propriétés intéressantes pour une utilisation au niveau cutané. De nombreuses publications scientifiques, ont décrit leurs propriétés cicatrisantes, antibactériennes, antioxydants, anti-inflammatoires et immunomodulatrices.

Toutefois, le spectre d'activité antibactérien du miel est large et semble couvrir en particulier tous les germes mis en causes dans les infections cutanées.

Concernant son utilisation thérapeutique, l'application de miel sur divers types de plaies est maintenant bien répandue dans le monde. On ne connaît pas encore précisément toutes les composantes antibactériennes du miel. On peut cependant déjà citer : l'osmolarité (due à sa forte teneur en sucre), le pH acide (constituant un milieu défavorable à la prolifération bactérienne), le peroxyde d'hydrogène (libéré de façon lente et prolongée au sein du miel), les facteurs photochimiques, comme la défensine-1 (petit peptide possédant un large spectre antimicrobien).

Des études internationales viennent aujourd'hui confirmer ce que les anciens savaient déjà : le miel possède de nombreuses propriétés thérapeutiques.

Dans les pays développés il serait une alternative envisageable pour des traitements coûteux (escarres, plaies post opératoires, ...) ou devenus inefficaces (résistance bactériennes aux antibiotiques).

Pour les pays en voie de développement, le miel pourrait être une solution thérapeutique intéressante d'autant qu'il peut être produit de façon indépendante.

Récemment, du miel médical et des dispositifs médicaux à base de miel se sont développés. Ils répondent à des exigences de stricte sanitaire, à la nécessité d'un cadre législatif bien défini et à des besoins de fiabilité non négligeables. Cependant, leur essor permettra-t-il d'augmenter l'usage de la thérapeutique mellifère

Le miel est un bactéricide efficace, qui pourrait servir à l'industrie pharmaceutique pour remplacer des antibiotiques moins efficaces.

Toutefois, comme nous l'avons vu, il reste une alternative intéressante et efficace dans des cas d'infections résistant aux antibiotiques traditionnels et permet en même temps une cicatrisation plus rapide et de meilleure qualité.

C'est pourquoi, le miel est de plus en plus utilisé pour son pouvoir antibactérien et cicatrisant au niveau des plaies. Il est peu onéreux, efficace, et les situations dans lesquelles il est déconseillé sont rares.

Avec la mise en place de projets de recherche sérieux et le développement de miels présentant des qualités médicales, l'utilisation de celui-ci pour la cicatrisation des plaies pourrait entrer dans les mœurs au même titre que les autres produits cicatrisants. On peut cependant se poser un certain nombre de questions, à savoir :

Est-il possible d'obtenir un miel de qualité médicale constante dans le temps ?

Abdullah Adil Ansari and Clemencia Alexander, 2009. Effect of natural honey (Produced by African sculata in Guyana) against bacteria (*Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*) and fungus (*Candida albicans*). World J. Dairy & Food Sci, 4 (1):73-77.

Adam F. et Drouillard I, (2003) : sulfamides et association. Encycl Méd Chir, Maladie infectieuses, 8-004-A-0 , 2003 : 9p

Ames. B N, Shigenaga. M, Hagen. T, (1993): « Oxidants, antioxydants, and the degenerative diseases of aging ». *Proc.Natl.Acad.Sci.USA*; (90): 7915-7922.

Anonyme 2 à (2005). Antibiothérapie 1 &2, page 2-39

Anonyme 7 d (2008). Pharmacologie des Antibiotiques, p2-60. cours de pharmacologie DCEM3. Centre d'Investigations Cliniques.

Anonyme 8 (2000). Spectrométrie de masse organique et bio-organique p 2-8

Archambaud. M, 2009. Laboratoire Bactériologie-Hygiène .CHU Rangueil Toulouse. P 23, 24, 33,34.

Assie B, Descottes B. 2004. Le miel comme agent cicatrisant. Thèse d'exercice: Médecine. Toulouse: Toulouse III. p115. Analyse de miel 381

Bernard.Descottes ; (2009) Cicatrisation par le miel, l'expérience de 25 années

Bogdanov. S, (2009): « Honey Composition », Book of Honey, Chapter 5, Bee Product Science, pp2, www.bee-hexagon.net

Bogdanov. S, Gallman. P, (2006) Bogdanov. S, Bieri. K, Gremaud. G, 2004. *Produits apicoles, Pollen*, Agroscope Liebefeld-Posieux, Station fédérale de recherches en production animale et laitière (ALP), Centre de recherches apicoles, Liebefeld-Berne, 6p. 37p

Bogdanov. S., Bieri. K., Gremaud. G, (2004) : « Produits apicoles », *Miel*, Agroscope Liebefeld-Posieux, Station fédérale de recherches en production animale **BOGDANOV. S Blumer. P (2001) :** « **Propriétés antibiotiques naturelles du miel** ». Centre Suisse de recherches apicoles. Station fédérale des recherches laitières Liebefeld, CH-3003, thèse soutenue par Clémence Hoyet pour l'obtention du diplôme d'état de pharmacien, Université Henri Poincaré, Nancy 2005-

Bogdanov. S, Lullmann. C, Martin. P, 2001 : Qualité du miel et norme internationale relative au miel. Rapport de la commission internationale du miel. Abeille Cie N° 71-4.1 2p. •

Bogdanov. S, (1999): Stockage, cristallisation et liquéfaction du miel. Centre suisse de recherche apicoles .05p. « Apitherapy, Theodore Cherbuliez, South Freeport ME, USA », Consulting, Bucarest, Roumanie, pp4

Bogdanov. S, (1997) : « *du nectar a un miel de qualite* », *controles analytiques du miel et conseils pratiques a l'intention de l'apiculteur amateur*, these, ecole nationale veterinaire de lyon membre d'universite claud-bernard - lyon i: pp 18 . **BOUKRAA. L, (2007) :** « Additive action of honey and starch against *Candida albicans* and *Aspergillus niger* ». *Rev Iberoam Micol* ; 24(4):309-311.

Bruneau. E, (2009) : « Les produits de la ruche in Clément H ». Le Traité Rustica de l'apiculture, *Chapitre IX* : Editions Rustica, Paris, pp354-387.

Cavallo J-D, Fabre R, Jehl F, Rapp C, Garrabé E. (2004). Bêtalactamines. EMC-Maladies infectieuses. 1 : 129-202.

Chaabane A, Aouama K, Boughattas NA, Chakroun M. (2009). Allergie aux bêtalactamines: mythe et réalités. Ed Elsevier Masson. Médecine et maladies infectieuses 39 :278-287.

Chain et Abraham, (1940) . Cours de biologie général préparé par le professeur A.Philippon (faculté de médecine COCHIN-Port-Royal-université parisV) –

Charlier P, Coyette J, Dehareng D, Dive G, Galleni C, Joris B. (1998). Résistance bactérienne aux bêta-lactamines. Médecine science 14 :544-

Chatellet, 2007 : mémoire contribution à l'étude des effets du miel contre la résistance aux antibiotiques chez quelques souches bactériennes pathogènes

Codex alimentarius (2010) : CX/RVDF 10/19/10 Discussion paper on veterinary drugs in honey production

Codex Alimentarius, (2001): « Committee on Sugars. Codex standard 12, revised codex standard for honey. Stand. Methods; (11) : 1-7.

Codex alimentarius., Commission du Codex Alimentarius, 2001. Edition FAO.O.M.S

Codex ALIMENTAIRE, (1977) : « proposition pour une nouvelle norme internationale » sur: <http://www.unaf-apiculture.info>.

Clement. H, (2006) : «... la ruche aux trésors et l'apithérapie », *Dossier de presse - Paris*, Françoise BOISSY - O 'S ources Relations Presse, *Visuels libres de droits à télécharger*.

Clémence hoyet, (1980) Le miel : de la source à la thérapeutique université henri poincare - nancy 1 faculté de pharmacie

Corpet et Brugere, 1995 .contribution à l'étude des effets du miel contre la résistance aux antibiotiques chez quelques souches bactériennes pathogènes

Delobre Fe, Nathalie (2004) les affections cutanees du lapin : donnees actualisees l'universite claud-bernard - lyon i page 12(médecine - pharmacie)

Donadieu Y. 2003.qu'est que le miel .chapitre É. Faculté de médecine de paris .07p

Donnadieu .Y ,1981 La gelée royale 5ème Edition maloine S.A. éditeurs, paris honeybees (apis mellifera) et services dérivés des abeilles. organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture Rome.

Ester van praag 2005.abcés de peau chez le lapin page 1.2

Faure S. (2008). Les quinolones et les fluoroquinolones. Actualités pharmaceutiques. 447: 41-43.

Figarella .J, Leyral .G et Terret .M, 2007. Microbiologie générale et appliquée DELGRAVE EDITION. France. P 102,104, 106, 107,108

FisherJ-F, Meroueh S-O et al. (2005). "Bacterial resistance to beta-lactam antibiotics: compelling opportunism, compelling opportunity". Chem Rev 105 (2):395-424.

Gharbi Mehdi ,2011 .Les produits de la ruche : Origines - Fonctions naturelles – Composition Propriétés thérapeutiques Apithérapie et perspectives d'emploi en médecine vétérinaire. Thèse pour obtenir le grade de Docteur Vétérinaire

Gaudy.C et Buxeraud.J ,2005.Antibiotiques : pharmacologie et thérapeutique, ELSEVIER, Paris .P 14,23, 24

Gaudy.C et Buxeraud.J ,2005.Antibiotiques : pharmacologie et thérapeutique, ELSEVIER, Paris .P 14,23, 24

Gomes. S., DIAS. L.G., Moreira. L.L., Rodrigues. P., Estevinho. L, (2010) : « Physicochemical, microbiological and antimicrobial properties of commercial honeys from Portugal ». Food and Chemical Toxicology ; (48) : 544–548.

Géraud. D. B, (2005) : « Indications thérapeutiques apparentées à la cicatrisation », abeilles & Cie ;(104): 28

Gonnet. M, 1992 .*Le miel ; composition, propriétés, conservation*. INRA station expérimentale d'apiculture. Pp : 1-18.

Gonnet. M, (1986) : « *L'analyse des miels* ». Description de quelques méthodes de contrôle de qualité. Bul. Tech. Apic; 13(1):17-36.

Gonnet. M, 1982 .*Le miel ; composition, propriétés, conservation*. INRA station expérimentale d'apiculture. Pp : 1-18.

Gout. J, 2009) : « Le miel ». Editions Jean-Paul Gisserot, Paris, pp 64

Guezlane-Tebibel N, Kahlouche .B, Athmani-Guemouri .S, 2010. Microbiologie .Office des publications universitaires. P 70,74, 93,95, 115, 124

Haffar A. (1999) : Carte d'identité : Lapin Point Vet, 30, numéro spécial NAC, 47-48

Hoyet c., laurain-mattar d. 2005. Le miel : de la source à la thérapeutique. Thèse de doctorat : Pharmacie. Nancy : Nancy 1

Hillyer EV, Quesenberry QE, Frerets, rabbits, and rodents 1994. *clinical medicine and surgery* new York: WB saunders co .1997. page 432

Idrissa N ; 1994. évaluation de l'activité bactéricide de différents antibiotiques isolés et en association sur des souches bactériennes isolées au CHU de dakar

Jiji , 2014 .Japanese team discovers antibiotic effective against MRSA

Jull AB, Rodgers A, Walker N. 2008. Honey as a topical treatment for wounds. Cochrane Database Syst Rev. 2008. oct 8; (4):CD005083.

Kawakman et al, 2008 Vidal 2009. [http : // eurekansante.vidal.fr / médicaments / AB / familles](http://eurekansante.vidal.fr/medicaments/AB/familles).

Lavigne J, 2007 : Effets des antibiotiques et mécanismes de résistance P 1-2-3 Nordmann P. (2006). l'émergence de la résistance aux quinolones chez les entérobactéries. Pathologie Biologie. 54 : 7-9.

Lebas F. Ingénieur agronome P. Coudert Docteur vétérinaire H. de Rochambeau Ingénieur agronome R.G. Thébault Ingénieur INRA .1996 Elevage et pathologie (nouvelle version révisée)

Louveaux. J, (1985) : *Les abeilles et leur élevage*. Edition Opida. Pp : 165-181. **Louveaux. J, (1968)**: Composition, propriétés et technologie du miel. Les produits de la ruche, in Traité de biologie de l'abeille. Tome 03. Ed Masson et Cie. 389p.

Louveaux. J., 1968: Composition, propriétés et technologie du miel. In : Chauvin Retraité de biologie de l'abeille. Editions Masson et Cie, Paris, Tome 3, p 277-324.

Lusby P.E., Coombes A., Wilkinson J.-M. Honey 2002: *a potent agent for wound healing?* *The Wound, Ostomy and Continence Nurses Society*, vol. 29, n° 6, p. 295-300.

Madigan.M et Martinko. J ,2007. Biologie de Micro-organismes. Université Carbondale de l'Illinois du sud .11e édition. P 702,705, 711,860, 862.

Marchenay. P., Bérard. L, (2007) : « *L'homme, l'abeille et le miel* » Edition De Borée. Pp 223.

Marie .F 2013 : mémoire pour certification hippocratus de conseiller en huiles Essentielles.

Martel, 1996. Contribution à l'étude des effets du miel contre la résistance aux Antibiotiques chez quelques souches bactériennes pathogènes.

Mathilde S SAUMONT ; 2012 pathologies cutanees courantes chez le cheval et therapeutiques officinales

maur, 1979. Pathologie piologique P 300-304

Mehdi. Y, (2011) : « Caractérisation physicochimique, organoleptique et palynologique du miel de la région de Tiaret ». Etude de l'effet immunomodulateur chez les souris Blanc c.Mémoire de magister option : procédés immunochimiques de contrôle de qualité des aliments..

Mendes,E, proenca , EB,Ferreira,MA , Bento,LSM.(1997) Qualite evaluation of Portuguese hony.speciale issue *Gluportwo –seconde international Meting of the pourtugese carbohydrate Chemestry* Group .porto Portugal.21 -25

Moghazy AM .shams ME Adly OA et al (2010). The clinical and cost effective of bee honey dressing in the treatment of deabitique foot ulcer diabetes res cline prokt 89,76,81

Moussaoui, (2011) Analyse sensorielle de quelques miels du sud Algérien mémoire de fin d'étude université kasdi merbah – ouargla -2010/2011.

Nauciel C. (2000). Bactériologie médicale. Ed ellipses. pp 56.

Ndayisaba et al., 1992; Attipou et al., 1998). 105.. Evolution Clinique et bactériologique des plaies traitées par le miel. Analyse d'une série de 40 cas. Medecine d'Afrique Noire : 1992 ,39 (8/9).

Page Clive P, Curtis Michael J, Sutter Morly C. (1999). Pharmacologie intégrée. p 491.

Patbio.J ,2004 . Pathologie piologique p- 300, 304

Philippon. A ,2001.coure de biologie général préparé par le professeur A.Philippon (faculté de médecine COCHIN-Port-Royal-université parisV)

Poisson J. (1992). Glycoaminosides. In Traite de chimie thérapeutique volume 2 : Médicaments antibiotiques. Edition Tec et Doc. Lavoisier.

Perronne Christain. (1999). Maladies infectieuses, volume 1. pp65

Perry.J, Staley.J et lory.s, 2002. Microbiologie. Édition par Sinauer Associates .États-Unis. P 160,163, 164,165

Prescott, Harley et Klein, 2007 .Microbiologie .2e édition française. P 806, 807,813, 819

Rigal L ; 20112 miel et gelée royale : utilisations thérapeutiques dans le domaine cutané et applications en cosmétologie. université de limoges faculté de pharmacie, thèse de docteur en pharmacie

RochambeauIngénieur agronomeR.G. Thébault Ingénieur INRA .1996 Elevage et pathologie (nouvelle version révratiisée)

Sampath Kumar, K.P, Debjit B howmik,Chiranjib Biswajit and Chandira

M.R.2010. Medicinal uses and health benefits of Honey: An Overview. J. Chem.

Pharm.Res, 2(1): 385-395.

Schiere C.J. Corstiaensen, 2008 L'élevage familial de lapins dans les zones tropicales

Schweitzer P, 2001a. La couleur du miel .Revue l'abeille de France N°872 .laboratoire d'analyse et d'éc

Stephen R et Palumbi, 2001 : francoise v et pharm S et paul T et Méd ; 2007 : pharmacologie et pharmacothérapie Anti-infectieuse p 17

Talbert.M, Willoquet.G et Gervais.R ,2009. Pharmaco clinique, Wolters Kluwer

France. P 641, 648,655

Tomczak C, 2010. Utilisation du miel dans le traitement des plaies.85 p. Thèse de

doctorat : Vétérinaire. Lyon : Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon : 2010

White J., 1981. Natural honey toxicants. Bee Word. 62. pp: 23-28.

White, J.W., Subers, M.H. and Schepartz, A.I. 1963. The identification of inhibine the antibacterial factor in honey, as hydrogen peroxide and its origin in a honey glucose-oxidase system. Biochem. Biophys. Acta 73: 57-79.

White. J. w. Jr, (1962) : « Composition of American honeys ». Tech. Bull. U.S. Dep. Agric. pp 124

White J W., Subers M. H., Shepartz A, 1962. I.The identification of inhibine.Am. Bee Journ, 1962, 102 : 430-431.

Wolff M, Joly-Guillou ML, Pajot O. (2009). Les carbapénèmes. Comparative review of carbapenemes. Reanimation 18: S199-S208

Yala D, Merad A-S, Mohameddi D, Ouar Korich M-N. (2001). Classification et mode d'action des antibiotiques. Ed Médecine du Maghreb.

Zineb Maameri –Habibatni ;(2014)Thèse En vue de l'obtention du diplôme de Doctorat en Sciences Pistacia lentiscus L.: Evaluation pharmaco- toxicologique

Tableau : Relation entre la teneur en eau et l'indice de réfraction du miel table de CHATAWAY. (Commission internationale du miel, 2002).

Indice de réfraction (20°C)	Teneur en eau (%)	Indice de réfraction (20°C)	Teneur en eau (%)	Indice de réfraction (20°C)	Teneur en eau (%)
1.5044	13.0	1.4935	17.2	1.4835	21.2
1.5038	13.2	1.4930	17.4	1.4830	21.4
1.5033	13.4	1.4925	17.6	1.4825	21.6
1.5028	13.6	1.4920	17.8	1.4820	21.8
1.5023	13.8	1.4915	18.0	1.4815	22.0
1.5018	14.0	1.4910	18.2	1.4810	22.2
1.5012	14.2	1.4905	18,4	1.4805	22.4
1.5007	14.4	1.4900	18.6	1.4800	22.6
1.5002	14.6	1.4895	18.8	1,4795	22.8
1.4997	14.8	1.4890	19.0	1.4790	23.0
1.4992	15.0	1.4885	19.2	1.4785	23.2
1.4987	15,2	1.4880	19.4	1.4780	23.4
1.4982	15.4	1.4875	19.6	1.4775	23.6
1.4976	15.6	1.4870	19.8	1.4770	23.8
1.4971	15.8	1.4865	20.0	1.4765	24.0
1.4966	16.0	1.4860	20.2	1.4760	24.2
1.4961	16.2	1.4855	20.4	1.4755	24.4
1.4956	16.4	1.4850	20.6	1.4750	24.6
1.4951	16.6	1.4845	20.8	1.4745	24.8
1.4946	16.8	1.4840	21.0	1.4740	25.0
1.4940	17.0				

1-Mesuré conductimètre : -Préparation la solution de chlorure de potassium, 0,1 M.

Dissoudre 7,4557 g de chlorure de potassium (KCl), séché à 130 ° C , fraîchement distillé dans l'eau dans un ballon de 1000 ml et compléter au volume avec de l'eau distillée . Préparer une solution fraîche sur le jour de l'utilisation.



Cellule de conductimètre

2- Milieu Bouillon nutritif (BN) (PH = 7,2)

Peptone	10g
Extrait de levure	5g
NaCl	5g
Eau distillée	1000ml

3-Eau physiologique

Chlorure de sodium	9g
Eau distillée	1000ml

4-Milieu Muller-Hinton (PH = 7.4)

Infusion de viande	2g
Hydrolyse de caséine	17.5g
Amidon	1.5g
Agar	17g
Eau distillée	1000ml

5- Les photos :



Pesé la creusé dans (mesure de cendre)



Le résultat (mesure de cendre)



Pesé le pycnomètre (mesure de cendre)



La plante de f r le



Les lapins expérimentaux

DUPHAPEN :

-DÉNOMINATION DU MÉDICAMENT VÉTÉRINAIRE : Duphapen®

-LISTE DE LA (DES) SUBSTANCE(S) ACTIVE(S) ET AUTRE(S) INGRÉDIENT(S) :

Benzylpénicilline procaine : 300 mg par ml

-INDICATION(S) :

Traitement des infections causées par des micro-organismes sensibles à la benzylpénicilline.

Compte tenu de la capacité de l'antibiotique, selon ses caractéristiques pharmacocinétiques, à atteindre l'endroit infecté en concentration efficace.

- POSOLOGIE POUR CHAQUE ESPÈCE, VOIE(S) ET MODE D'ADMINISTRATION Dose :

.La dose est de 10 mg de benzylpénicilline procaine/kg de poids corporel (= 1 ml / 30 kg de poids corporel), 1 fois par jour.

.Mode et voie d'administration : administration intramusculaire.

-CONSEILS POUR UNE ADMINISTRATION CORRECTE

.Pour éviter un sous-dosage et pour s'assurer d'un dosage correct, il est nécessaire de déterminer le poids corporel de l'animal, de la manière la plus précise.

.Bien agité avant l'emploi.

- CONDITIONS PARTICULIÈRES DE CONSERVATION :

.Tenir hors de la portée et de la vue des enfants.

.À conserver à une température ne dépassant pas 25 °C.

.Durée de conservation après première ouverture du conditionnement primaire :

utiliser immédiatement

