

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE AKLI MOHAND OULHADJ – BOUIRA
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET DES SCIENCES DE LA TERRE
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



Réf :/UAMOB/F.SNV.ST/DEP.BIO/2020

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES
EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME MASTER

Domaine : SNV Filière : Sciences Biologiques
Spécialité : Biochimie Appliquée

Présenté par :

Mlle. LIMAM Katia & Mlle. MEZRARI Keltoum

Thème

**Évaluation de l'activité cicatrisante d'une formule à base
de l'huile de *Nigella sativa L* et de miel sur des brûlures
expérimentales chez le rat.**

Soutenu le : 23 / 09 / 2020 à 09 h

Devant le jury composé de :

Nom et Prénom

Grade

M. REMINI Hocine

MCB.

Univ. de Bouira

Président

M. MAHDJOUR Mohamed Malik

MCB.

Univ. de Bouira

Examineur

M. KADRI Nabil

MCA.

Univ. de Bouira

Promoteur

Mme. BELKADI Asma

Docteur

CRD Saida-Alger

Co-promoteur

Année Universitaire : 2019/2020

Remerciements

Nous commençons par remercier ALLAH le tout puissant de nous avoir donné la volonté, l'amour du savoir et surtout le courage et la patience pour effectuer ce modeste travail.

Nous exprimons notre profonde gratitude à notre promoteur le Docteur KADRI Nabil, pour avoir accepté l'encadrement de ce projet de fin d'étude, nous remercions vivement, sa patience, son encouragement et son soutien.

Nos remerciements les plus cordiaux et toutes nos pensées de gratitude à notre Co-promotrice M^{me} BELKADI Asma qui a codirigé notre projet avec plein de générosité pendant toute la période du stage.

Comme nous sommes très reconnaissantes à Mr DAHMANE MOUSSA et M^{me} OUARAQ Salima et M^{me} AKKACHE Lynda pour leur aide dans la réalisation de notre travail.

Nous remercions également l'ensemble des membres du jury, qui nous ont fait l'honneur de bien vouloir étudier avec attention notre travail : M.REMINI Hocine et MAHDJOUR Mohamed Malik.

Nous remercions vivement toute l'équipe pédagogique de l'université de BOUIRA.

Enfin nos remerciements s'adressent plus particulièrement à nos familles, amis et toutes personnes qui ont participé de près ou de loin à l'élaboration de ce travail.

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail

A mes très chers parents, qui m'ont toujours poussé et motivé
dans mes études

A mes frères pour leur appui et leur encouragement, ma sœur
et ma grande mère

Les fils de mon frère Ilyas, Halim, Anas et Malek, mes neveux
Zakaria, Ayoub et Islem

C'est un moment de plaisir de dédier cet œuvre, à mes belles-
sœurs.

A mon binôme Katia.

Keltoum.

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à :

A mes chers parents, pour tous leurs sacrifices, leur amour,
leur tendresse, leur soutien et leurs prières tout au long de mes
études,

A mes chères sœurs et chers frères pour leurs encouragements
permanents, et leur soutien moral,

A mes neveux et nièces

A toute ma famille pour leur soutien tout au long de mon
parcours universitaire,

Que ce travail soit l'accomplissement de vos vœux tant
allégués, et le fruit de votre soutien infailible,

Une spéciale dédicace à mon meilleur ami ALI,

A mon binôme Keltoum

Merci d'être toujours là pour moi.

Katia.

Liste des Abréviations

DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazil

TCD8 : Lymphocytes T cytotoxique

TCD4 : Lymphocytes T auxiliaire (T Helper)

NK: Natural killer

MGO:MéthyleGlyoxal

PDGF:Platelet- Derived Growth Factor

PMN:Polymorphonucleaire

TGF-B1, 2 ,3 : Transforming growth factors β

VEGF :Vascularendothelialgrowth factor

u-PA : Activateur de plasminogène de type urokinase

MMP-1 : Métalloprotéinase matricielle

t-PA : Activateur Plasminogène tissulaire

IP : Intra-Péritoneale

SA : Sulfadiazine d'argent

Liste des figures

Figures		pages
1	Anatomie de la peau.	16
2	Phase inflammatoire du processus de cicatrisation.	19
3	Phaseproliférative du processus de cicatrisation.	20
4	Aspect histologique des brûlures superficielles.	21
5	Aspect histologique des brûlures profondes.	22
6	Produits anesthésiants.	24
7	Produits de référence sulfadiazine.	24
8	Mélange de miel et d'huile de <i>Nigella Sativa</i> L.	25
9	Injection de l'Anesthésie.	27
10	Animal anesthésié.	27
11	Induction de la brûlure.	28
12	Aspect de la brûlure immédiatement après induction.	28
13	Application du traitement : Miel et huile de nigelle	28
14	Etapes de calcul des surfaces des plaies	30
15	Référence et mélange au cours de l'expérimentation.	33
16	Évolution des surfaces moyenne des brûlures des trois lots durant la période de l'expérimentation.	36
17	Aspect des brûlures des lots : témoin ; référence et mélange durant l'étude.	37
18	Évolution du pourcentage moyen de contraction des plaies des brûlures chez les trois groupes : témoin, référence et mélange.	39
19	Comparaison des surfaces des plaies dans les groupes	40

Liste des tableaux

Tableaux		pages
I	Classification systématique de <i>NigellaSativa L.</i>	5
II	Composition chimique générale de <i>NigellaSativa L.</i>	5
III	Composition chimique de l'huile fixe de <i>NigellasativaL.</i>	6
IV	Phases de cicatrisation et les cellules impliquées dans la cicatrisation.	17
V	Évolution des surfaces moyennes et des pourcentages et de contraction chez les lots expérimentaux.	35

Sommaire

Sommaire

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction générale1

Chapitre I *Nigella Sativa* L :Description,composition et activités biologiques

I.1 Généralités sur l'espèce (*Nigella Sativa* L)..... 4

I.2 Classification taxonomique de *Nigella Sativa* L..... 4

I.3 Composition chimique des graines de nigelle 5

I.4 Activités biologiques 7

I.4.1 Activité cicatrisante 7

I.4.2 Activité antioxydante 7

I.4.3 Activité antimicrobienne..... 8

I.4.4 Activité sur la réponse immunitaire..... 8

I.4.5 Action anti-inflammatoire et analgésique..... 8

II Miel..... 8

II.1 Composition chimique du miel 9

II.2 Propriétés antibactériennes du miel..... 10

II.2.1 Système peroxyde d'hydrogène..... 10

II.2.2 L'osmolarité..... 10

II.2.3 Facteurs phytochimiques 10

II.2.4 Défensine-1..... 11

II.2.5 Méthylglyoxal..... 11

II.2.6 Activité cicatrisantes du miel 11

II.2.7 Action antalgique..... 11

II.2.8 Action nutritive..... 12

Chapitre II: Phénomène de cicatrisation

ICicatrisation 14

I.1 Introduction 14

Sommaire

I.2 Histologie de la peau.....	14
I.2.1 Épiderme.....	14
I.2.2 Derme.....	15
I.2.3 Hypoderme.....	15
I.3 Cicatrisation des plaies : mécanismes de cicatrisation.....	16
I.3.1 Phase d'hémostase.....	17
I.3.2 Phase de l'inflammation.....	18
I.3.3 Phase de la prolifération ou de granulation.....	19
I.3.4 Phase de la maturation.....	20
II Brûlures.....	21
II.1 Types des brûlures.....	21

Matériels et méthodes

I Matériel.....	24
I.1 Matériel végétal.....	24
I.2 Produits.....	24
I.2.1 Anesthésiants.....	24
I.2.2 Produit de référence : sulfadiazine argentique 1%.....	24
I.2.3 Autres produits:.....	25
I.3 Matériel animal.....	25
II Méthodes.....	25
II.1 Préparation des onguents.....	25
II.2 Réalisation des brûlures expérimentales.....	25
II.2.1 Répartition des lots.....	26
II.2.2 Induction des brûlures.....	26
II.2.3 Anesthésie.....	26
II.3 Application du Traitement.....	28
II.4 Observation et évaluation macroscopique.....	29
II.5 Évaluation de la cicatrisation.....	29
II.6 Analyse statistique.....	30

Sommaire

IÉvolution pondérale	32
IIÉvolution du processus de cicatrisation des plaies.....	33
III Pourcentage de contraction des plaies.....	38
IV Comparaison de l'effet cicatrisant de mélange miel-huile de <i>N.Sativa</i> vs sulfadiazine argentique.....	39
Conclusion	42

Référence bibliographique

Annexes

Introduction générale

Introduction générale

Les brûlures de la peau et leurs complications constituent un véritable problème de santé publique, elles sont considérées comme des causes fréquentes de mortalité. Selon les estimations de l'OMS, 500 000 personnes se brûlent chaque année parmi lesquelles 10 000 sont hospitalisées(**Pasquereau & Thélot, 2015**).

Lorsque la peau perd son intégrité suite à une brûlure elle tente de régénérer afin de continuer à protéger l'organisme, cette régénération se fait par la cicatrisation.

La cicatrisation est un processus biologique permettant la restauration de l'intégrité de la peau après une lésion en suivant plusieurs étapes dépendantes les unes des autres. Il s'agit d'un processus multifactoriel qui met en jeu plusieurs mécanismes, tels que la coagulation, l'inflammation, l'angiogenèse, la contraction et le remodelage (**Bagheri, 2018**).

Les méthodes de prise en charge ont beaucoup évolué durant ces dernières décennies, ce qui a permis de diminuer le taux de mortalité, l'utilisation des produits conventionnels pour la guérison des brûlures est souvent limité à cause de leur efficacité variable, leurs effets indésirables, leur indisponibilité et leur coût élevé notamment dans les pays en voie de développement. La solution face à tous ces inconvénients est le recours aux produits à base d'ingrédients naturels; ces produits sont utilisées depuis la nuit des temps pour se soigner contre de nombreuses pathologies en médecines traditionnelles car elles sont considérées comme sûres par rapport aux médicaments, et présentent des avantages très intéressants du point de vue disponibilité, innocuité et avec un faible coût(**Jayakumar, 2015**)Récemment, l'intérêt s'est considérablement accru pour trouver des substances naturelles substitutives pour remplacer les molécules synthétiques (**Djeridane et al., 2006**).

Les produits de la ruche font partie des produits les plus appréciés en médecine traditionnelle pour le traitement des plaies. En effet des pansements au miel sont utilisés pour une bonne cicatrisation des blessures (**Samarghandian, Farkhondeh et Samini, 2017**).

Parmi les plantes ayant un grand potentiel thérapeutique dans ce domaine, figure la *Nigella sativa* L communément appelé cumin noire qui appartient à la famille Renonculacées, cultivée et distribuée dans diverses parties du monde, en particulier en Asie, au Moyen-Orient, à l'Extrême-Orient et à l'Est de la Méditerranée. Les graines de *N.Sativa* possèdent plusieurs propriétés pharmacologiques, telle qu'une activité antibactérienne, antiparasitaire et anti-inflammatoire, antioxydante, et antifongique(**Asdadi et al., 2014**).

Introduction générale

Toutes ces vertus sont attribuées aux composés actifs dont : lathymoquinone, thymohydroquinone, dithymoquinone, thymol, carvacrol, nigellicine, nigellimine-N-oxyde, nigellidine et alpha-hédrine(Randhawa& Al-Ghamdi, 2002).

Ce travail s'inscrit dans le cadre de la valorisation de *Nigella Sativa* d'intérêt thérapeutique, dont le but :

- ✓ Valoriser le potentiel thérapeutique de *Nigella Sativa L* et miel destinée pour le traitement des brûlures.
- ✓ Évaluer l'efficacité du mélange de miel pur et de l'huile de *Nigella sativa L* dans un modèle expérimentale de cicatrisation d'une brûlure thermique du deuxième degré profond chez le rat.

Le présent mémoire s'articulera en trois grandes parties

- La première partie est une synthèse bibliographique consacrée à la description botanique de l'espèce et ces propriétés biologiques, des données relatives au miel et ses potentiels thérapeutiques au thème des brûlures cutanées, avec des rappels sur l'histologie et la physiologie de la peau, ainsi que les mécanismes fondamentaux de sa cicatrisation.
- La deuxième partie de ce travail est consacrée à notre étude expérimentale développée en deux chapitres distincts. Le premier chapitre est une étude expérimentale, où nous avons évalué l'effet cicatrisant du mélange de l'huile fixe de *Nigella sativa* et de miel pur pour le traitement des brûlures expérimentales chez le rat. Cet effet cicatrisant est comparé à celui de la sulfadiazine d'argent, le traitement topique conventionnel lors des brûlures. L'évaluation de l'effet cicatrisant des produits utilisés a été faite par une étude clinique planimétrique.

À l'issue de notre étude une conclusion générale synthétise l'ensemble des résultats obtenus et évoque les limites et les perspectives de notre travail.

Chapitre I

***Nigella sativa L* : Description, composition et activités
biologiques.**

Chapitre I *Nigella sativa* L: Description, composition et activités biologiques.

I.1 Généralités sur l'espèce(*Nigella sativa* L)

Les plantes sont utilisées depuis longtemps par diverses civilisations partout dans le monde pour des fins thérapeutiques. *Nigella sativa* a l'histoire la plus riche et la plus mystique de toutes les plantes utilisées en médecine. Elle a été utilisée comme conservateur alimentaire et pour rehausser la saveur depuis des milliers d'années et a également été utilisée comme épice, les graines et l'huile sont consommées pour le traitement de nombreuses maladies (Ermumcu&Şanlier, 2017).

Il a été rapporté dans la littérature islamique, que *Nigella sativa* L est parmi les plantes les plus recommandée dans Tibb-e-Nabwi, tel que le prophète décrit cette plante: «La graine noire est un remède pour toutes les maladies et les maux sauf la mort»). Actuellement de nombreuses recherches scientifiques ont confirmé l'authenticité de ce hadith, et ont finalement conclu que la déclaration du prophète était totalement vraie (Deena& Hussain, 2018).

Les graines de *Nigella sativa* L (famille des renonculacées) sont communément appelées graines noires ou cumin noir. Le terme *Nigella* vient de nigellus : noirâtre par rapport à la couleur noir des graines, dérivé de Niger qui signifie noir. Le nom d'espèce *Sativa* vient du latin qui signifie « cultivé » (Ait Mbarek et al., 2007).

- **Nom arabe** : Sanouj, Habbat el baraka, El habba souda
- **Nom français** : Nigelle, cumin noir
- **Nom kabyle** : Tikammin
- **Nom anglais** : Black seed.

I.2 Classification taxonomique de *Nigella sativa* L

La nigelle fait partie de l'embranchement des Spermaphytes. La famille des Renonculacées. C'est l'une des grandes familles des angiospermes avec 40 à 50 genres et 1500 à 2000 espèces. Le genre *Nigella* recouvre plusieurs espèces. Les plus connues sont *Nigella sativa* (Nigelle cultivée), *Nigella arvensis* (Nigelle des champs), *Nigella damascena* (Nigelle de Damas) et *Nigella orientalis* (Nigelle orientale) (Abdesselam, 2015).

Chapitre I *Nigella sativa* L: Description, composition et activités biologiques.

Tableau I. Classification systématique de *Nigella sativa* L(Spichiger, Figeat-Hug, &Jeanmonod, 2002).

Taxonomie	Description
Embranchement	Spermaphyte
Sous Embranchement	Angiosperme
Classe	Eudicotylédone
Ordre	Ranunculales
Famille	Ranunculaceae
Genre	<i>Nigella</i>
Espèce	<i>Nigella sativa</i>

I.3 Composition chimique des graines de nigelle

La graine de nigelle se compose de deux types d'huiles, une huile fixe et une huile essentielle. Elle renferme également des protéines, des alcaloïdes et des saponines (α -hédérine) (Tableau II)(Eid et al., 2017).

La majeure partie de l'activité biologique de *Nigella sativa* est attribuée à la thymoquinone qui est la composante principale de l'huile essentielle, mais également présent dans l'huile fixe(Ghedira, 2006).

L'huile essentielle, est essentiellement composée de monoterpènes (thymoquinone, p-cymène, carvacrol, terpinéol, etc. (Hammiche, 2014).La composition varie en fonction de son origine, du moment de la récolte et des méthodes de culture(Al-Quorain et al., 2015).

Chapitre I *Nigella sativa* L: Description, composition et activités biologiques.

Tableau II. Composition chimique générale de *Nigella sativa*L (Ghedira, 2006; Nergiz&Ötles, 1993).

Constituants	Quantité en %
Eau	6
Protéines	16-21
Lipides	30-35
Glucides	33-37
fibres	6,6
minéraux	3,7-7
Alcaloïdes	0,01
Saponines	0,013

Les graines de nigelle contiennent 36% à 38% d'huiles fixes, constituée principalement d'esters du glycérol (Ghedira, 2006) et d'acides gras insaturés, y compris le C20:2 inhabituel, acides arachidique et eicosadiénoïque, l'acide linoléique, l'acide oléique et l'acide palmitique sont les plus abondants (Ali & Blunden, 2003).

Tableau III. Composition chimique de l'huile fixe de *Nigella sativa* (g/100 g d'AG total) (Ghedira & Le Jeune, 2010; Nergiz&Ötles, 1993).

Acide gras	Teneur moyenne (gr/100gr)
Myristique	0,35–0,41
Palmitique	17,2–18,4
Palmitoléique	0,78–1,15
Stéarique	2,84–3,69
Oléique	23,7–25
Linoléique	49–50,31
Linoléinique	0,32–0,34
Arachidique	0,14–0,22
Eicosanoïque	0.32-0.34
Béhénique	1,98–2,60

I.4 Activités biologiques

Le cumin noir, est utilisé en médecine populaire dans le monde entier pour le traitement et la prévention d'un certain nombre de maladies comme l'asthme, la diarrhée et la dyslipidémie (Ali & Blunden, 2003). La plupart des propriétés pharmacologiques sont attribuées à l'huile essentielle et à son composé majoritaire, la thymoquinone (Hamliche, 2014).

Les propriétés pharmacologiques des extraits bruts de graines incluent une protection contre la néphrotoxicité et l'hépatotoxicité. En outre l'extrait des graines possède des propriétés anti-inflammatoires, analgésiques, antipyrétiques, hypocholestéremiantes, antimicrobiennes, et antinéoplasiques (Ali & Blunden, 2003), immunostimulantes, hypoglycémiantes, antiulcéreuses, et antiparasitaires (Ghedira, 2006).

I.4.1 Activité cicatrisante

La thymoquinone permet la prévention des lésions oxydatives, en agissant comme antioxydant, et empêcher de ce fait la peroxydation des lipides membranaires des tissus ; et tous ces effets ont un rôle très important pour accélérer la cicatrisation des plaies (Yaman et al. 2010).

Les résultats de plusieurs études scientifiques sur *Nigella sativa* L ont montré qu'il améliore le processus de cicatrisation par mécanisme inconnu par rapport à la sulfadiazine d'argent, qui peut être due aux effets anti-inflammatoires et immunomodulateurs. Il a été constaté que l'huile de nigelle stimule la formation de collagène et l'augmentation du taux d'épithélialisation et accélérer ainsi, la cicatrisation des plaies (Sarkhail et al., 2011).

Une étude récente sur l'effet cicatrisant du miel et de l'huile de *Nigella Sativa* pressée à froid, d'une solution composée à 50% de miel et à 50% d'huile de nigelle montre un meilleur résultat et la cicatrisation des plaies est améliorée et accélérée en utilisant le mélange de miel et de l'huile de nigelle. (Javadi et al., 2018; Yaman et al., 2010)

I.4.2 Activité antioxydante

Plusieurs études ont montrées la forte activité antioxydante des extraits de nigelle, qui est attribuées à la présence de plusieurs acides phénoliques et flavonoïdes (Burits & Bucar, 2000).

L'huile fixe et ses fractions (lipides neutres, glycolipides et phospholipide) ont montré une activité antioxydante vis-à-vis des deux radicaux libres stables (DPPH et le radical glavinoxyl). Cette activité antioxydante est corrélée avec la teneur en acides gras polyinsaturés, en composés insaponifiables et en phospholipides, de même que la valeur

Chapitre I *Nigella sativa* L: Description, composition et activités biologiques.

peroxyde initiale de l'huile (**Ghedira, 2010**). La thymoquinone, le carvacrol, le t-anéthole et le 4-terpinéol exercent un important effet piègeur de radicaux libres (**Ali & Blunden, 2003**)

I.4.3 Activité antimicrobienne

De nombreuses études *in vitro* ont montré que les graines de *N. sativa* présentent une activité antimicrobienne contre plusieurs souches bactériennes (**Aljabre, Alakloby, & Randhawa, 2015**).

L'huile de *N. sativa* possède également un effet antiviral vis-à-vis du virus de l'herpès : cytomégalovirus murin. L'huile fixe présente aussi une excellente activité antifongique, notamment à l'égard d'*Aspergillus Niger*. (**Özmen, Basbülbül, & Aydın, 2007**)

I.4.4 Activité sur la réponse immunitaire

Il a été démontré que l'administration de *N. sativa* a entraîné, après cinq semaines de traitement, une augmentation des lymphocytes T helper (CD4) et a contribué à l'amélioration du rapport cellules T helper/cellules T suppresseurs (CD4/CD8), tout en augmentant 30% l'activité des cellules tueuses NK. Par ailleurs, elle stimule la réponse lymphocytaire et la production des interleukine-3 (**Ghedira & Le Jeune, 2010**).

Elle favorise aussi la libération des interleukines-1 β , cela entraîne une stimulation de l'activité phagocytaire des leucocytes polynucléaires et macrophages (**Ali & Blunden, 2003**).

I.4.5 Action anti-inflammatoire et analgésique

L'huile fixe issue des graines est responsable d'une importante activité analgésique due à la présence d'un principe opioïde présent dans l'huile fixe, cette action ayant été antagonisée par la naxolone, la thymoquinone s'est avérée être un puissant inhibiteur du thromboxane B2 et des leucotriènes B4 par inhibition respective des cyclo-oxygénase et lipo-oxygénase (**El-Dakhkhny et al., 2002**) et plus précisément l'interleukine 1 et 6, et également la transcription du facteur nucléaire KB (**Shuid et al., 2012**).

II Miel

Le miel est un produit naturel thérapeutique très précieux. Son utilisation dans la cicatrisation des plaies et des brûlures est largement répandue à travers le monde, comme étant non seulement un produit nutritif, mais aussi un produit favorisant la cicatrisation des plaies ou des destructions tissulaires. Principalement du fait de son rôle antibactérien résultant du peroxyde d'hydrogène (**Descottes, 2009**).

Ses vertus thérapeutiques sont reconnues depuis la nuit des temps en Inde, en Chine ou en Egypte. Toutes les civilisations font mention du miel tant dans l'art culinaire que dans la pharmacopée, en soulignant ces propriétés cicatrisantes (**Salomon et al., 2010**).

II.1 Composition chimique du miel

La composition du miel est variable et dépend de l'origine botanique des plantes butinées ou des miellats ingérés par les abeilles. Les glucides sont les principaux constituants et représentent environ 95% de la matière sèche du miel. Le miel contient également de nombreux autres composants tels que: protéines, enzymes, acides aminés, vitamines, minéraux, polyphénols(**Bonté & Desmoulière, 2013**).

Le miel est un produit acide dont le pH est compris entre 3,2 et 5,5. Cette acidité provient de la dégradation du glucose en acide gluconique. Le glucose se dégrade plus facilement lorsque la chaleur augmente, c'est pour cela, qu'il faut stocker le miel à une température plutôt fraîche(**Balas, 2015**).

Les sucres contenus dans le miel proviennent du nectar des fleurs, les taux de sucres totaux varient entre 75 et 80 % dans les miels. On retrouve dans le miel les mono-saccharidiques (le glucose, fructose ou lévulose), qui sont majoritaires par rapport aux di-saccharidiques (maltose et le saccharose).Le miel contient entre 14 et 25 % d'eau, Cette eau conditionne la qualité et la conservation de celui-ci(**Blanc, 2010**).Ils contiennent également de nombreux acides, environ une vingtaine : acide acétique, acide citrique, acide lactique, acide malique, acide oxalique, acide butyrique, acide succinique(**Adjlane et al., 2014**).

Les oligo-éléments les plus abondants dans tous les types de miels sont le potassium et le calcium. On trouve aussi des traces d'autres oligo-éléments tels que le fer, le magnésium, le phosphore, le potassium le silicium, le sodium(**Bonté & Desmoulière, 2013**).

La teneur en protéine est de 0,26%, tels que des albumines, des globulines, certains acides aminés, On retrouve aussi dans le miel certaines enzymes comme les alpha- et bêta-amylases, la gluco-invertase et l'alpha-glucosidase, la gluco-oxydase.

L'hydroxy-méthyl-furfural ou HMF provient de la déshydratation des hexoses. Ce dernier va être dégradé en HMF et le fructose (**Kerbastard, 2020**).

Le miel contient un nombre important de vitamines tels que la vitamine K, B1, B2, B3, B5, B6, C et la biotine(**Balas, 2015**).

En outre, le miel est une bonne source des caroténoïdes et des flavonoïdes qui sont responsables de la coloration du miel. Les flavonoïdes, qui appartiennent aux groupes des polyphénols, possèdent des propriétés anti-oxydantes très intéressantes, responsables de la neutralisation des radicaux libres. La pinocembrine, la pinobanskine, la chryisine, la galangine, la quercétine, la lutéoline et le kaempférol sont les plus abondants(**Bonté & Desmoulière, 2013**).

II.2 Propriétés antibactériennes du miel

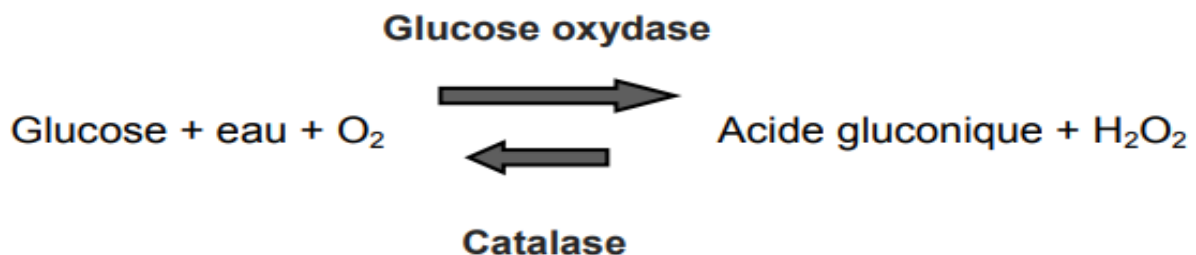
L'activité antibactérienne est le résultat d'un grand nombre d'éléments :

II.2.1 Système peroxyde d'hydrogène

La principale "inhibine" que contient le miel est le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) encore appelé eau oxygénée. Il s'agit d'un très bon antiseptique, produit par réaction enzymatique. C'est la glucose-oxydase sécrétée par les glandes hypopharyngiennes de l'abeille lors de la transformation du nectar en miel qui permet cette réaction. La production d'eau oxygénée et d'acide gluconique résulte de l'oxydation de l'eau et du glucose(Descottes, 2009).

L'eau oxygénée produite a donc une origine végétale grâce au glucose provenant du nectar des plantes, mais sa formation mis en jeu une enzyme d'origine animale, la glucose-oxydase, qui est sécrétée par l'abeille. L'acide gluconique formé augmente l'acidité du miel et le rend ainsi peu favorable au développement de colonies bactériennes (Ghedira, 2006).

La réaction enzymatique est la suivante :



II.2.2 L'osmolarité

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. 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(Goetz, 2009).

II.2.3 Facteurs phytochimiques

Parmi les facteurs phytochimiques, se retrouvent les huiles essentielles des nectars de fleurs dont le pouvoir antibactérien est déjà connu, comme le thymol du thym ou la pinocembrine, flavonoïde identifié récemment dans une douzaine de miels (Bonté & Desmoulière, 2013).

II.2.4 Défensine-1

La défensine-1 est une protéine fabriquée par les glandes hypopharyngiennes et mandibulaires des abeilles. Elle est retrouvée dans le miel et la gelée royale. Chez l'homme, les défensines constituent une famille de peptides antimicrobiens naturels largement impliqués dans l'immunité innée. Ce sont des petits peptides, de masse moléculaire variant de 3,5 à 6 kDa, qui possèdent un large spectre d'activité antimicrobienne. Il a été montré récemment que la grande majorité des propriétés antibactériennes du miel provient de cette protéine (Couquet, Desmoulière, & Rigal, 2013).

II.2.5 Méthylglyoxal

Le méthylglyoxal (MGO) est un antibactérien naturel qu'on retrouve en particulier dans le miel de Manuka (arbuste originaire d'Australie). Il est très actif sur plusieurs bactéries (Couquet, Desmoulière, & Rigal, 2013).

II.2.6 Activité cicatrisantes du miel

L'eau oxygénée, outre ses propriétés antiseptiques, il joue un rôle très important dans les processus de cicatrisation. En effet, au contact des tissus et du sang, elle se décompose en eau et en oxygène créant ainsi une "microeffervescence" qui est un nettoyage mécanique de la plaie. En fait, ce peroxyde d'hydrogène apparaît comme un véritable stimulus de la multiplication cellulaire ainsi que de la réponse inflammatoire normale de la cicatrisation. Il stimule la croissance des fibroblastes et des cellules épithéliales qui vont participer à la réparation tissulaire, il stimule également le développement d'une néovascularisation dans le tissu cicatriciel (Goetz, 2009).

Le miel induit également la synthèse de collagène en activant vraisemblablement le Transforming Growth Factor- β 1 qui présente un puissant pouvoir réparateur et favorise la formation du tissu de granulation en augmentant sa contraction (Couquet, Desmoulière, & Rigal, 2013).

II.2.7 Action antalgique

Le miel exerce une action analgésique, il réduit la douleur en diminuant respectivement le volume des exsudats, ainsi que la libération de prostaglandines, par excitation des terminaisons nerveuses (Koechler, 2015).

II.2.8 Action nutritive

Le miel dispose d'une large gamme de composés (sucres, de vitamines, d'acides aminés et d'oligoéléments). Ces divers composés vont jouer un rôle nutritif essentiel dans la cicatrisation en favorisant notamment la réparation cellulaire (**Bonté & Desmoulière, 2013**).

Les sucres améliorent la nutrition des cellules réparatrices de la plaie avec augmentation du métabolisme des lymphocytes, des polynucléaires neutrophiles, des monocytes et des macrophages. Quant aux vitamines du groupe B, elles favorisent la régénération cellulaire et offre une parfaite hydratation de la peau (**Koechler, 2015**).

Chapitre II

Cicatrisation des brûlures

I Cicatrisation

I.1 Introduction

La cicatrisation, est un phénomène physiologique qui permet la restauration de l'intégrité de la peau après une lésion, en suivant plusieurs étapes dépendantes les unes des autres(Franz, 2007).

Les principaux facteurs de ce processus sont : l'hémostase, l'inflammation, la prolifération cellulaire et le remodelage. Le temps de cicatrisation dépend de plusieurs facteurs intrinsèques comme la profondeur de la plaie, et des facteurs extrinsèques comme l'âge, l'état nutritionnel, infection associée, l'alitement et les comorbidités (Bagheri, 2018).

Un retard de cicatrisation peut survenir en cas de défaillance d'une ou plusieurs étapes de ce processus qui peut être d'origine métabolique, cardiovasculaire, infectieuse ou immunitaire ,et ralentir de ce fait la cicatrisation de la plaie (Bagheri, 2018).Les plaies représentent un problème clinique lorsque la prise en charge est mal codifiée et ceci peut évoluer vers une infection sévère et une anomalie de cicatrisation(Boucher et al., 2017).

I.2 Histologie de la peau

La peau est le plus grand organe du corps,anatomiquement, la peau est constituée de deux parties principales :

- ✚ La partie superficielle externe qui constitue l'épiderme ;
- ✚ La partie interne plus épaisse constituant le derme et l'hypoderme qui sont soutenues par des structures sous-jacentes(Dréno, 2009).

I.2.1 Épiderme

L'épiderme mesure, suivant les zones de l'organisme, de 1 à 4 millimètres. Il est le plus fin au niveau des paupières où il mesure environ 0,1 millimètre, il est plus épais au niveau des paumes et plantes de pieds où là, il peut atteindre 1 millimètre (Dréno, 2009).

L'épiderme est constitué de cellules épidermiques, également appelées cellules épithéliales (figure1), il ne renferme pas de vaisseaux sanguins et obtient son oxygène et ses nutriments des couches profondes de la peau par diffusion des capillaires sanguins s'étendant jusqu'aux couches supérieures du derme(Meziou, 2013).

L'épiderme est composé de plusieurs couches :

- ✚ **La couche cornée ou Stratum corneum** qui est la partie la plus externe. Elle se compose d'un épithélium kératinisé squameux stratifié. Les cellules de cette couche migrent vers le haut et sont éliminées de la surface cutanée chaque 14 jour(**Meziou, 2013**).
- ✚ **La couche claire ou transparente** (Stratum lucidum) est la couche la plus interne de la strate cornéenne et se trouve sur les paumes des mains et les plantes des pieds(**Telofski et al., 2012**).
- ✚ **La couche granuleuse** appelée Stratum granulosum, les cellules squameuses sont en transition pour devenir le stratum corneum et ont perdu leurs composantes cellulaires internes y compris les noyaux(**Meziou, 2013**).
- ✚ **La couche épineuse ou de Malpighi** (Stratum spinosum) contient les cellules de Langerhans, dérivées de la moelle osseuse et ont une fonction immunitaire(**Dréno, 2009**).
- ✚ **La couche basale** (Stratum germinativum) contient des kératinocytes, des mélanocytes et des cellules de Merkel (**Meziou, 2013**).

I.2.2 Derme

IL est constitué de cellules fixes qui sont les fibroblastes et de cellules mobiles qui sont les cellules sanguines. À ces cellules s'associent des fibres de collagène, d'élastine et de réticuline. Cette composition assure la cicatrisation et la fermeture des plaies. À la différence de l'épiderme, le derme contient des vaisseaux qui s'arrêtent à la couche basale de l'épiderme(**Dréno, 2009**).

I.2.3 Hypoderme

C'est la couche la plus profonde de la peau, elle constitue la graisse plus ou moins épaisse selon les individus, elle est contenue dans des lobules séparés les uns des autres par des fibres identiques à celles du derme, ces fibres assurant à la fois la nutrition et la tenue de l'hypoderme. Cette couche hypodermique a essentiellement une fonction de protection du froid par isolation (**Meziou, 2013**).

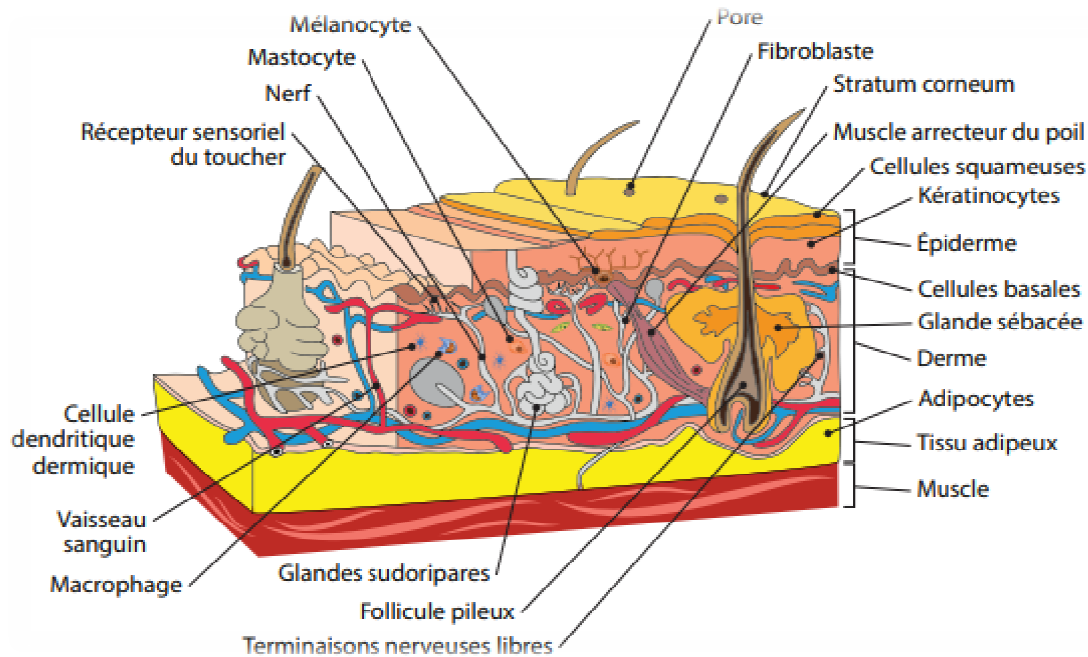


Figure 1. Anatomie de la peau(SEER Training Modules, 2020).

I.3 Cicatrisation des plaies : mécanismes de cicatrisation

Après une agression, la peau perd son intégrité, pour cela elle tente de se régénérer afin de continuer à protéger l'organisme. La recherche sur les plaies a permis de définir quatre processus ou étapes de réparation tissulaire (**Moulin, 2001**):

1. Hémostase
2. Inflammation
3. Prolifération (également appelée granulation et contraction)
4. Remodelage (également connu sous le nom de maturation)

Tableau IV. Phases de cicatrisation et les cellules impliquées dans ce processus (**Bagheri, 2018; Singer & Clark, 1999**).

Phase de cicatrisation	Temps après perte de l'intégrité	Cellules impliquées dans la cicatrisation	Rôles
Hémostases	Immédiat	Plaquettes	Coagulation et sécrétion des facteurs de croissance
Inflammation	Jour 1-4	-Neutrophiles -Macrophages -Monocytes	Phagocytose
Prolifération	Jour4-21	-Macrophages -Péricytes -Lymphocytes -Angiocytes -Neurocytes -Fibroblastes -Kératinocytes -Cellules épithéliales	-Remplissage de la cavité de la plaie -Rétablissement de la fonction de la peau -Fermeture de la plaie
Maturation	Jour 21- 2ans	-Fibrocytes -Fibroblastes	Développement de la résistance à la traction

I.3.1 Phase d'hémostase

L'hémostase survient dans les minutes suivant le traumatisme, les plaquettes agissent immédiatement en colmatant les vaisseaux sanguins endommagés et sécrètent des substances vasoconstrictrices et forment un caillot stable (Figure 2), scellant ainsi le vaisseau endommagé (**Sibbald, 2006**). Les plaquettes s'activent et sécrètent des glycoprotéines adhésives pour leur agrégation. Ils sécrètent également des facteurs qui interagissent et stimulent la cascade de coagulation intrinsèque à travers la production de thrombine, qui à son tour initie la formation de fibrine à partir du fibrinogène. Enfin, les plaquettes sécrètent des facteurs de croissance telle que le facteur de croissance dérivé des plaquettes (PDGF) (**Schreml et al., 2010**).

I.3.2 Phase de l'inflammation

Durant cette phase une vasodilatation aura lieu afin d'augmenter le flux sanguin vers le site lésé (Figure 2). L'inflammation se caractérise par un érythème, un œdème et une chaleur souvent associés à une douleur. Le rôle de cette étape est de nettoyer les débris, ce nettoyage est effectué par les neutrophiles ou les leucocytes polymorphonucléaires. (PMN). Cette réponse inflammatoire a pour but de rendre les vaisseaux sanguins perméables et ces derniers libèrent du plasma et des PMN dans les tissus environnants. Les neutrophiles phagocytent les débris et les micro-organismes (**Couquet, Desmoulière, & Rigal, 2013**).

Ces débris de dégradation attirent les fibroblastes et les cellules épithéliales, qui sont aidées par les mastocytes locaux. La cicatrisation est un processus nécessitant une forte coordination et communication entre les cellules de l'organisme. Ces cellules communiquent entre elles par la sécrétion de diverses cytokines et facteurs de croissance qui se lient aux récepteurs des cellules cibles. Une fois qu'une cytokine se lie à la cible, elle stimule cette cellule à se déplacer. D'autre part, les facteurs de croissance stimulent la cellule cible à se diviser et à synthétiser et libérer des substances telles que le collagène. (**Schreml et al., 2010**).

Les monocytes se différencient en macrophages après leur sortie des vaisseaux sanguins et entrent en contact avec la matrice extracellulaire. Ces macrophages constituent une deuxième ligne de défense en éliminant les bactéries par phagocytose. Ils sécrètent également des enzymes qui se chargent de la dégradation des tissus nécrotiques et des cellules endommagées (**Couquet, Desmoulière, & Rigal, 2013**). Tous ces phénomènes sont illustrés dans la figure 2.

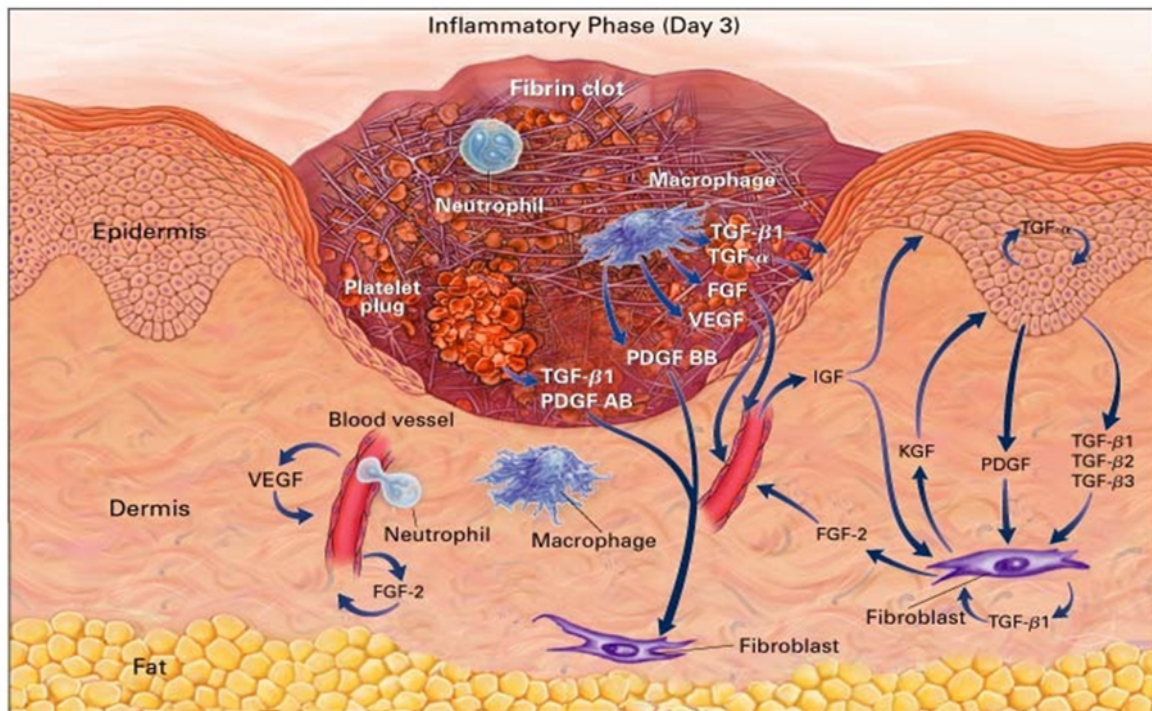


Figure 2.Phase inflammatoire du processus de cicatrisation. (Singer et Clark, 1999)

(TGF- β 1, TGF- β 2 et TGF- β 3, VEGF... ce sont des facteurs de croissance impliqués dans le processus cicatriciel.)

I.3.3 Phase de la prolifération ou de granulation

Le tissu de granulation, également appelé tissu de bourgeonnement. Il est notamment constitué de macrophages, de fibroblastes et de myofibroblastes. Il se développe pour restructurer le derme détruit. Les fibroblastes, provenant des berges de la plaie, acquièrent un phénotype myofibroblastique qui leur permet de se contracter, et conférer de ce fait une forte activité de synthèse de matrice extracellulaire. Grâce à la contraction des myofibroblastes, les berges de la plaie se rapprochent, ce qui contribue à la diminution progressive de la taille de cette dernière. Parallèlement, une importante angiogenèse est notée lors de cette phase (Couquet, Desmoulière, & Rigal, 2013).

Dans l'étape finale de l'épithélialisation, la contraction aura lieu lorsque les kératinocytes se différencient pour former la couche externe protectrice, et la fermeture totale de la plaie (Schreml et al., 2010)

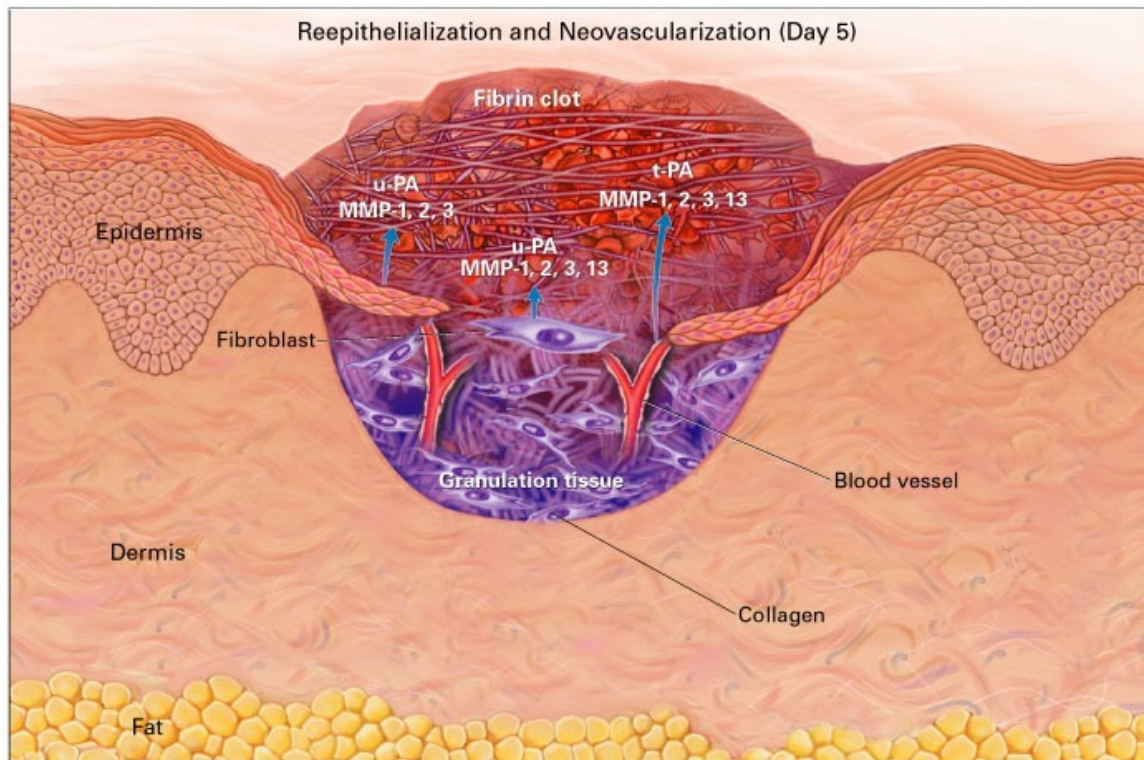


Figure 3. Phase proliférative du processus de cicatrisation. (Singer et Clark, 1999). Les protéinases impliquées dans ce processus. u-PA : Activateur du plasminogène de type urokinase; les métalloprotéinases matricielles : MMP-1, 2, 3 et 13, 1, 2, 3 et 13 (respectivement collagénase 1, gélatinase A, stromélysine 1 et collagénase 3); t-PA : Activateur du plasminogène tissulaire.

I.3.4 Phase de la maturation

Elle est caractérisée par le remodelage de la matrice extracellulaire et la transformation du collagène dans le derme après la réépithélialisation. Elle se poursuit sur plusieurs mois jusqu'à la formation d'une cicatrice plus ou moins fibreuse (Dereure, 2001).

Le collagène de type III est initialement synthétisé par les fibroblastes. Qui sera ensuite remplacé par le collagène de type I. Avec le temps, les fibres se croisent et s'alignent le long des lignes de tension pour augmenter la résistance à la traction de la plaie (Schreml et al., 2010).

Les cellules principalement impliquées dans ce processus sont les fibroblastes. La maturation peut prendre jusqu'à deux ans après la guérison de la plaie (Couquet, Desmoulière, & Rigal, 2013).

II Brûlures

II.1 Types des brûlures

La profondeur de la brûlure est jugée en fonction de l'atteinte totale ou partielle de la membrane basale régénératrice de l'épiderme. Elle est proportionnelle à la température de l'agent causal ainsi que sa durée d'exposition (Wassermann, 2002).

On distingue :

- Les brûlures dites « **superficielles** » concernent le premier et second degré superficiel. Dans les deux cas. Il s'agit d'une lésion qui touche uniquement l'épiderme, sans l'atteinte de la membrane basale et les cellules de Malpighi. (Figure 4)

Ces lésions apparaissent rouges, chaudes et douloureuses. Caractérisées par l'absence de phlyctène. L' cicatrisation peut se réaliser spontanément par ré-épidermisation depuis cette membrane grâce à la prolifération et à la migration des kératinocytes. Les séquelles fonctionnelles sont presque absentes (Wassermann, 2002).

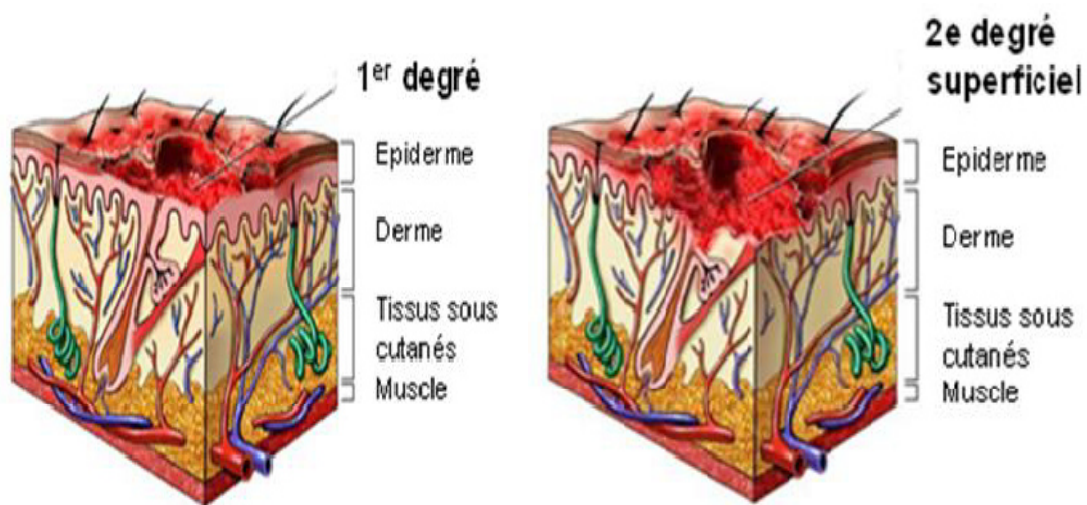


Figure 4. Aspect histologique des brûlures superficielles (Robert, 2011).

- Les brûlures dites « **profondes** » (Figure 5) concernent le second degré profond et le troisième degré. Elles sont caractérisées par une destruction de l'épiderme, dans les brûlures du deuxième degré profond, la lésion détruit non seulement l'épiderme et la membrane basale, mais aussi une épaisseur très importante du derme, ne laissant intacts que le derme profond, les poils, des glandes sudoripares et des glandes sébacées (Moutet, 2015).

Les brûlures du troisième degré, sont caractérisées par l'absence de phlyctène. La peau brûlée reste adhérente, avec une couleur qui va du blanc au noir en passant par le marron. Il s'agit d'une nécrose touchant la totalité de la peau, détruisant l'épiderme et le derme et s'arrêtant, au niveau de l'hypoderme, du muscle ou même des tendons et des os. Aucune cicatrisation ne peut être possible. La guérison ne peut être atteinte que par l'excision de la nécrose suivie d'une greffe (**Wassermann, 2002**)

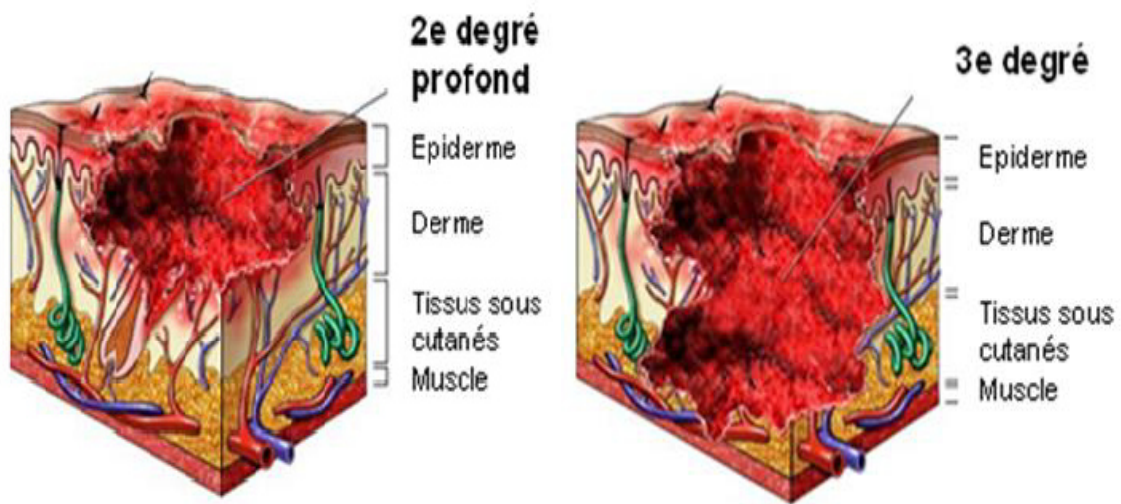


Figure 5. Aspect histologique des brûlures profondes (**Robert, 2011**).

Matériels et méthodes

I Matériel

I.1 Matériel végétal

Cette étude est réalisée sur l'huile de graines de *Nigella sativa* procurée auprès d'un marché local, et un miel provenant du nectar des plantes locales de la région montagneuse de Tizi-Ouzou.

I.2 Produits

I.2.1 Anesthésiants

- Kétamine / acépromazine 75 mg/kg + 2,5 mg/kg en intra-péritonéale (IP).
- Xylocaine à 2%.

I.2.2 Produit de référence : sulfadiazine argentique 1%.

La sulfadiazine est un antibactérien appartenant à la famille des sulfonamides utilisés dans des études expérimentales et cliniques en application topique. La sulfadiazine argentique 1% est administré pour prévenir et traiter les infections d'origine bactérienne ou fongique qui peuvent survenir en cas de brûlure. La sulfadiazine argentique libère peu à peu l'ion d'argent pour exercer son rôle bactéricide et bactériostatique de la sulfonamide libérée (McNulty et al, 2004).



Figure6. Produits anesthésiants à droite : anesthésie locale, à gauche : anesthésie générale. **Figure7.** Produits de référence sulfadiazine 1%.

I.2.3 Autres produits:

Bétadine dermique 10 %, solution pour application locale.

Petit matériel

Trousse de dissection, masselotte, tondeuse, seringues, compresses stérilisées.

I.3 Matériel animal

Des rats albinos de souche Wistar, de poids corporel de 200 ± 20 g, ont servi de modèle expérimental pour la réalisation de brûlures thermiques. Les rats proviennent de l'animalerie CRD (Centre de Recherche et Développement) de SAIDAL à Alger.

Les rats ont été maintenus dans des conditions standard de température (22 ± 1 ° C), d'humidité relative ($55 \pm 10\%$) et de 12 h / 12 h de cycle lumière / obscurité, et nourris avec un régime alimentaire standard en granulés et d'eau ad libitum.

II Méthodes

II.1 Préparation des onguents

Un volume d'huile de graines de *Nigella sativa* L est ajouté progressivement à un volume de miel (mélange d'un rapport 1 :1) jusqu'à homogénéisation totale du mélange. Une pommade à consistance semi-solide a été obtenue, et conditionnée ensuite dans des pots hermétiquement fermés puis conservées à la température ambiante à l'abri du soleil.



Figure 08. Mélange de miel et d'huile de *Nigella sativa*L

II.2 Réalisation des brûlures expérimentales

L'activité cicatrisante a été évaluée dans un modèle de brûlure expérimentale chez le rat.

II.2.1 Répartition des lots

La veille de l'expérimentation, les rats ont été pesés et identifiés au niveau de la queue avec un feutre indélébile puis mis ensuite dans des cages étiquetées et individuelles.

Les animaux ont été répartis en trois lots, chaque lot étant constitué de cinq rats comme suit :

- Lot Témoin (T) : ne reçoit aucun traitement ;
- Lot Référence (Ref) : reçoit des applications quotidiennes de la sulfadiazine argentine 1% ;
- Lot mélange : reçoit des applications quotidiennes de mélange miel- huile de nigelle.

Tous les animaux ont été mis à jeun 8 heures.

Remarque : On ne doit pas priver de nourriture les rongeurs de laboratoire et les lapins avant une anesthésie générale. Si l'expérience l'exige cependant, la durée du jeûne doit alors être aussi courte que possible.

II.2.2 Induction des brûlures

Le protocole expérimental utilisé dans cette étude est conforme aux recommandations d'éthique et bonne pratique celles contenues dans le Guide pour le soin et d'utilisation des animaux et le Manuel des lignes directrice CCP.

L'étude expérimentale a été réalisée selon des méthodes décrites par plusieurs recherches scientifiques «Animal Models in BurnResearch» A. Abdullahi, S. Amini- Nik, and M.G Jeschke avec quelques modifications.

II.2.3 Anesthésie

Les rats ont été anesthésiés par injection intra péritonéale de Kétamine/acépromazine 75 mg/kg+ 2,5 mg/kg(Sene et al., 2020).



Figure 09. Injection de l'Anesthésie. **Figure 10.** Animal anesthésié.

On doit s'assurer que les rats sont inconscients lors de l'induction des brûlures pour minimiser les souffrances des animaux pendant l'expérience, en faisant les tests suivant :

- ✚ **Réflexe palpébral** : En touchant le coin de l'œil de l'animal aucun clignotement de l'œil. Ce réflexe doit disparaître.
- ✚ **Réflexe du retrait** : Tirer délicatement une patte et pincer l'extrémité; l'animal retire sa patte. Ce réflexe, qui indique si l'animal ressent ou non la douleur, doit être absent avant que de commence la chirurgie.
- ✚ **Efforts respiratoires** : la respiration s'affaiblit et devient essentiellement abdominale.

Une fois l'animal est bien endormi la peau de de la zone dorsale a été rasée à l'aide d'une tondeuse électrique spécial animaux (attention éviter les blessures), puis désinfectée avec une compresse stérile imbibée de Bétadine dermique(Zhang et al, 2019).

La peau a été ensuite laissée se sécher et s'équilibrer à la température ambiante (normalisée à 26 ° C) pendant 3 minutes.

L'animal a été placé endormi en décubitus ventral, Pour une insensibilisation totale du lieu, les animaux ont reçu une anesthésie locale par infiltration de 2% de xylocaïne avant de procéder à l'échaudure(Sene et al., 2020).

Les brûlures ont été réalisées à l'aide d'une masselotte ronde de 22mm de diamètre, chauffée au bain marie 80°C ou 100°C pendant 5 min. Après chauffage elle est retirée de l'eau, rapidement essuyée avec une compresse stérile, par la suite la masselotte a été placée

sur une partie de la zone épilée de l'animal durant 30 secondes (appliquer sans pression avec la masselotte).



Figure 11. induction de la brûlure.



Figure 12. Aspect de la brûlure immédiatement après induction.

Des photos avec une caméra de haute résolution ont été prises tout en respectant à chaque prise la hauteur et l'angle. Ensuite une administration topique du traitement a été appliquée sur la zone brûlée après l'échaudure (animal traité). L'animal a été placé dans sa cage et dans une chambre à température de 28 °C.



Figure 13. Application du traitement : Miel et huile de nigelle.

II.3 Application du Traitement

Après induction de la brûlure, les animaux des lots traités ont reçu chacun une application topique du produit destiné à leur lot tous les jours jusqu'à la fin de

l'expérimentation. Le lot référence : a reçu une application de la sulfadiazine argentique 1 % sur toute la surface de la plaie, quant au deuxième lot (Lot M) : le mélange de miel et d'huile de nigelle a été appliquée en l'étalent sur la surface de la plaie.

II.4 Observation et évaluation macroscopique

Durant la période du traitement chaque J_4 , J_7 , J_{10} , J_{14} , J_{17} , J_{21} , J_{24} : une évaluation pondérale de tous les rats mis en expérimentation a été effectuée, ainsi qu'une évaluation de l'état générale de l'animal par grille de score.

L'évaluation de la douleur a été réalisée par illustration de mesure d'échelle de la douleur, l'évolution de la plaie « brûlure » a été également étudiée par observation macroscopique et grille des scores.

II.5 Évaluation de la cicatrisation

L'évolution de la cicatrisation des brûlures a été étudiée par planimétrie digitale ; le principe général de cette méthode consiste en la prise de photographie des plaies avec un intervalle, (J_4 , J_7 , J_{10} , J_{14} , J_{17} , J_{21} , J_{24}) et les traiter par un logiciel de traitement d'image pour une éventuelle étude planimétrique de l'évolution des surfaces des plaies.

La mesure de la surface a été effectuée à l'aide du logiciel ImageJ® (National Institute of Mental Health, Bethesda, Maryland, USA.). Ce programme permet de donner des mesures précises de longueurs et de largeurs microscopiques dans n'importe quel système d'unité.

Afin de permettre au logiciel de calculer les surfaces des brûlures, il doit être calibré grâce à un étalon. Nous avons utilisé dans ce but une règle graduée tout près des animaux. Ensuite le calibrage des dimensions linéaires de l'image a été réalisé à l'aide de l'outil " Ligne droite " après qu'un segment de ligne a été dessiné le long de la règle. La longueur du segment de ligne correspondait à la taille de la forme de la plaie (Foltynski et al, 2015).

Après calibrage du logiciel, les bords de la plaie ont été tracés en utilisant l'outil main libre de la barre d'outils ImageJ ; en prenant soin de délimiter le contour réel de chaque plaie (figure 14).le logiciel se charge ainsi de convertir les pixels des images et d'afficher la surface des plaies en centimètre carré.

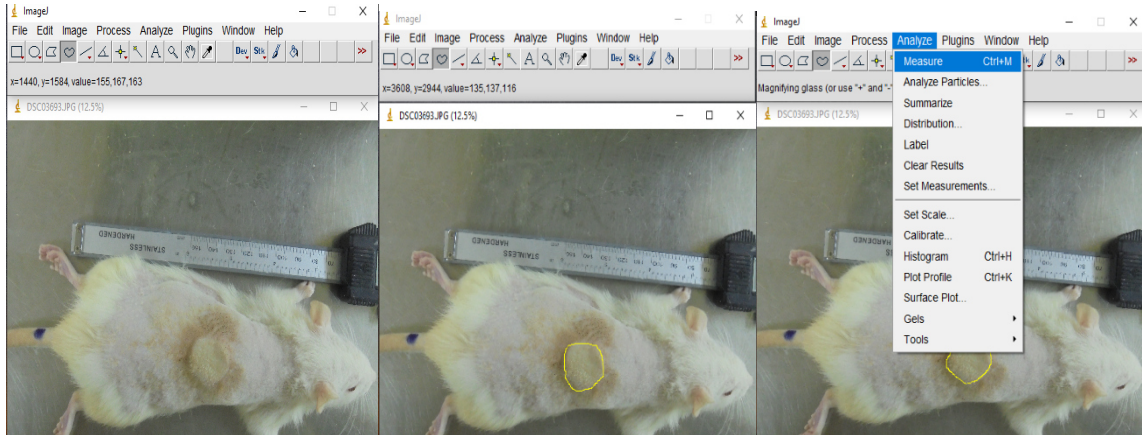


Figure 14. Etapes de calcul des surfaces des plaies.

Par la suite le pourcentage(%) de la contraction de plaie a été déterminé par la formule suivante :

$$\% \text{ de rétraction} = \frac{(\text{Taille de la plaie initiale } J_0 - \text{Taille de la plaie à } J_n)}{\text{Taille de la plaie initiale}} \times 100$$

J_0 jour de la brûlure

J_n jours des prises des photographies

Ce paramètre permet de déduire la diminution des dimensions de la plaie et d'évaluer ainsi la cicatrisation (Gopinath et al, 2004).

II.6 Analyse statistique

L'analyse statistique a été réalisée en utilisant le logiciel GraphPad Prism version 7, et Les surfaces des plaies calculées pour chaque lot sont exprimées sous forme de moyenne \pm SEM. Les données ont été ensuite statistiquement comparées à l'aide d'un test ANOVA à un facteur. Une valeur P inférieure à 0,05 était considérée comme statistiquement significative.

Résultats et discussion

I Evolution pondérale

Les résultats de l'évolution pondérale sont représentés dans la figure 15

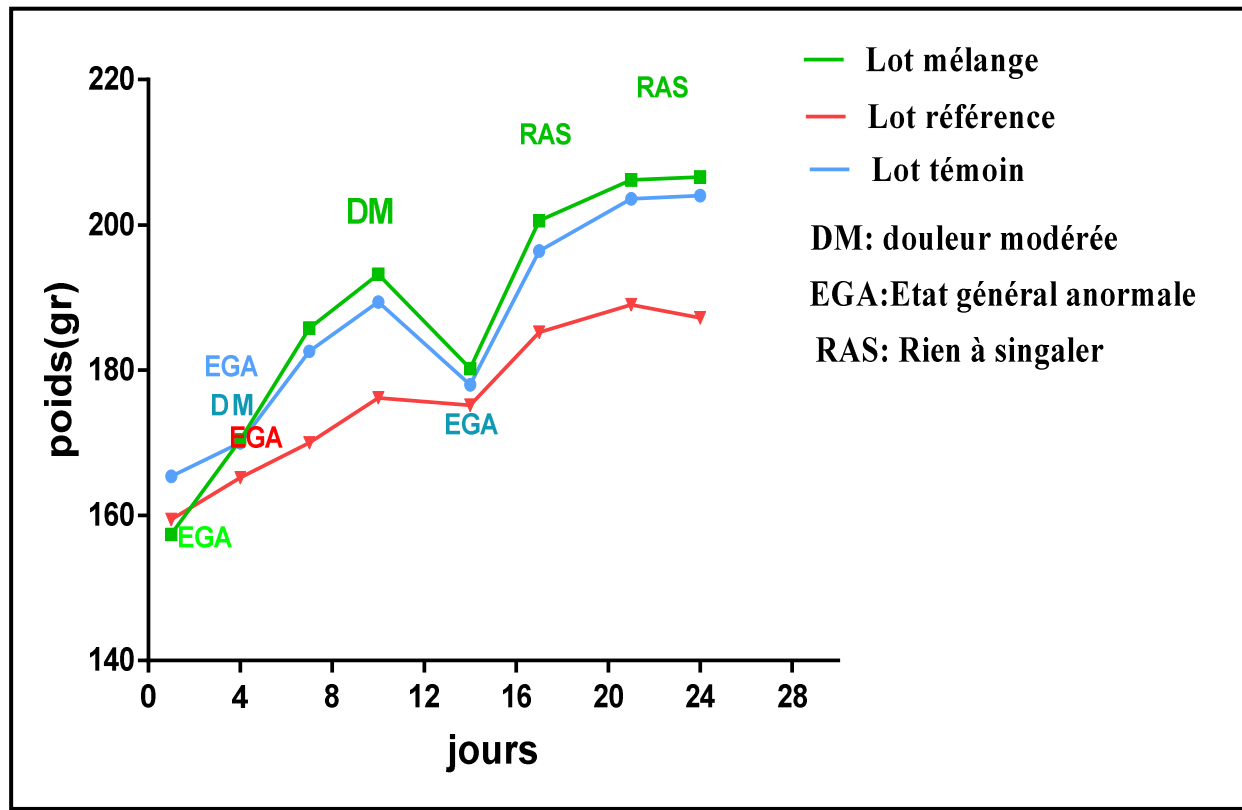


Figure 15. Évolution du poids moyen des animaux des différents lots : témoin, référence et mélange au cours de l'expérimentation.

Au début de l'expérimentation (J0), les poids des rats des différents lots étaient $157,4 \pm 1,913$, $165,4 \pm 4,611$, $159,4 \pm 3,092$ dans les groupes mélange, témoin et référence respectivement.

Après le premier jour de l'induction de la brûlure, les résultats montrent une augmentation progressive du poids corporel des rats des deux lots : celle du lot témoin et les rats de lot traité par la nigelle et le miel, avec une augmentation supérieure chez le lot traité par le mélange nigelle et miel en comparant avec le lot témoin.

Une apparition des signes cliniques (Figure 15) chez le lot témoin a été enregistrée le 4ème jour correspondant à la phase inflammatoire du processus cicatriciel, en effet une douleur modérée avec un état général anormal ont été observés, qui semblaient être absents dans les lots mélange et référence.

A partir du dixième jour les résultats obtenus montrent une diminution considérable du poids jusqu' à j14 dans les trois groupes, la réduction du poids des animaux du lot référence traités avec la sulfadiazine est la plus marquée.

La diminution de poids est probablement liée directement aux processus de cicatrisation en effet, Comme tous les phénomènes physiologiques, les micronutriments est plus importants dans le processus de la cicatrisation des plaies (acides aminés, des lipides, les protéines et des glucides le fer, le zinc et les vitamines A et C). Les plaies infectées exigent souvent l'augmentent de l'apport nutritionnel associée à la perte d'appétit (Heather, et al, 2018),ce qui pourrait expliquer cette perte du poids.

De même la réduction du poids chez les rats traités par la sulfadiazine, peut être due aux complications de ce traitement. En effet l'application excessive de la sulfadiazine peut entraîner certains risques systémiques (neutropénie, érythème...) (**Sarkhail et al., 2011; Yaman et al., 2010**).

Au-delà du j14 une reprise rapide du poids a été enregistrée chez les animaux des lots témoin et du lot mélange, comparé au lot référence qui a marqué une faible augmentation du poids.

A partir du j17 une augmentation progressive du poids a été enregistrée, ces résultats montrent un rétablissement (guérison) pour tous les animaux, avec une augmentation considérable chez les animaux traités par le mélange de nigelle et de miel qui se poursuit jusqu'à la fin de l'expérimentation. Cette amélioration est due à la synergie du miel et de nigelle.

II Evolution du processus de cicatrisation des plaies.

L'évolution des surfaces des plaies dans les jours après l'induction des brûlures est illustrée dans le tableau Vet la figure16

Aucun cas de mortalité n'a été observé chez les animaux de tous les lots pendant cette étude. Les mesures de la surface de la plaie dans les jours après induction des brûlures ont révélés les résultats suivants :

Toutes les plaies ont enregistrées une diminution progressive de leur surfaces au fil du temps, néanmoins le lot traité par le mélange de nigelle et de miel, et celui traité par la sulfadiazine ont montré une meilleure réduction des surfaces des plaies (figure 16) par rapport au lot témoin.

À J1, la surface de la plaie n'était pas significativement différente entre les trois groupes, étant $1,668 \pm 0,051$; $1,965 \pm 0,061$; $1,840 \pm 0,084$ dans les lots témoin, référence et mélange respectivement.

Durant les premiers jours après induction de brûlures correspondant à la phase inflammatoire de la cicatrisation, les plaies du lot mélange n'ont pas enregistré de diminution significative de leurs tailles, comparées aux plaies traités par la Sulfadiazine et celle du groupe témoin. Cette différence non significative s'est maintenue jusqu'au 7^{ème} jour de l'expérimentation. D'ailleurs les résultats montrent une différence à partir du 7^{ème} jour entre les groupes traités par le mélange et les groupes témoin et référence (Figure 16 et Tableau V)

Les surfaces de la plaie dans le groupe de mélange étaient inférieures à celles des autres groupes suivis par les groupes référence et témoin (Tableau V), ce qui indique que les plaies traitées par le mélange à base de l'huile de nigelle et de miel ont montré une meilleur cicatrisation (cicatrisation rapide).

Cet impact positif du mélange de miel et *N.sativa* a été démontré par des études antérieures. En effet une étude réalisée par **Yaman et al. (2010)**, sur l'effet cicatrisant de l'huile de NS, a révélé que cette dernière améliore la guérison des plaies de brûlures par un mécanisme inconnu par rapport à Sulfadiazine d'argent, qui peut être due aux effets anti-inflammatoires et immunomodulateurs de *N.sativa*.

Les résultats obtenus par cette étude sont également en accord avec les résultats obtenus par **Sarkhail et al.(2011)** qui suggèrent que l'huile de *N. sativa* a une forte activité sur l'augmentation de la formation de collagène et l'augmentation du taux d'épithélialisation. Ainsi qu'un excellent effet hydratant sur les plaies en favorisant leur guérison plus rapidement.

Les mêmes observations ont été notées dans des études réalisées par **Abu-AlBasal (2011)** , qu'il a suggéré que l'extrait d'éther des graines de *N. sativa* a donné un impact positif sur le processus de guérison en diminuant le nombre total et absolu de globules blancs, ce qui réduit les tissus endommagés et la diminution de l'expansion bactérienne.

Tableau V. Évolution des surfaces moyennes et des pourcentages de leur contraction chez les lots expérimentaux. (Les résultats sont exprimés sous forme de moyennes \pm erreur standard à la moyenne SEM).

Jour		Lot témoin	Lot référence	Lot mélange
J1	Surfaces (cm²)	1,668 \pm 0,051	1,965 \pm 0,061	1,840 \pm 0,084
	%de contraction	/	/	/
J4	Surfaces (cm²)	5,041 \pm 0.301	5,170 \pm 0,347	4,893 \pm 0,339
	%de contraction	/	/	/
J7	Surfaces (cm²)	7,008 \pm 0,250	6,922 \pm 0,391	6,346 \pm 0,139
	%de contraction	/	/	/
J10	Surfaces (cm²)	6,351 \pm 0,410	6,015 \pm 0,330	5,174 \pm 0,046
	%de contraction	/	/	/
J14	Surfaces (cm²)	3,463 \pm 0,204	3,338 \pm 0,178	2,334 \pm 0,077
	%de contraction	/	/	/
J17	Surfaces (cm²)	2,512 \pm 0,136	1,996 \pm 0,157	1,634 \pm 0,084
	%de contraction	/	8,762 \pm 3,607	11,157 \pm 2,70
J21	Surfaces (cm²)	1,891 \pm 0,126	1,569 \pm 0,105	1,160 \pm 0,089
	%de contraction	0,546 \pm 0,501	20,193 \pm 4,625	37,187 \pm 3,25
J24	Surfaces (cm²)	1,347 \pm 0,129	1,149 \pm 0,180	0,294 \pm 0,078
	%de contraction	19,17 \pm 8,242	42,263 \pm 8,237	84,228 \pm 4,14

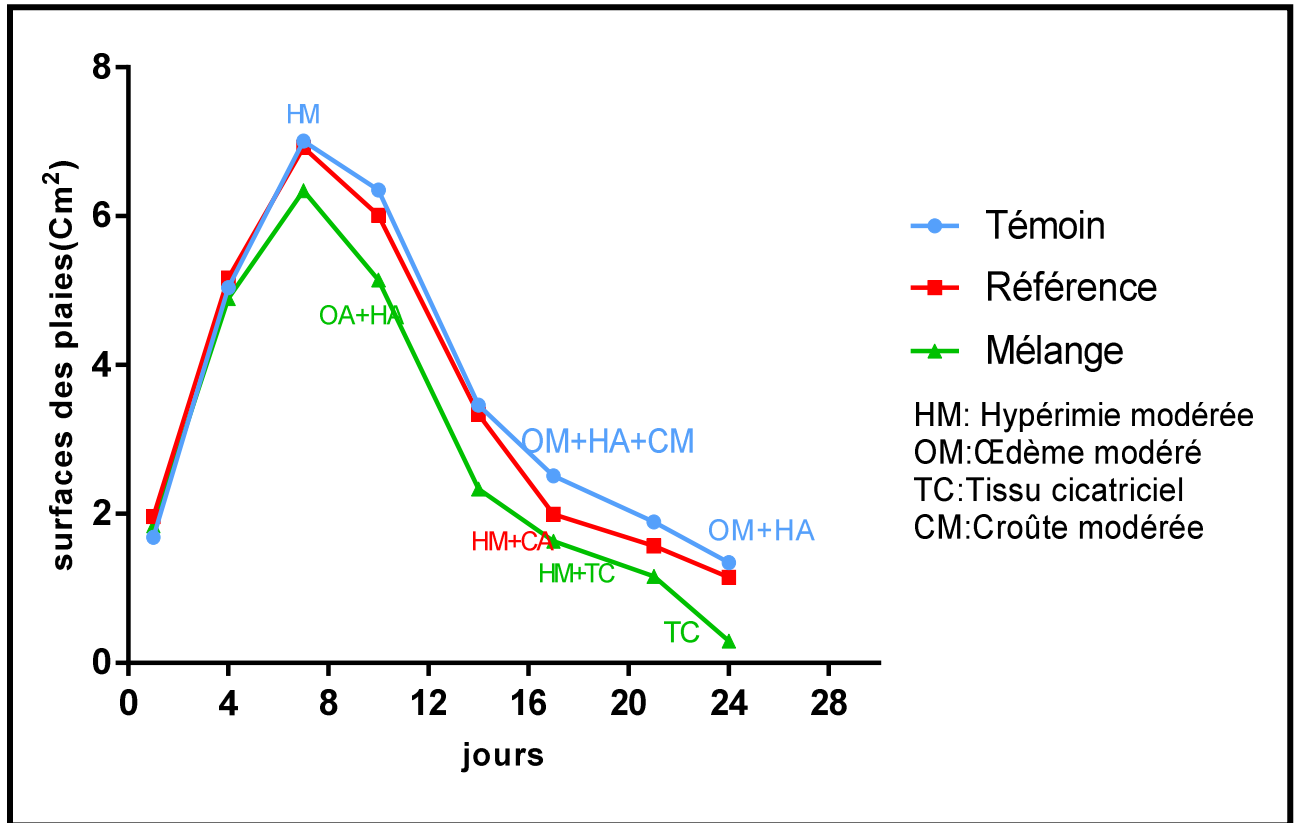


Figure 16. Évolution des surfaces moyennes des brûlures des trois lots durant la période de l'expérimentation.

Les brûlures du groupe témoin ont enregistrées un plus grand degré d'inflammation sur la base des signes cliniques du processus inflammatoire: hypérimie, œdème, croûte et douleur qui semblaient atténués dans les plaies traitées avec N+M et SD. Tandis que des tentatives de réparation (apparition du tissu cicatriciel) dans la couche épidermique ont été observées au jour 17 et qui s'est accentué à j21 et j24 chez tous les animaux traités par le mélange, comparés au lot témoin et référence qui n'ont pas montré la reconstitution des tissus qu'à partir du j24. Ces résultats sont illustrés dans la figure 17.

Un décollement de la croûte dans le groupe mélange a eu lieu le j10 chez certains rats, et le j14 chez d'autres (figure 17), une poussée partielle des poils a été également observée à j7 et atteint une poussée totale à partir du j17, ce qui explique les différences significatives en faveur du lot mélange par rapport au lot témoin et référence dans lesquels aucun décollement de la croûte n'a été observé et la poussée partielle n'a été qu'à partir du 17^{ème} jour. Ces résultats confirment l'utilisation traditionnelle de l'huile de nigelle et de miel comme un traitement contre les brûlures.

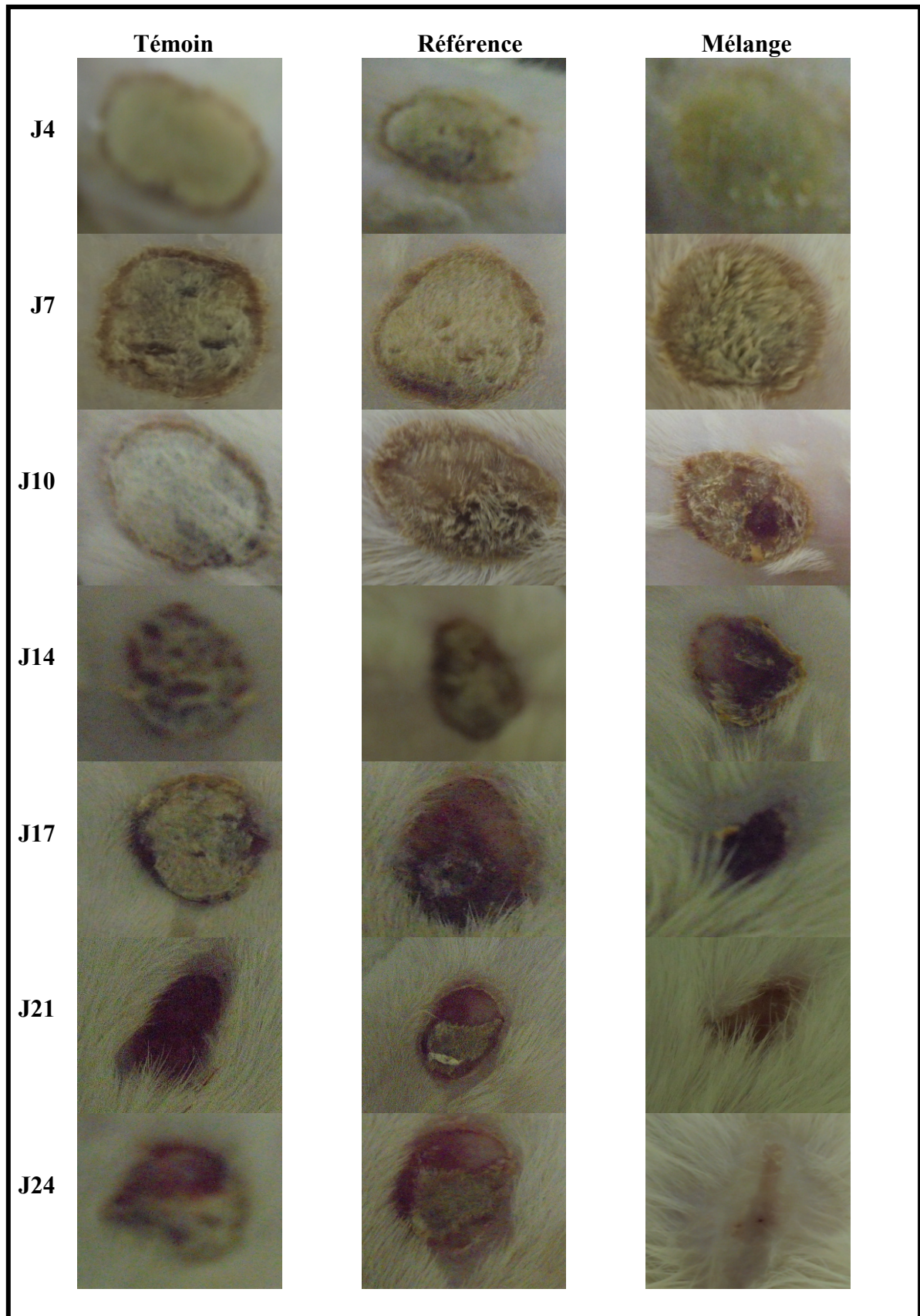


Figure 17. Aspect des brûlures des lots : témoin ; référence et mélange durant l'étude.

III Pourcentage de contraction des plaies

Dans cette étude, tous les animaux n'ont enregistré des taux de contraction des plaies qu'à partir du j17. La comparaison de l'évolution de rétraction (figure 18) entre les trois groupes a révélé les observations suivantes :

Du premier jour après induction des brûlures expérimentales jusqu'à j17, tous les animaux des différents lots ont montré des pourcentages de contraction négatifs, ce qui signifie que la taille des plaies durant ses premiers jours sont supérieures aux surfaces initiales. Cette augmentation de surfaces est due au processus inflammatoire mis en jeu lors de cette phase de cicatrisation.

Le pourcentage de contraction de la plaie chez les groupes était statistiquement significatif par rapport au groupes témoin les 17, 21 et 24 jours ($P < 0,05$). Au 17^{ème} jour, le pourcentage de la première contraction de la plaie a été enregistré chez les rats traités avec le mélange de miel et de l'huile de nigelle ($11,154 \pm 2,70$).

Les animaux du lot mélange ont montré 37,187% au jour 21 et 84,228 % au jour 24 de réduction de la zone de la plaie, et ont été significativement ($P < 0,05$) supérieures aux autres groupes.

Un taux de contraction de 8,762 %, 20,193 % et 42,263 % au jours 17, 21 et 24 respectivement ont été enregistré dans le groupes non traités (témoin) qui n'ont pas montré leur premier taux de contraction qu'à partir du j21, à cette échéance les animaux du lot témoin ont présentés un pourcentage de rétraction de 0,546 % , et un taux de 19,17% au jour 24 après induction de brûlures.

Ces résultats montrent clairement la différence significative en faveur du lot mélange qui a marqué des performances beaucoup plus supérieures que le lot témoin et référence.

Ces résultats sont en accord avec les travaux de **Javadi et al. (2018)**, qui ont étudié l'effet synergique du mélange de miel et de l'huile de graines de *N.sativa* sur un modèle d'excision expérimentale. En fait dans leur étude, le mélange de miel et d'huile de graines de nigellea présenté les meilleurs résultats significatifs par rapport aux groupes témoin, miel ou *N. sativa* tous les jours après l'excision comparé au groupe traité par la phénytoïne, le groupe mixte a montré un meilleur résultat précoce au jour 5 après l'excision. Le retard de cicatrisation des plaies dans notre étude est probablement dû à la différence de pureté,

de l'origine des deux produits naturels utilisés durant ces études ainsi que les méthodes d'extraction de l'huile.

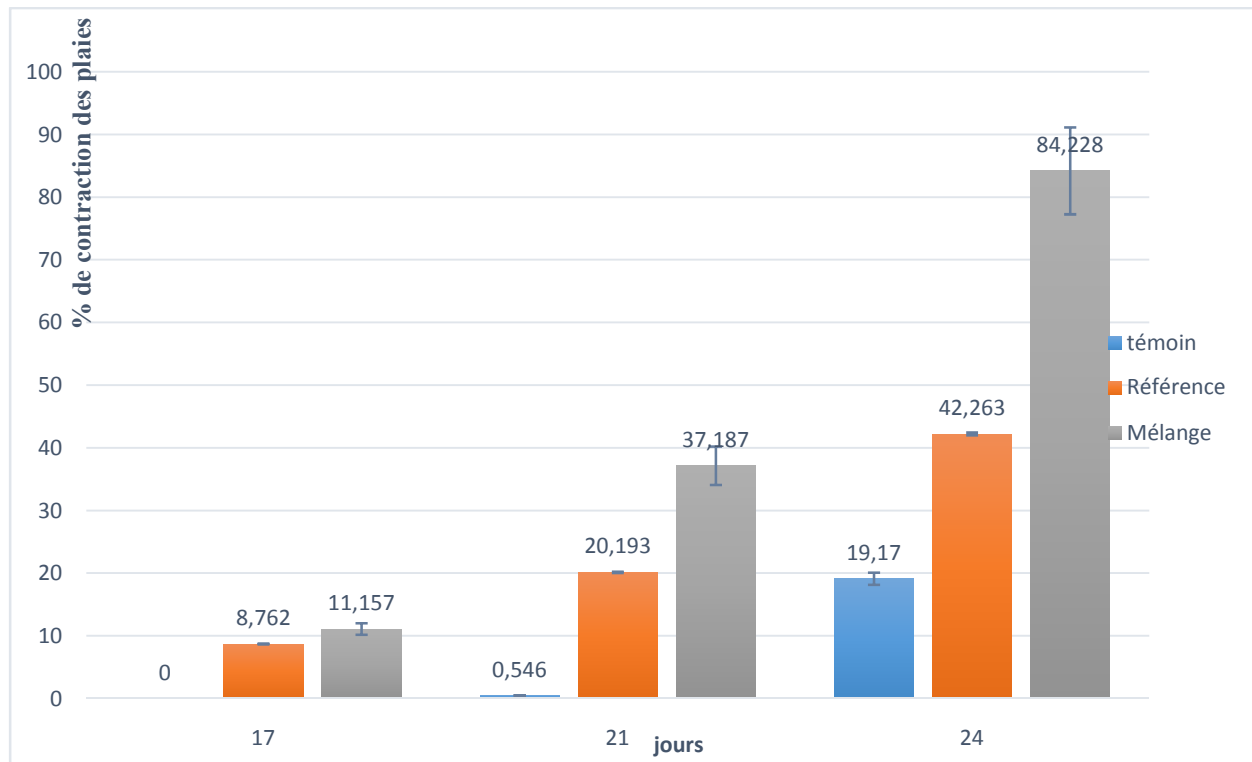


Figure 18. Évolution du pourcentage moyen de contraction des plaies des brûlures chez les trois groupes : témoin, référence et mélange.

IV Comparaison de l'effet cicatrisant de mélange miel-huile de *N.sativa* vs sulfadiazine argentique.

Le mélange miel-huile de Nigelle a présenté les meilleures performances en réduisant la durée de cicatrisation des plaies traitées par ce produit naturel en exprimant au bout de 24 jours un taux de contraction de $84,228 \pm 4,14$ contre $42,263 \pm 8,273$ pour lot référence traité par la Sulfadiazine (figure 19).

Les agents topiques tels que la sulfadiazine d'argent, est principalement utilisée comme traitement des brûlures du deuxième et du troisième degré, son potentiel cicatrisant présente des avantages uniquement en tant qu'un antimicrobien et antibactérien, mais une application chronique de ce produit peut engendrer un risque d'absorption systémique et un degré de toxicité qui pourrait retarder la guérison de la blessure (Yaman et al., 2010).

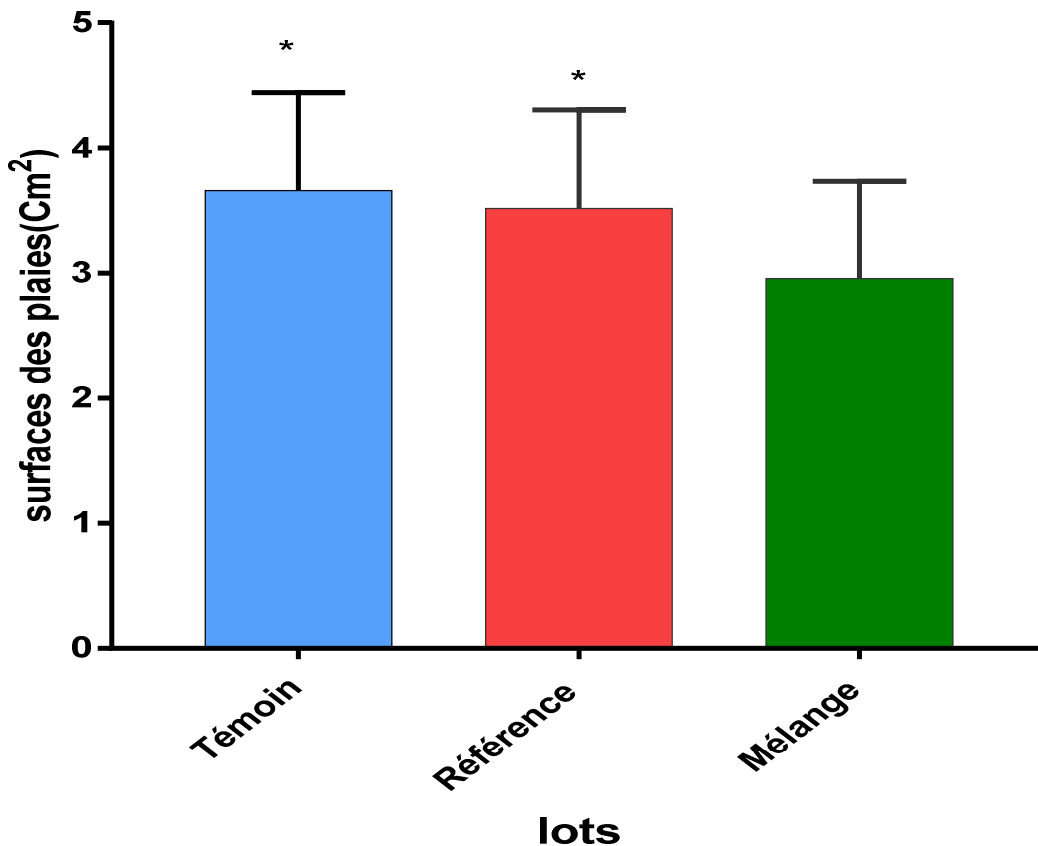


Figure19. Comparaison des surfaces des plaies dans les groupes durant l'expérimentation. Analyse statistique .les données ont été exprimés en moyenne \pm SEM (erreur standard à la moyenne) One-way ANOVA: La différence statistique est considérée significative (*) à $p < 0,05$.

Le fort potentiel du mélange miel-huile de *N.sativa* peut être lié à la synergie des activités anti-inflammatoires, antioxydantes, antibactériennes, du miel et de l'huile.

Les bienfaits du miel sur la cicatrisation a fait l'objet de plusieurs études, qui suggèrent que le faible pH, le peroxyde d'hydrogène, les propriétés anti-inflammatoires, antioxydantes et antimicrobiennes du miel sont les facteurs contribuant à l'effet bénéfique du miel dans l'accélération du processus de cicatrisation principalement du fait de son rôle antibactérien, résultant du peroxyde d'hydrogène produit sous l'effet de la glucose-oxydase (Descottes, 2009). De plus, l'absorption de l'exsudat excessif de la plaie est possible en raison de la capacité hyperosmotique et hygroscopique qui entraîne un gain de poids dans des conditions physiologiques (vallianou et al., 2014).

Dans une étude réalisé en 2005 par **Mashhadian et Rakhshandeh**, les graines *Nigella .Sativa* L ont montrées une activité efficace contre les microorganismes comme *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa*.

Une autre étude confirme l'activité antibactérienne de l'huile NS sur 24 bactérie (**Arici et al., 2005**).Par ailleurs des travaux antérieurs ont mis en évidence la présence d'un composé miraculeux la « **thymoquinone** » qui semblait être le composé actif de l'huile responsable de la variété d'effets bénéfiques (**Sarkhail et al., 2011**).

On rapporte également que la thymoquinone prévient les dommages oxydatifs, elle agit comme antioxydant en empêchant la peroxydation des lipides membranaires. Ces effets suggèrent l'application de *Nigella sativa* localement pour accélérer la cicatrisation des plaies(**Yaman et al., 2010**).

De plus, les acides gras essentiels contenus dans les graines de nigelle comme l'acide oléique et l'acide linoléique, jouent un rôle clé dans la reconstitution des membranes cellulaires, en garantissant l'intégrité épidermique et en maintenant la barrière d'eau dans la peau. D'autre part, une supplémentation en acides gras comme oléique et l'acide linoléique pourrait stimuler la cicatrisation des plaies en améliorant le nombre total de cellules migrant à travers la ligne de la plaie pendant le processus de réparation (**Ruthig&Meckling-Gill, 1999**).

Le mécanisme des acides gras sur la guérison des plaies a été étudié, et s'est avéré que ces acides gras stimulent les neutrophiles. Ces cellules exercent leur effet sur le processus de guérison en libérant facteur de croissance, cytokines inflammatoires, détruire bactéries et éliminer les cellules mortes(**Pereira et al., 2008**).

Conclusion

Les graines de *Nigella sativa L*, et le miel sont utilisés par diverses cultures humaines à travers le monde pendant des siècles pour traiter de nombreux problèmes grâce à ses diverses activités biologiques et sa faible toxicité systémique qui peut en faire une alternative prometteuse aux médicaments thérapeutiques conventionnels.

Les résultats de cette étude ont montré que le mélange de l'huile des graines de *Nigella sativa L* et le miel a considérablement amélioré la cicatrisation des plaies par rapport à la sulfadiazine et au groupe témoin. Cette étude a soutenu et approuvé la littérature traditionnelle sur l'utilisation de *nigelle* et de miel, pour la cicatrisation des plaies des brûlures.

Il ressort que ce mélange miraculeux a entraîné une guérison beaucoup plus rapide des brûlures cutanées chez le rat *in vivo* en raison de l'amélioration des taux de la contraction de la plaie en une période courte. Ces effets bénéfiques peuvent être dus à plusieurs mécanismes, incluant une augmentation de la synthèse du collagène, taux d'épithélialisation, ou l'effet hydratant qui attribués aux propriétés anti-inflammatoires, antimicrobiennes, antioxydantes de l'huile fixe de nigelle ainsi que le miel pur. Ou encore, la cinétique rapide de la cicatrisation observée après application de la formule peut être liée à la présence de composés phytochimiques tels que les flavonoïdes, les terpénoïdes, les tannins retrouvés dans *N. sativa*.

Cependant, vu la variation des composants de cette plante .La poursuite de cette étude devrait s'inscrire vers l'évaluation de l'effet cicatrisant des différents groupes phytochimiques de l'extrait de l'huile et d'approfondir nos connaissances en menant des études supplémentaires sur : identification et la caractérisation des molécules actives impliquées dans ce processus de réparation des plaies et élucider leur mécanisme d'action. Il serait également nécessaire de faire des essais sur l'huile seule et le miel seul.

Références bibliographiques

- Abu-Al-Basal, MA (2011). Influence de l'huile fixe de *Nigella sativa* sur certains paramètres sanguins et histopathologie de la peau chez les souris BALB / c infectées par un staphylocoque. *Journal des sciences biologiques du Pakistan: PJBS*, 14 (23), 1038-1046.
- Adjlane, N., Haddad, N., Ameer, K. L., Kesraoui, S., & Moussaoui, D. (2014). Physicochemical and microbiological characteristics of some samples of honey produced by beekeepers in Algeria. *Acta Technologica Agriculturae*, 17(1), 1-5.
- Asdadi, A., Harhar, H., Gharby, S., Bouzoubaâ, Z., Yadini, A., Moutaj, R., Hassani, L. M. I. (2014). Chemical composition and antifungal activity of *Nigella Sativa* L. oil seed cultivated in Morocco. *Int J Pharma Sci Invent*, 3, 9-15.
- Abdesselam, B.-E. (2015). *Approche ethnopharmacologique de Nigella sativa: de ses utilisations traditionnelles ancestrales aux études cliniques actuelles de ses principes actifs*. éditeur inconnu.
- AitMbarek, L., Ait Mouse, H., Elabbadi, N., Bensalah, M., Gamouh, A., Aboufatima, R., Dalal, A. (2007). Anti-tumor properties of blackseed (*Nigella sativa* L.) extracts. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 40(6), 839-847.
- Al-Quorain, A. A., Bamosa, A. O., Pal, K., Durmaz, M. S., Yilmaz, S., Keven, A., . . . Sindel, T. (2015). *Nigella Sativa*. *Saudi J Med MedSci*, 3, 1.
- Ali, B., & Blunden, G. (2003). Pharmacological and toxicological properties of *Nigella sativa*. *Phytotherapy Research: An international journal devoted to pharmacological and toxicological evaluation of natural product derivatives*, 17(4), 299-305.
- Aljabre, S. H., Alakloby, O. M., & Randhawa, M. A. (2015). Dermatological effects of *Nigella sativa*. *Journal of dermatology & dermatologic surgery*, 19(2), 92-98.
- Bagheri, H. (2018). Médicaments et cicatrisation. *Revue Francophone de Cicatrisation*, 2(2), 22-25.
- Balas, F. (2015). *Les propriétés thérapeutiques du miel et leurs domaines d'application en médecine générale: revue de la littérature*. Thèse pour l'obtention du diplôme d'état de docteur en médecine, université.
- Blanc, M., & CHULIA, A. (2010). Propriétés et usage médical des produits de la ruche. *Th. Doc. En*.

- Boucher, F., Château, J., Ferry, T., Laurent, F., Chidiac, C., & Valour, F. (2017). Diagnostic de l'infection d'une plaie chronique et principes de traitement. *Revue Francophone de Cicatrisation*, 1(2), 15-22.
- Bonté, F., & Desmoulière, A. (2013). Le miel: origine et composition. *Actualités Pharmaceutiques*, 52(531), 18-21.
- Bressolliera, P., Gloaguen, V., Petit, J.-M., & EA, L. Propriétés antibactériennes d'un dispositif médical à base de miel.
- Burits, M., & Bucar, F. (2000). Antioxidant activity of *Nigella sativa* essential oil. *Phytotherapyresearch*, 14(5), 323-328.
- Couquet, Y., Desmoulière, A., & Rigal, M.-L. (2013). Les propriétés antibactériennes et cicatrisantes du miel. *Actualités Pharmaceutiques*, 52(531), 22-25.
- Deena, H. A., & Hussain, M. M. (2018). Prophetic Chemo is the safest, cheapest and most effective alternative to modern chemotherapy for the cure of all forms of cancers—A review. *J Cancer Sci Ther*, 10(5).
- Dereure, O. (2001). Dynamique de la cicatrisation normale. *Plaies et cicatrisation au quotidien. Sauramps médical, Montpellier, p 15, 21.*
- Djeridane, A., Yousfi, M., Nadjemi, B., Boutassouna, D., Stocker, P., & Vidal, N. (2006). Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chemistry*, 97(4), 654-660.
- Descottes, B. (2009). Cicatrisation par le miel, l'expérience de 25 années. *Phytothérapie*, 7(2), 112-116.
- Dréno, B. (2009). *Anatomie et physiologie de la peau et de ses annexes*. Paper presented at the Annales de Dermatologie et de Vénérologie.
- Eid, A. M., Elmarzugli, N. A., Abu Ayyash, L. M., Sawafta, M. N., & Daana, H. I. (2017). A Review on the Cosmeceutical and External Applications of *Nigella sativa*. *Journal of Tropical Medicine*, 2017, 1-6. doi: 10.1155/2017/7092514
- El-Dakhkhny, M., Madi, N. J., Lember, N., & Ammon, H. P. T. (2002). *Nigella sativa* oil, nigellone and derived thymoquinone inhibit synthesis of 5-lipoxygenase products in polymorphonuclear leukocytes from rats. *Journal of ethnopharmacology*, 81(2), 161-164.
- Ermumcu, M. Ş. K., & Şanlıer, N. (2017). Black cumin (*Nigella sativa*) and its active component of thymoquinone: effects on health. *Food and Health*, 3(4), 170-183.
- Foltynski P, Ladyzynski P, Ciechanowska A, Migalska-Musial K, Judzewicz G, Sabalinska S (2015) Wound Area Measurement with Digital Planimetry: Improved

- Accuracy and Precision with Calibration Based on 2 Rulers. PLoS ONE 10(8): e0134622. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0134622>
- Franz, M. G. (2007). Optimizing healing of the acute wound by minimizing complications. *CurrProbSurg*, 44, 679-766.
- Ghedira, K. (2006). La nigelle cultiv'ée: *Nigella sativa* L.(Ranunculaceae). *Phytothérapie*, 4(5), 220.
- Ghedira, K., & Le Jeune, R. (2010). Huile de nigelle cultivée, *Nigella sativa* L.(Ranunculaceae). *Phytothérapie*, 8(2), 124-128.
- Goetz, P. (2009). Le miel comme traitement local désinfectant et cicatrisant des plaies. *Phytothérapie*, 7(2), 91-93.
- Hammiche, V. (2014). Traitement de la toux à travers la pharmacopée traditionnelle kabyle. *Phytothérapie*, 13(6), 358-372. doi: 10.1007/s10298-014-0910-2
- Javadi, S. M. R., Hashemi, M., Mohammadi, Y., MamMohammadi, A., Sharifi, A., & Makarchian, H. R. (2018). Synergistic effect of honey and *Nigella sativa* on wound healing in rats. *ActaCirurgicaBrasileira*, 33(6), 518-523.
- Jayakumar, K. (2015). Ethno medicinal value of plants in Thanjavur district, Tamil Nadu, India. *International Letters of Natural Sciences*, 2.
- Kerbastard, M. N. (2020). *DES ABEILLES, DES HUMAINS ET DU MIEL*. Université de Montpellier.
- Koehler, S. (2015). *Le miel dans la cicatrisation des plaies: un nouveau médicament?* , Université de Lorraine.
- Mashhadian, NV et Rakhshandeh, H. (2005). Effets antibactériens et antifongiques des extraits de *Nigella sativa* contre *S. aureus*, *P. aeruginosa* et *C. albicans*. *Pak J Med Sci* , 21 (1), 47-52.
- Mc Nulty, C., Rodgers, G. L., & Mortenson, J. E. (2004). An overview of the topical antimicrobial agents used in the treatment of burn wounds. *Continuing Education Topics and*, (2004.74-78).
- Meziou, T. (2013). Histologie de la peau *Abrégé de physiologie à l'usage des acupuncteurs et des réflexothérapeutes* (pp. 55-72): Springer.
- Moulin, Y. (2001). Comprendre le processus de cicatrisation. *L'infirmière du Québec*, 37.
- Nergiz, C., & Ötleş, S. (1993). Chemical composition of *Nigella sativa* L. seeds. *Food Chemistry*, 48(3), 259-261.
- Özmen, A., Basbülbul, G., & Aydin, T. (2007). Antimitotic and antibacterial effects of the *Nigella sativa* L. Seed. *Caryologia*, 60(3), 270-272.

- Pasquereau, A., &Thélot, B. (2015). Épidémiologie des hospitalisations pour brûlures à partir du PMSI: résultats 2012 et perspectives. *Revue d'Épidémiologie et de Santé Publique*, 63, S28.
- Pereira, L. M., Hatanaka, E., Martins, E. F., Oliveira, F., Liberti, E. A., Farsky, S. H., Pithon-Curi, T. C. (2008). Effect of oleic and linoleic acids on the inflammatory phase of wound healing in rats. *Cell Biochemistry and Function: Cellular biochemistry and its modulation by active agents or disease*, 26(2), 197-204.
- Randhawa, M. A., & Al-Ghamdi, M. S. (2002). A review of the pharmaco-therapeutic effects of *Nigella sativa*. *Pak J Med Res*, 41(2), 77-83.
- ROBERT S., OUESLATI H., ALLO J.-C. Brûlures thermiques, chimiques et électriques aux urgences [en ligne]. Urgence Online : Campus numérique de médecine d'urgence. Disponible sur : (consulté le 22/08/2020).
- Sarkhail, P., Esmaily, H., Baghaei, A., Shafiee, A., Abdollahi, M., Khademi, Y., Sarkheil, P. (2011). Burn healing potential of *Nigella sativa* seed oil in rats. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 2(1), 34.
- Ruthig, D. J., &Meckling-Gill, K. A. (1999). Both (n-3) and (n-6) fatty acids stimulate wound healing in the rat intestinal epithelial cell line, IEC-6. *The Journal of nutrition*, 129(10), 1791-1798.
- Samarghandian, S., Farkhondeh, T., &Samini, F. (2017). Honey and health: A review of recent clinical research. *Pharmacognosyresearch*, 9(2), 121.
- Sene, M., Barboza, F. S., Top, B., Ndiaye, M., Sarr, A., Fall, A. D., &Sy, G. Y. (2020). Activité cicatrisante de l'extrait aqueux des feuilles de *Elaeis guineensis* Jacq.(Arecaceae). *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 14(3), 674-684.
- Schreml, S., Szeimies, R., Prantl, L., Karrer, S., Landthaler, M., &Babilas, P. (2010). Oxygen in acute and chronic wound healing. *British Journal of Dermatology*, 163(2), 257-268.
- Shuid, A. N., Mohamed, N., Mohamed, I. N., Othman, F., Suhaimi, F., MohdRamli, E. S., Soelaiman, I. N. (2012). *Nigella sativa*: A potential antiosteoporotic agent. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2012.
- Singer, A. J., & Clark, R. A. (1999). Cutaneous wound healing. *New England journal of medicine*, 341(10), 738-746.

Spichiger, R.-E., Figeat-Hug, M., & Jeanmonod, D. (2002). *Botanique systématique des plantes à fleurs: une approche phylogénétique nouvelle des angiospermes des régions tempérées et tropicales*: PPUR presses polytechniques.

Telofski, L. S., Morello, A. P., Mack Correa, M. C., & Stamatias, G. N. (2012). The infant skin barrier: can we preserve, protect, and enhance the barrier? *Dermatology Research and Practice*, 2012.


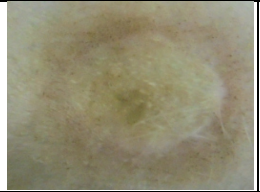


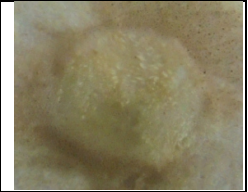





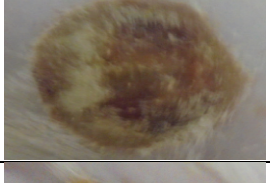
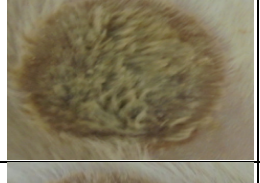

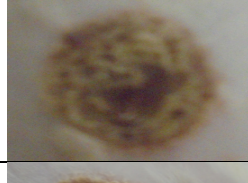

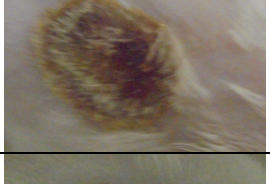


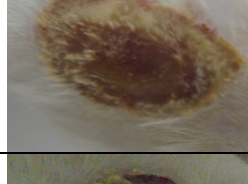




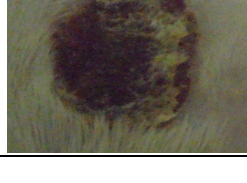

Wassermann, D. (2002). Critères de gravité des brûlures. Epidémiologie, prévention, organisation de la prise en charge: Elsevier.

Yaman, I., Durmus, A., Ceribasi, S., & Yaman, M. (2010). Effects of *Nigella sativa* and silver sulfadiazine on burn wound healing in rats. *Veterinari Medicina*, 55(12), 619-624.

ZHANG, Xu-guang, LI, Xiu-min, ZHOU, Xin-xin, *et al.* The Wound Healing Effect of *Callicarpanudiflora* in Scalded Rats. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2019, vol. 2019.

Annexes

Annexe 1 :

Jour	Rat 1	Rat 2	Rat3	Rat4	Rat 5
Jour 1					
Jour 4					
Jour 7					
Jour 10					
Jour 14					

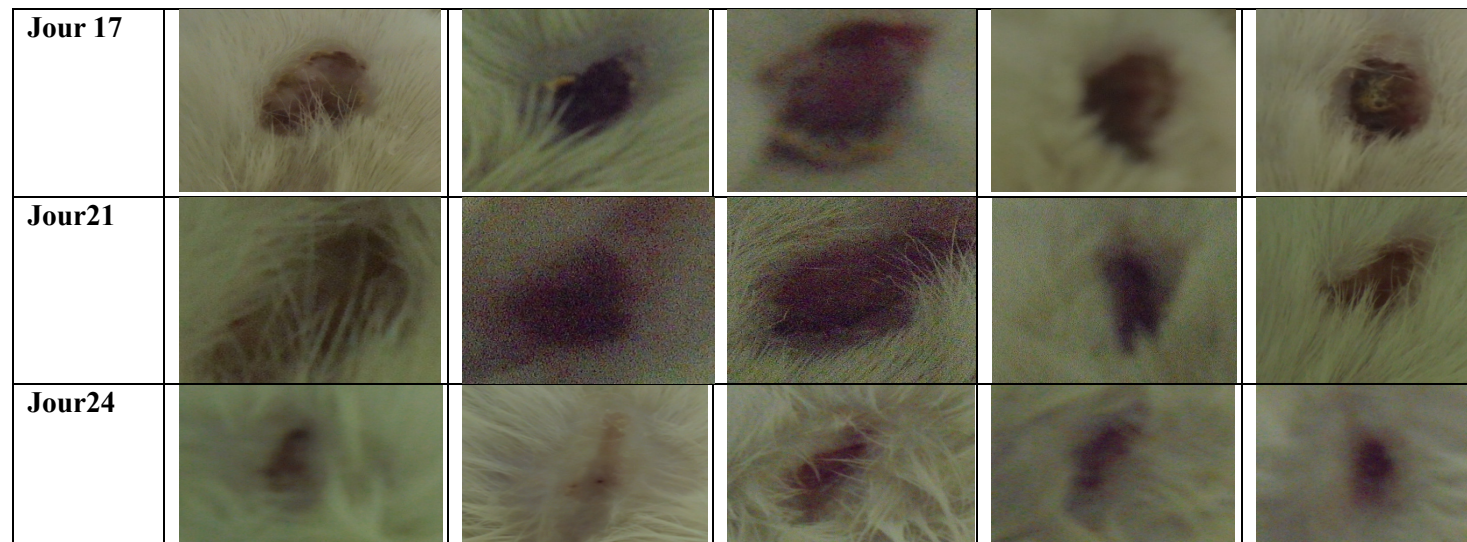
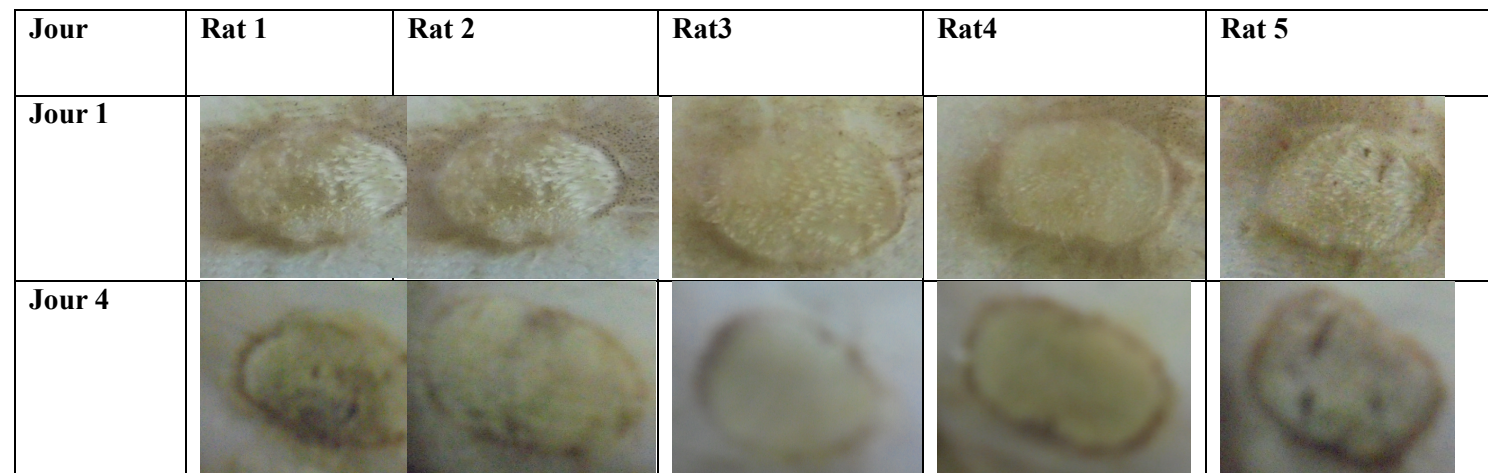


Figure1: Les surfaces des plaies de brûlures des rats du lot Mélange durant l'expérimentation.

Annexe 2 :



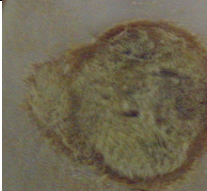



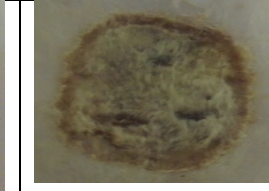

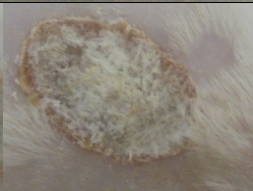



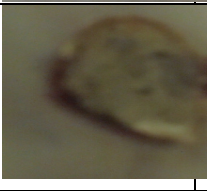









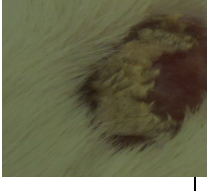








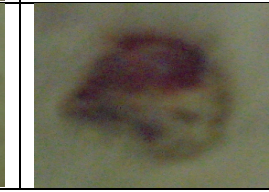


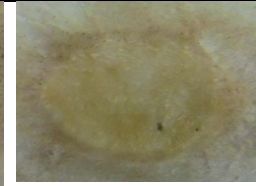

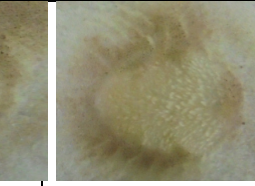


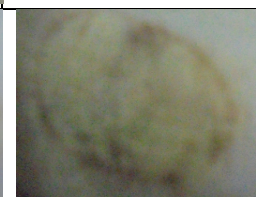

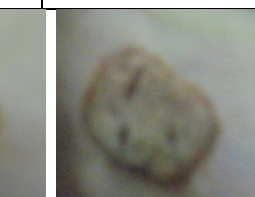




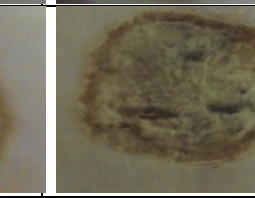

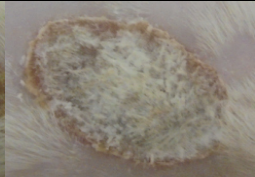



Jour 7						
Jour 10						
Jour 14						
Jour 17						
Jour 21						
Jour 24						

Figure 2: Les surfaces des plaies des rats de lot témoin pendant l'expérimentation.

Annexe 3 :

Jour	Rat 1	Rat 2	Rat3	Rat4	Rat 5
Jour 1					
Jour 4					
Jour 7					
Jour 10					

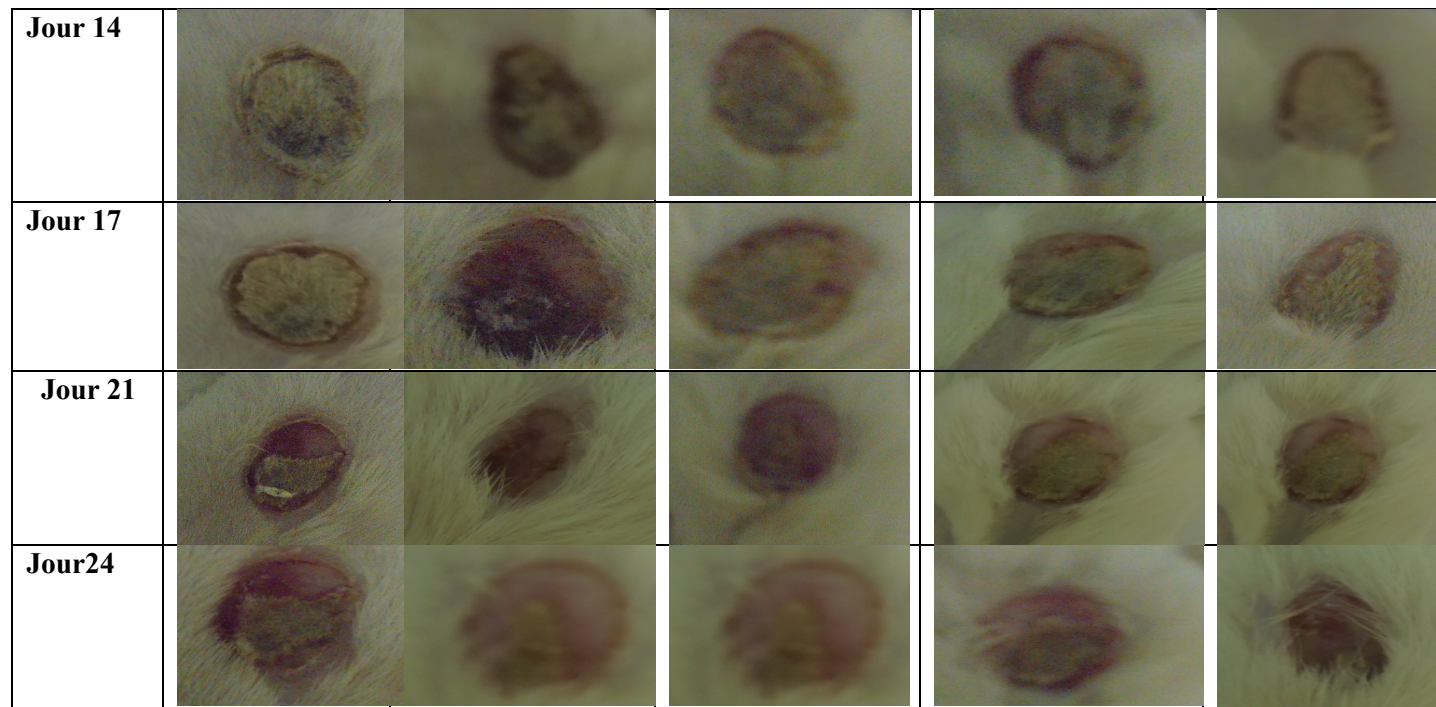


Figure 3: Les surfaces des plaies des brûlures chez les rats du lot référence durant les jours de l'expérimentation.

Annexe 4 :

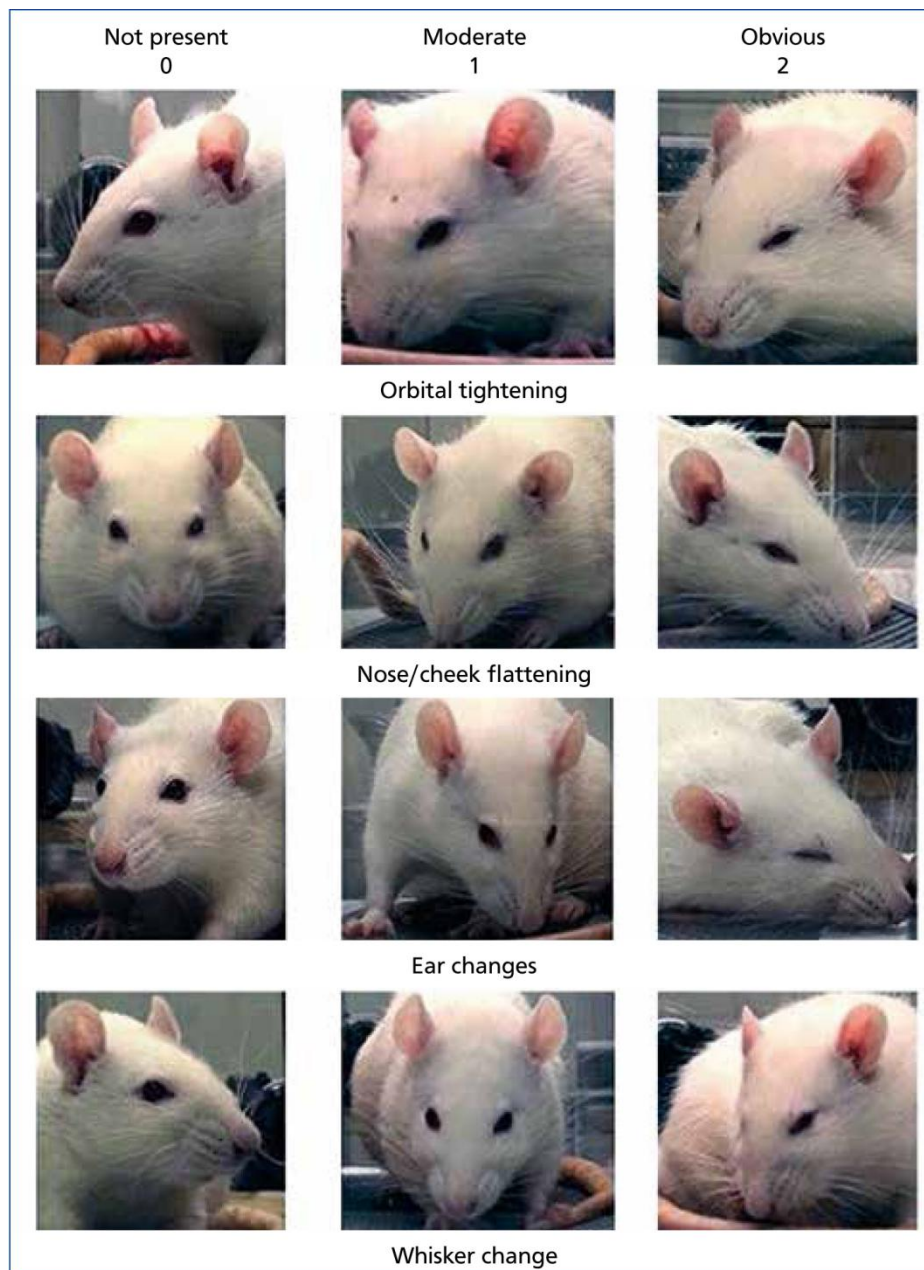


Figure4 : Expression de la douleur chez le rat lors d'application des traitements sur la zone brûlée.

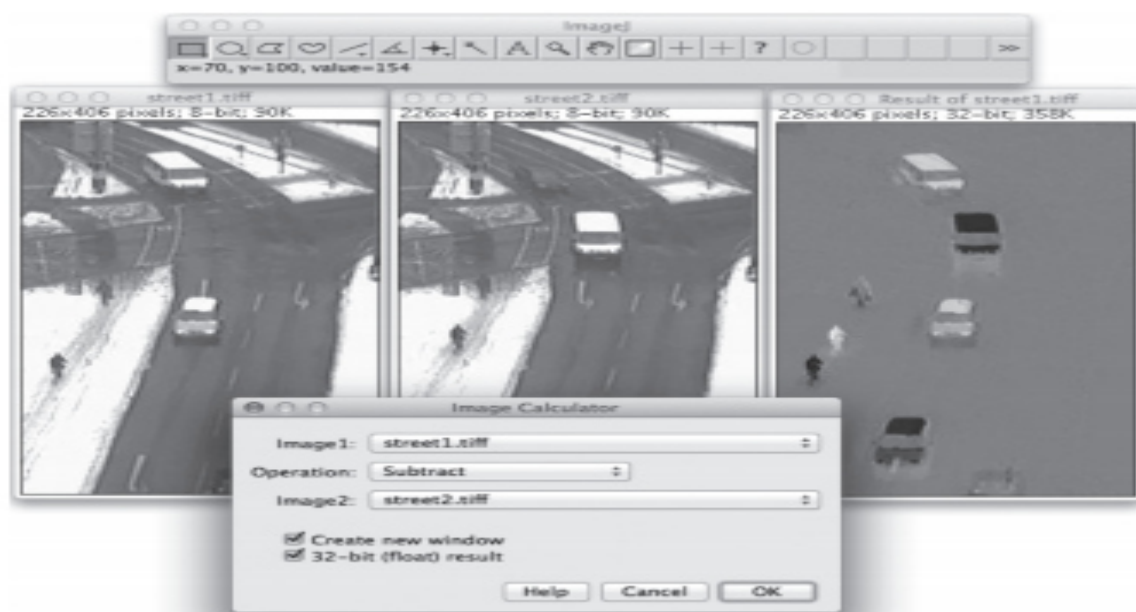
Annexe 5 :

Tableau I :Anesthésiques injectables utiles chez le rat.

Anesthésique	Dose	Effet	Durée de l'anesthésie (min)	Temps sommeil (min)
Alphaxalone/alphadolone	10-12 mg/kg IV	anesthésie chirurgicale	5	10
Alpha-Chloralose	55-65 mg/kg IP	anesthésie légère	480-600	sans réveil seulement
Buprénorphine + Pentobarbita	0.05 mg/kg SC + 36 mg/kg IP	anesthésie chirurgicale	60	180
Etorphine / methotrimeprazine®(Immobilon) + midazolam	0.5 ml/ kg IP	anesthésie chirurgicale	60-70	120-240
Fentanyl + Medetomidine	300ug/kg+300 u/kg IP	anesthésie chirurgicale	60-70	120-360
Hydrate de chloral	400 mg/kg IP	anesthésie chirurgicale légère	60-120	120-180
Inactin	80 mg/kg IP	anesthésie chirurgicale	60-240	120-300, utilisation non recommandée
Kétamine / acépromazine	75 mg/kg + 2.5 mg/kg IP	anesthésie légère	20-30	120

Annexe 6 :**Logiciel ImageJ**

ImageJ est un logiciel multiplateforme, un programme de traitement d'image basé sur Java développé aux National Institutes of Health et au Laboratory for Optical and Computational Instrumentation (LOCI, University of Wisconsin) en 1987. ImageJ peut être exécuté comme une applet en ligne, une application téléchargeable ou sur n'importe quel ordinateur doté d'une machine virtuelle Java 5 ou ultérieure. Des distributions téléchargeables sont disponibles pour Microsoft Windows. ImageJ a été développé pour des applications biomédicales, est un logiciel Java de traitement d'images et d'analyse d'images scientifiques. Il permet de faire des analyses de gels d'électrophorèse, la détection et analyse de tumeurs, et à d'autres domaines, comme la science des matériaux. . ImageJ a un impact important en imagerie biomédicale. Son architecture logicielle ouverte a permis la réalisation de centaines de plugins intégrant parfois les techniques de traitement d'images les plus avancées, est capable de lire un grand nombre de formats d'images



Annexe 7 :

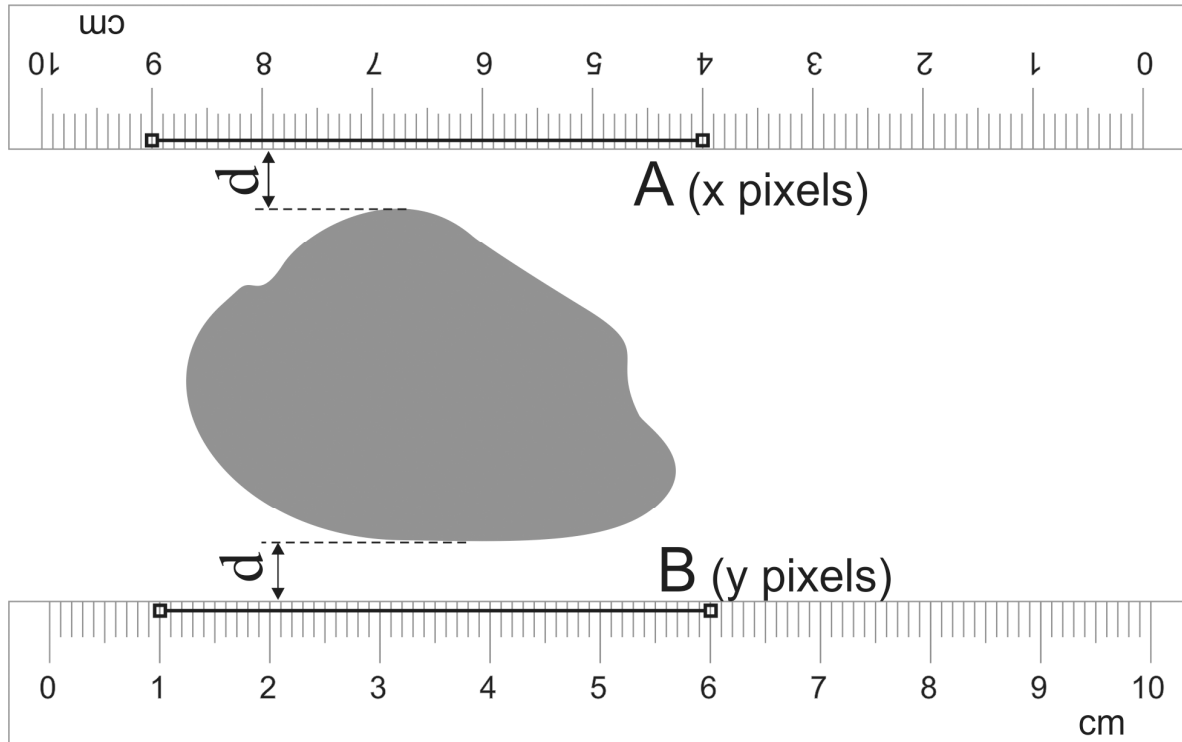


Figure 6: Mesure de la surface de la plaie par planimétrie digitale.

Agzul

Yasakkamgarradenyifuras n tujyai yettusmrasen i udawi n tmeryiwt, ad d- naftuget n inadiyendegumadalfkanazal i tujyatansayt. Dyazereen « tikammin » i wumineqqar s tutlayt n taerabt (el hebbasawdaa). Ttdawin s-yesdegugar n waṭṭanen. ihiiswi n tezrawt-a d asebgén n uzerrer-isyefhellu, wa ad banenyigemmad-isdegtujya, ad nzerdayenazal n yimyaninagamayen i wanecta. Ayenara ad ibanendegyiwén n umedyá n termit n tmeryiwt inessemresyefyiwen n wannaw nyiyerdayen ; « souche wistar » Dyaarmud n helluittuktazel s tirit n useray n yiyerdayen, d timeryiwt n tfesniwttissnat id- yellandeguérur-nsen. Akalayagiyettuæawd-d tikeltdegassdeg gazal n 24 n wussan. Tasledt n yigemmadtella-d s lketyalanemḍandegyigemmad id- ibanhelluyerna s lemyawladegugraw i wumincellezzit d tamment n ; IN« tkammin » segasswis 7 almihlanyakk di 24 n wussan, s tmegla n ugraw i wumincelleldwa n « sulfadiazine », S wayagi i-d ibanuzerrer (asemdu) n tdukkli n sin n yisufar-agi ama d zzit n tekamminama d tammentyefhellu n tmeryiwt s leejlanakkentebyutqaz .

Awallenimwlhen: Tikammin, tamment , timaryiwt.,

Résumé

Malgré la diversité des produits conventionnels utilisés pour le traitement des brûlures, le recours aux remèdes traditionnels a fait l'objet de plusieurs études à travers les années. *Nigella sativa* a été largement utilisée pour le traitement de nombreuses maladies. Notre objectif d'étude est d'élucider l'effet cicatrisant de miel et de l'huile des graines de nigelle dans un modèle de brûlure expérimentale chez le rat par rapport à un témoinet référence « sulfadiazine argentique » appliqué une fois par jour pendant 24 jours. L'activité cicatrisante a été évaluée par induction des brûlures expérimentales du deuxième degré profond chez des rats de souche Wistar. Les résultats montrent une meilleure cicatrisation des animaux du lot mélange par rapport aux autres groupes. Par ailleurs, la guérison des plaies était significativement différente en faveur du lot mélange à partir du 7^{ème} jour et l'application du mélange miel- huile de *Nigella sativa* a considérablement accéléré la guérison des plaies, afin d'atteindre une cicatrisation total au bout de 24 jours. Ces résultats suggèrent que le mélange miel-huile de nigelle peut améliorer la cicatrisation des plaies chez le modèle de rats brûlés au deuxième degré profond et soutenir son utilisation traditionnelle.

Mots clés : *Nigella sativa* L, miel, brûlures, activité cicatrisante.

Abstract

Despite the variety of conventional products used for the treatment of burns, the use of traditional remedies has been the subject of several studies over the years. *Nigella sativa* has been widely used for the treatment of many diseases. Our study objective is to elucidate the healing effect of honey and the oil of black cumin seeds, and their synergy in an experimental burn model in rats compared to a reference testimonial "silver sulfadiazine" applied once a day for 24 days. The healing activity was assessed by induction of experimental deep second degree burns in rats of the Wistar strain. The results show better healing of the animals of the mixed batch compared to the other groups. Furthermore, wound healing was significantly different in favor of the mixed batch from day 7. The honey-oil blend of *Nigella sativa* has also been found to dramatically accelerate wound healing to achieve full healing after 24 days. These results suggest that the honey-black seed oil mixture may improve wound healing in the deep second degree burnt rat model and support its traditional use.

Keywords: *Nigella sativa* L, honey, burn, wound healing.

ملخص:

على الرغم من تنوع الادوية المستخدمة في علاج الحروق ، إلا ان استخدام العلاجات التقليدية كان موضوع العديد من الدراسات ، يتم استخدام حبة البركة على نطاق واسع لعلاج العديد من الأمراض. هدف دراستنا هو توضيح التأثير الشفائي للعسل وزيت بذور حبة البركة، وتأزرهما في نموذج حرق تجريبي في الفئران. تم تقييم نشاط الشفاء عن طريق تحريض حروق تجريبية من الدرجة الثانية العميقة في فئران سلالة ويستار ، السطح الظهري للفئران ، تم تطبيق هذه المراهم موضعياً مرة واحدة يومياً لمدة 24 يوماً. تم تقدير العملية الندبية من خلال القياس الرقمي ، أظهرت النتائج شفاء أفضل لحيوانات المجموعة المختلطة مقارنة بالمجموعات الأخرى التي حصلت على سلفاديازيناالفضة ، علاوة على ذلك ، كان شفاء الجروح مختلفاً بشكل كبير لصالح الدفعة المختلطة من اليوم السابع. تم العثور أيضاً على مزيج زيت العسل و *Nigella sativa* لتسريع التئام الجروح ، والوصول إلى الشفاء الكامل بعد 24 يوماً. تشير هذه النتائج إلى أن قد يحسن خليط زيت حبة السوداء والعسل التئام الجروح في نموذج الفئران المحروقة بحروق من الدرجة الثانية العميقة ويدعم استخدامه التقليدي.

الكلمات المفتاحية: حبة البركة العسل الحروق شفاء الحروق.