



**Université de Limoges**  
**Faculté de Pharmacie**

Année 2017

Thèse N°

Thèse pour le diplôme d'Etat de docteur en Pharmacie

présentée et soutenue publiquement  
le 22 décembre 2017  
par

**Sophie Dutreix**

née le 28 novembre 1991, à Limoges

**« Animaux médicaments » et leurs dérivés : application dans la  
reconstruction tissulaire**

Examineurs de la thèse :

M. le Professeur Alexis DESMOULIERE

Président

M<sup>me</sup> Maryse LEMERCIER, Docteur en pharmacie

Juge

M. Bertrand COURTILOUX, Maître de conférences

Juge

M. Frédéric BONTE, Directeur de la prospective scientifique, LVMH recherche

Juge







**Université de Limoges  
Faculté de Pharmacie**

Année 2017

Thèse N°

**Thèse pour le diplôme d'Etat de docteur en Pharmacie**

présentée et soutenue publiquement  
le 22 décembre 2017

par

**Sophie Dutreix**

née le 28 novembre 1991, à Limoges

**« Animaux médicaments » et leurs dérivés : application dans la  
reconstruction tissulaire.**

Examineurs de la thèse :

M. le Professeur Alexis DESMOULIERE

Président

M<sup>me</sup> Maryse LEMERCIER, Docteur en pharmacie

Juge

M. Bertrand COURTIOUX, Maître de conférences

Juge

M. Frédéric BONTE, Directeur de la prospective scientifique, LVMH recherche

Juge



## Liste des enseignants

---

### PROFESSEURS :

<b>BATTU</b> Serge	CHIMIE ANALYTIQUE
<b>CARDOT</b> Philippe	CHIMIE ANALYTIQUE ET BROMATOLOGIE
<b>DESMOULIERE</b> Alexis	PHYSIOLOGIE
<b>DUROUX</b> Jean-Luc	BIOPHYSIQUE, BIOMATHEMATIQUES ET INFORMATIQUE
<b>FAGNERE</b> Catherine	CHIMIE THERAPEUTIQUE - CHIMIE ORGANIQUE
<b>LIAGRE</b> Bertrand	BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLECULAIRE
<b>MAMBU</b> Lengo	PHARMACOGNOSIE
<b>ROUSSEAU</b> Annick	BIOSTATISTIQUE
<b>TROUILLAS</b> Patrick	CHIMIE PHYSIQUE - PHYSIQUE
<b>VIANA</b> Marylène	PHARMACOTECHNIE

### PROFESSEURS DES UNIVERSITES – PRATICIENS HOSPITALIERS DES DISCIPLINES PHARMACEUTIQUES :

<b>MOESCH</b> Christian	HYGIENE HYDROLOGIE ENVIRONNEMENT
<b>PICARD</b> Nicolas	PHARMACOLOGIE
<b>ROGEZ</b> Sylvie	BACTERIOLOGIE ET VIROLOGIE
<b>SAINT-MARCOUX</b> Franck	TOXICOLOGIE

### ASSISTANT HOSPITALIER UNIVERSITAIRE DES DISCIPLINES PHARMACEUTIQUES :

<b>CHAUZEIX</b> Jasmine	HEMATOLOGIE
-------------------------	-------------

### MAITRES DE CONFERENCES :

<b>BASLY</b> Jean-Philippe	CHIMIE ANALYTIQUE ET BROMATOLOGIE
<b>BEAUBRUN-GIRY</b> Karine	PHARMACOTECHNIE
<b>BILLET</b> Fabrice	PHYSIOLOGIE



<b>CALLISTE</b> Claude	BIOPHYSIQUE, BIOMATHEMATIQUES ET INFORMATIQUE
<b>CLEDAT</b> Dominique	CHIMIE ANALYTIQUE ET BROMATOLOGIE
<b>COMBY</b> Francis	CHIMIE ORGANIQUE ET THERAPEUTIQUE
<b>COURTIOUX</b> Bertrand	PHARMACOLOGIE, PARASITOLOGIE
<b>DELEBASSEE</b> Sylvie	MICROBIOLOGIE-PARASITOLOGIE-IMMUNOLOGIE
<b>DEMIOT</b> Claire-Elise	PHARMACOLOGIE
<b>FROISSARD</b> Didier	BOTANIQUE ET CRYPTOLOGIE
<b>GRIMAUD</b> Gaëlle	CHIMIE ANALYTIQUE ET CONTROLE DU MEDICAMENT
<b>JAMBUT</b> Anne-Catherine	CHIMIE ORGANIQUE ET THERAPEUTIQUE
<b>LABROUSSE</b> Pascal	BOTANIQUE ET CRYPTOLOGIE
<b>LEGER</b> David	BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLECULAIRE
<b>MARION-THORE</b> Sandrine	CHIMIE ORGANIQUE ET THERAPEUTIQUE
<b>MARRE-FOURNIER</b> Françoise	BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLECULAIRE
<b>MERCIER</b> Aurélien	PARASITOLOGIE
<b>MILLOT</b> Marion	PHARMACOGNOSIE
<b>MOREAU</b> Jeanne	MICROBIOLOGIE-PARASITOLOGIE-IMMUNOLOGIE
<b>MUSUAMBA TSHINANU</b> Flora	PHARMACOLOGIE
<b>PASCAUD</b> Patricia	PHARMACIE GALENIQUE – BIOMATERIAUX CERAMIQUES
<b>POUGET</b> Christelle	CHIMIE ORGANIQUE ET THERAPEUTIQUE
<b>VIGNOLES</b> Philippe	BIOPHYSIQUE, BIOMATHEMATIQUES ET INFORMATIQUE

**ATTACHE TEMPORAIRE D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE :**

<b>FABRE</b> Gabin	(01.09.2016 au 31.08.2017) CHIMIE PHYSIQUE - PHYSIQUE
--------------------	--



**LAVERDET** Betty

(1.09.2016 au 31.08.2017)  
PHARMACIE GALENIQUE

**PHAM** Thanh Nhat

(1.09.2016 au 31.08.2017)  
CHIMIE ORGANIQUE - BIOCHIMIE

**PROFESSEURS EMERITES :**

**BUXERAUD** Jacques

**DREYFUSS** Gilles

**LOUDART** Nicole



A la mémoire de mon père,



## Remerciements

---

### A mon jury de thèse

A Monsieur Alexis DESMOULIERE, Professeur de physiologie

Je tiens à vous remercier de m'avoir fait l'honneur de diriger cette thèse et de présider ce jury. Je vous remercie pour l'intérêt porté à mon travail, pour votre disponibilité ainsi que pour toutes les connaissances que vous m'avez transmises au cours de mon cursus universitaire. Veuillez trouver dans ce travail l'expression de ma sincère reconnaissance et de mon profond respect.

A Monsieur Bertrand COURTIoux, Maître de conférences en pharmacologie et parasitologie

Je tiens à vous remercier d'avoir accepté avec enthousiasme d'être membre de ce jury. Je vous remercie pour vos enseignements tout au long de mes études. Soyez assuré de toute mon estime.

A Monsieur Frédéric BONTE, Directeur de la communication scientifique, LVMH Recherche

Je vous remercie pour l'honneur que vous me faites en acceptant d'être membre de ce jury. Veuillez recevoir ici l'expression de toute ma gratitude.

A Madame Maryse LEMERCIER, Docteur en Pharmacie

Je vous remercie pour avoir accepté de juger mon travail mais aussi pour m'avoir formée durant le stage clôturant nos six derniers mois d'études. Votre compétence et vos conseils ont été précieux et me permettent aujourd'hui de m'épanouir dans mon métier.

### Aux personnes ayant contribué à l'élaboration de cette thèse

Je pense notamment à Mireille ARFEUILLE, préparatrice en pharmacie au CHU de Limoges, Yves FAUCHER, cadre de santé à la pharmacie centrale du CHU de Limoges, Ghislaine PAUTARD, infirmière au CHU de Limoges, Marcel DIOURON, pharmacien chez Melibiotech et Stéphanie BILLET, assistante commerciale chez Melipharm.

Je vous remercie pour l'intérêt que vous avez porté à mon travail ainsi que votre aide précieuse.

### A ma famille

A mes parents,

Merci pour vos encouragements et votre soutien tout au long de mes études. Vous m'avez permis de mener à terme mes longues études sans autre souci que d'apprendre.





Merci Maman pour tous les bons petits plats (à l'exception de ton omelette à l'oseille) que je n'ai pas eu à faire quand je révisais.

Merci Alain pour ta patience à toute épreuve concernant l'informatique. Sans toi, j'aurais sûrement jeté mon ordinateur par la fenêtre plus d'une fois.

A ma sœur,

Pour tous les bons moments passés ensemble.

Merci pour nos périodes de révisions concomitantes où il fallait passer à table à 12h00 et non pas 12h01. Ton sens de la rigueur a assurément été un atout majeur dans ma réussite.

A Laura, Laëtitia et Julien,

Pour notre complicité et nos fous rires. Vous êtes les meilleurs cousins du monde, je ne pouvais pas rêver mieux.

A mes grands-parents, mes tantes et mon oncle. Merci pour votre joie de vivre, votre humour et votre authenticité. Vous êtes formidables.

Je voudrais profiter de l'occasion qui m'est ici offerte pour vous remercier pour votre soutien. Je suis fière d'être entourée de gens aussi bons que vous.

### **A mes amis**

Puisque c'est sûrement la seule partie de cette thèse que vous lirez, je vais tâcher de m'appliquer.

A Anne et Amandine,

Merci pour votre amitié sans faille depuis toutes ces années. J'ai parfois eu du mal à trouver le temps de vous voir et vous m'avez manqué. Comme on aime se le dire, la véritable amitié ce n'est pas d'être inséparables mais d'être séparées et que rien ne change. Pour tous les merveilleux moments passés ensemble et ceux qui nous attendent, merci de tout mon cœur !

A Clara et Manon, mes belles rencontres de la fac,

Clara, mon coup de foudre amical ! Du premier jour de la prépa à aujourd'hui, notre amitié a toujours été une évidence. Comme le dit si bien Marc Lévy « tu vois, en amitié on ne passe pas devant le maire, alors il n'y a pas vraiment de date anniversaire, mais ça peut quand même durer toute une vie puisqu'on s'est choisis ». Merci d'être toi.



Manon, il n'existe pas de mots qui puissent exprimer à quel point je suis fière de toi. Merci pour ton aide précieuse durant ces 6 ans, pour ces champignons ramassés et étudiés afin d'être au top le jour de la reconnaissance. Certes, je n'ai pas su reconnaître un cèpe le jour J, mais tu as fait ce que tu as pu pour me transmettre tes connaissances... Merci pour ton amitié, et comme tu le dis si bien : les amitiés tissées à la fac ne sont-elles pas censées durer toute une vie ?

A Charline,

Mon petit Cha', merci pour toutes ces années. Tu m'as permis de comprendre ce qu'était une amitié sincère et la valeur qu'elle avait. Promets-moi de ne pas m'oublier quand tu remporteras l'édition 2022 du meilleur pâtissier.

A mes jolies rencontres liées au basket, (vous vous reconnaissez !)

Merci pour tous les fous rires et les moments exceptionnels que je passe en votre compagnie.

Merci à mes coachs qui m'ont appris à donner le meilleur de moi-même sur un terrain. Grâce à vous, je n'ai jamais lâché non plus dans les moments de révisions les plus difficiles ... !

A Alex, Alice, Diane, Darlène, Mémé Lili, Marjo, Marine, Oliv', Florian, Simon, Georges. Avec plus ou moins de moments partagés, vous m'avez tous accompagnée dans cette « grande aventure ». Je suis contente de vous compter parmi mes amis.

### **A toute l'équipe de la Pharmacie de la Mazelle et de la Pharmacie Lemercier**

Merci pour le temps que vous avez accordé à ma formation. Cette réussite est aussi la vôtre. J'ai été très heureuse de travailler avec chacun d'entre vous et vous souhaite le meilleur pour l'avenir.

### **A Nicolas, Béatrice et Corinne de la Pharmacie des 3 fontaines**

« Choisis un travail que tu aimes et tu n'auras pas à travailler un seul jour de ta vie ». L'adage oublie de préciser qu'exercer un métier que l'on aime avec un patron et des collègues que l'on apprécie autant c'est encore mieux ! Je vous remercie de la confiance que vous me témoignez au quotidien. Je ne pouvais pas rêver mieux.

Corinne, si la vie est semée d'embûches, sache que le seul combat perdu d'avance est celui auquel on renonce. Je suis fière de toi.

A tous ceux que j'oublie puisqu'il y en a forcément.



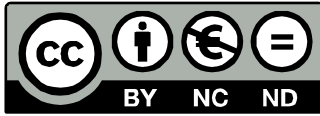
## Droits d'auteurs

---

Cette création est mise à disposition selon le Contrat :

« **Attribution-Pas d'Utilisation Commerciale-Pas de modification 3.0 France** »

disponible en ligne : <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/3.0/fr/>



## Table des matières

Liste des enseignants .....	4
Remerciements .....	8
Droits d’auteurs .....	11
Table des matières .....	12
Table des illustrations .....	16
Table des tableaux.....	18
Liste des abréviations .....	19
Introduction .....	21
PREMIÈRE PARTIE : LA PEAU .....	23
1 Généralités .....	24
1.1 Composition .....	25
1.1.1 Epiderme .....	25
1.1.1.1 Les différentes cellules de l’épiderme .....	25
1.1.1.1.1 Kératinocytes .....	25
1.1.1.1.2 Les mélanocytes .....	26
1.1.1.1.3 Les cellules de Langerhans .....	27
1.1.1.1.4 Les cellules de Merkel .....	27
1.1.1.2 Les différentes couches de l’épiderme .....	29
1.1.1.3 La jonction dermo-épidermique .....	31
1.1.2 Derme.....	32
1.1.3 Hypoderme.....	34
1.1.4 Annexes cutanées.....	34
1.1.4.1 Les glandes sudoripares .....	34
1.1.4.2 Les glandes sébacées .....	35
1.1.4.3 Les follicules pileux.....	36
1.1.4.4 L’appareil unguéal .....	36
1.2 Vascularisation et innervation cutanée .....	37
1.2.1 Vascularisation .....	37
1.2.1.1 Le réseau artériel.....	39
1.2.1.2 Le réseau veineux .....	39
1.2.1.3 Le réseau lymphatique .....	39
1.2.2 Innervation cutanée.....	40
1.2.2.1 L’innervation sensitive .....	40
1.2.2.2 L’innervation végétative .....	40
1.3 Fonctions physiologiques .....	41
1.3.1 Rôle de barrière.....	41
1.3.1.1 Barrière antimicrobienne et immunitaire .....	41
1.3.1.2 Barrière physique .....	42
1.3.1.3 Barrière chimique .....	42
1.3.1.4 Barrière contre le rayonnement solaire .....	42
1.3.2 Rôle sensitif.....	43
1.3.3 Rôle métabolique .....	44
1.3.3.1 La thermorégulation.....	44
1.3.3.2 Synthèse de vitamine D3.....	45



2	Altération de la barrière cutanée .....	46
2.1	Définition .....	46
2.2	Classification des plaies .....	46
2.2.1	Les plaies aiguës .....	46
2.2.1.1	Plaies d'origine chirurgicale .....	46
2.2.1.2	Plaies d'origine traumatique .....	46
2.2.1.2.1	Les brûlures .....	46
2.2.1.2.2	Dermabrasions .....	48
2.2.1.2.3	Morsures .....	48
2.2.1.2.4	Gelures .....	48
2.2.2	Les plaies chroniques .....	49
2.3	Processus de cicatrisation .....	49
2.3.1	Phase vasculaire et inflammatoire .....	50
2.3.1.1	Phase vasculaire .....	50
2.3.1.2	Phase inflammatoire .....	53
2.3.2	Phase de reconstitution tissulaire .....	54
2.3.2.1	Formation du tissu de granulation .....	54
2.3.2.2	Contraction de la plaie .....	55
2.3.2.3	Réépithélialisation .....	55
2.3.3	Phase de maturation .....	56
2.3.4	Cicatrisation pathologique .....	58
2.3.5	Reconstruction des tissus : de la simple plaie à la greffe de peau .....	60
DEUXIÈME PARTIE : L'ANIMAL UTILISÉ DANS SON INTÉGRITÉ COMME		
MÉDICAMENT .....		
1	Les sangsues médicinales : l'hirudothérapie .....	62
1.1	Espèces utilisables .....	62
1.1.1	Présentation des sangsues médicinales .....	63
1.1.1.1	Taxonomie .....	63
1.1.1.2	Morphologie générale .....	63
1.1.1.3	Mode de vie .....	65
1.2	Intérêt de l'hirudothérapie dans la guérison d'une plaie .....	65
1.2.1	Indications .....	66
1.2.2	Mécanisme d'action .....	69
1.2.2.1	Rappel sur l'hémostase .....	69
1.2.2.2	Action sur l'hémostase .....	72
1.2.2.3	Activité anti-inflammatoire .....	73
1.2.2.4	Action sur la vasomotricité .....	74
1.2.2.5	Action sur la perméabilité tissulaire .....	74
1.2.2.6	Action anesthésiante .....	75
1.3	Utilisation pratique .....	77
1.3.1	De l'hirudiniculteur à l'application au CHU de Limoges .....	77
1.3.1.1	Circuit d'approvisionnement .....	77
1.3.1.2	Conditions de conservation .....	77
1.3.1.3	Répartition des sangsues dans les services .....	77
1.3.1.4	Protocole d'utilisation des sangsues .....	78
1.3.1.5	Contre-indications .....	80
1.3.1.6	Complications .....	81
2	Les asticots : la larvothérapie .....	82



2.1	Historique.....	82
2.2	Espèces utilisables .....	83
2.3	Présentation de <i>Lucilia sericata</i> .....	85
2.3.1.1	Classification .....	85
2.3.1.2	Forme adulte .....	85
2.3.1.3	Forme larvaire .....	86
2.3.1.4	Cycle de développement .....	86
2.4	Mécanisme d'action .....	88
2.4.1	Détersion des plaies.....	88
2.4.1.1	Action mécanique .....	88
2.4.1.2	Action enzymatique .....	88
2.4.2	Action antimicrobienne.....	89
2.4.3	Stimulation de la guérison cutanée .....	92
2.5	Intérêt de la larvothérapie dans la cicatrisation d'une plaie .....	95
2.6	Application clinique .....	96
2.6.1	Protocole d'application des larves.....	96
2.6.1.1	Forme libre .....	96
2.6.1.2	Forme pansement : Biobag®.....	99
2.6.2	Chronologie d'un traitement par Biobag® .....	99
2.6.3	Résultats .....	101
2.6.4	Avantages .....	101
2.7	Limites .....	102
2.7.1	Contre-indications .....	102
2.7.2	Effets indésirables .....	103
2.7.3	Inconvénients .....	103
2.7.3.1	Aspect inesthétique .....	103
2.7.3.2	Durée de vie .....	103
2.7.3.3	Risque de contamination .....	104
2.7.3.4	Manque d'études .....	104
TROISIÈME PARTIE : LES PRODUITS DÉRIVÉS DE L'ANIMAL .....		106
1	L'apithérapie : cicatrisation par le miel .....	107
1.1	Présentation du miel .....	107
1.2	Formation du miel .....	108
1.3	Miel utilisé .....	111
1.4	Composition.....	112
1.5	Mode d'action et intérêt du miel dans le processus de cicatrisation.....	114
1.5.1	Activité antimicrobienne .....	114
1.5.2	Activité anti-inflammatoire .....	122
1.5.3	Détersion des plaies par le miel .....	124
1.5.4	Action désodorisante du miel .....	124
1.5.5	Stimulation de la croissance cellulaire et activité immunomodulatrice.....	124
1.5.6	Activité anti-oxydante .....	126
1.5.7	Activité analgésique .....	126
1.6	Indications.....	127
1.7	Application clinique : exemple du protocole de soins utilisé au CHU de Limoges	128
1.7.1	Accord du patient .....	128
1.7.2	Approvisionnement des services par la pharmacie centrale.....	129



1.7.3	Technique de pansement.....	130
1.7.3.1	Stade de déterision .....	130
1.7.3.2	Stade de bourgeonnement .....	130
1.7.3.3	Stade d'épithélialisation .....	131
1.8	Dispositifs médicaux à base de miel disponibles en France .....	132
1.9	Effets indésirables et contre-indications .....	132
1.9.1	Effets indésirables .....	132
1.9.2	Contre-indications .....	133
2	Chitine et chitosane .....	134
2.1	Historique.....	134
2.2	Présentation.....	134
2.3	Préparation de la chitine et du chitosane.....	136
2.4	Propriétés .....	138
2.5	Polymères utilisés dans la guérison des plaies .....	139
2.6	Mode d'action .....	140
2.7	Applications cliniques .....	144
2.8	Effets indésirables et contre-indications .....	147
	Conclusion .....	148
	Références bibliographiques .....	149
	Références webographiques .....	161



## Table des illustrations

Figure 1 : Coupe de peau humaine .....	24
Figure 2 : Les différentes cellules de l'épiderme.....	28
Figure 3 : Structure et interactions moléculaires de la jonction dermo-épidermique .....	32
Figure 4 : Les annexes cutanées .....	37
Figure 5 : La vascularisation cutanée .....	38
Figure 6 : Activation plaquettaire .....	52
Figure 7 : Les phases de la réparation cutanée.....	57
Figure 8 : Coupe longitudinale d' <i>Hirudo medicinalis</i> d'après K.H. Mann, 1962 .....	64
Figure 9 : Cas d'hirudothérapie chez un patient de 94 ans .....	68
Figure 10 : La cascade de coagulation .....	71
Figure 11 : Action des composés salivaires d' <i>Hirudo medicinalis</i> au niveau de l'hémostase	75
Figure 12 : Répartition de l'utilisation de sangsues dans les différents services .....	78
Figure 13 : Larves de mouche verte, <i>Lucilia sericata</i> .....	83
Figure 14 : Mouche verte, <i>Lucilia sericata</i> .....	84
Figure 15 : Schéma général d'une mouche, dessin de C. Schneider, muséum national d'histoire naturel (MNHN) .....	86
Figure 16 : Cycle de développement de <i>Lucilia sericata</i> .....	87
Figure 17: Résumé de l'action des sécrétions larvaires au niveau d'une plaie.....	95
Figure 18 : Protocole d'application de larves libres .....	98
Figure 19: Protocole de traitement par Biobag®.....	99
Figure 20: Chronologie d'un traitement par Biobag®.....	100
Figure 21: Evolution d'une brûlure du pied chez un patient diabétique de 48 ans traité par larvothérapie .....	101
Figure 22: Anatomie interne d'une abeille ouvrière .....	109
Figure 23: Hydrolyse du saccharose sous l'action de l'invertase.....	109
Figure 24: La trophallaxie des abeilles .....	110
Figure 25: Oxydation du glucose par la glucose oxydase en milieu aérobie .....	115
Figure 26: Résultats d'une étude menée au CHU de Nîmes sur les propriétés antibactériennes du DM Melipharm .....	117
Figure 27: Représentation schématique des effets de l'osmolarité du miel.....	119
Figure 28: Effet anti-inflammatoire du miel .....	123
Figure 29: Résumé des différentes cibles d'action du miel.....	127
Figure 30 : Synthèse du chitosane à partir de la chitine .....	135





Figure 31: Structure de la chitine, du chitosane et de la cellulose..... 136

Figure 32: Méthode de production de la chitine et du chitosane d'après Onsoyen et Skaugrud ..... 137

Figure 33: Cicatrisation au jour 0, 3, 6, 9 et 12 après un traitement par fibres de chitosane et fibres de TMC ..... 146



## Table des tableaux

---

Tableau 1 : Principales causes de retard de cicatrisation.....	59
Tableau 2 : Les différents facteurs de coagulation .....	69
Tableau 3 : Résumé de l'action des composants salivaires d' <i>Hirudo medicinalis</i> .....	76
Tableau 4 : Contre-indications à l'utilisation des sangsues .....	81
Tableau 5: Composition moyenne des miels européens .....	114
Tableau 6 : Résultats de l'étude menée sur des souris infectées par <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	145



## Liste des abréviations

---

5-HT : 5-hydroxytryptamine (sérotonine)

ADN : acide désoxyribonucléique

ADP : adénosine diphosphate

AMP : peptide antimicrobien

ANSM : agence nationale de la sécurité du médicament et des produits de santé

ATU : autorisation temporaire d'utilisation

bFGF : basic fibroblast growth factor

BMR : bactérie multi-résistante

CD : cluster de différenciation

CE : communauté européenne

CHU : centre hospitalo-universitaire

CMC : N,N-carboxymethyl chitosane

CMTCM : O-carboxymethyl-N,N,N-trimethyl chitosane

CSP : code de la santé publique

DA : degré de désacétylation

DASRI : déchets d'activités de soins à risques infectieux

DLU : date limite d'utilisation

DM : dispositifs médicaux

EGF : epidermal growth factor

FGF-2 : fibroblast growth factor-2

FHL : film hydrolipidique

FT : facteur tissulaire

GAG : glycosaminoglycane

GlcN : glucosamine

GlcNAc : N-acétyl-glucosamine

GP : glycoprotéine

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> : peroxyde d'hydrogène

HCl : acide chlorhydrique

IGF : insulin growth factor

IL : interleukine

JDE : jonction dermo-épidermique

KGF : keratinocyte growth factor



KMnO<sub>4</sub> : permanganate de potassium  
LCI : leech carboxypeptidase inhibitor  
LDTI : leech-derived tryptase inhibitor  
MAMP : microorganism associated molecular pattern  
MEC : matrice extracellulaire  
MGO : méthylglyoxal  
NaOCl : hypochlorite de sodium  
NaOH : hydroxyde de sodium  
NHS : national health service  
NMF : natural moisturizing factor  
OMS : organisation mondiale de la santé  
OPN : ostéopontine  
PAF : platelet activating factor  
PAI : plasminogen activator inhibitor  
PDGF : platelet-derived growth factor  
PF4 : platelet factor 4  
pH : potentiel hydrogène  
PMN : polymorphonucléaire neutrophile  
SARM : *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline  
TGF : transforming growth factor  
TMC : trimethyl chitosane  
TN-C : ténascine C  
TNF : tumor necrosis factor  
TSP : thrombospondine  
TXA2 : thromboxane A2  
UFC : unités formant colonies  
UMF : unique manuka factor  
UV : ultraviolet  
vWF : facteur de von Willebrand  
VEGF : vascular endothelial growth factor



## Introduction

---

La cicatrisation est une propriété fondamentale du vivant : lors d'un traumatisme comme une blessure, une brûlure ou dans les suites d'un acte chirurgical la peau se régénère spontanément chez les sujets sains. Cette propriété confère à la peau son rôle protecteur et contribue au maintien de l'homéostasie de l'organisme.

En France, les plaies représentent aujourd'hui un problème de santé publique majeur puisqu'elles concernent plusieurs millions de personnes et engendrent des coûts considérables. Par exemple, en 2012, on estimait à 660 millions d'euros les dépenses spécifiques au pied diabétique (Rapport CNAMTS, 2016) et à près d'un milliard d'euros les dépenses d'assurance maladie remboursées en 2011 pour les escarres et les ulcères soignés à domicile (Ameli, 2015).

Hormis l'impact socio-économique engendré par la chronicité des plaies, un autre problème se pose. En effet, l'émergence de bactéries multi-résistantes inquiète.

Le 27 février 2017, l'organisation mondiale de la santé (OMS) tire la sonnette d'alarme et publie sa première liste « d'agents pathogènes prioritaires » résistants aux antibiotiques. Les options thérapeutiques s'amenuisent rapidement face à la résistance de certaines bactéries aux antibiotiques.

Devant le besoin urgent de développer de nouveaux antibiotiques, pourquoi ne pas reconsidérer certaines options thérapeutiques ?

Voltaire disait « l'art de la médecine consiste à distraire le malade pendant que la nature le guérit ». Depuis les temps les plus anciens, l'Homme puise dans la nature les ressources nécessaires pour se soigner. Aujourd'hui, si l'animal fait souvent office de support expérimental en médecine, il ne faut pas oublier son utilisation en tant que médicament.

Cette thèse a pour objectif l'étude des « animaux médicaments » que l'on pourrait définir, en faisant le parallèle avec la définition du médicament donnée à l'article L5111-1 du code de la santé publique (CSP), comme possédant des propriétés « curatives ou préventives ». Dans cette perspective, l'objet de cette thèse se limitera ici à l'utilisation des « animaux médicaments » et de leurs dérivés à l'égard des plaies, qu'elles soient aiguës ou chroniques.



Dans un premier temps, nous ferons un rappel sur la physiologie de la peau et ses mécanismes de réparation, essentiels à la compréhension des chapitres suivants.

Nous nous attacherons dans un deuxième temps aux fondements de l'intérêt thérapeutique que génèrent les sangsues et les asticots. Pour cela, nous tenterons d'élucider les mécanismes mis en jeu par ces « animaux médicaments » qui présentent un intérêt pour la médecine moderne.

Enfin, dans un troisième temps, nous focaliserons notre attention sur les produits dérivés des animaux utilisés dans la cicatrisation cutanée : le miel, la chitine et le chitosane.



# PREMIÈRE PARTIE : LA PEAU

---



# 1 Généralités

Barrière entre le milieu extérieur et le milieu intérieur de notre organisme, la peau est l'organe du corps humain le plus lourd et le plus étendu. Indispensable à la vie, elle pèse près de 4 kg et recouvre une surface moyenne de 2 m<sup>2</sup> chez l'adulte (Mélissopoulos et Levacher, 2012).

Cet organe de revêtement aux rôles multiples est constitué de 3 couches tissulaires superposées et communicantes (figure 1).

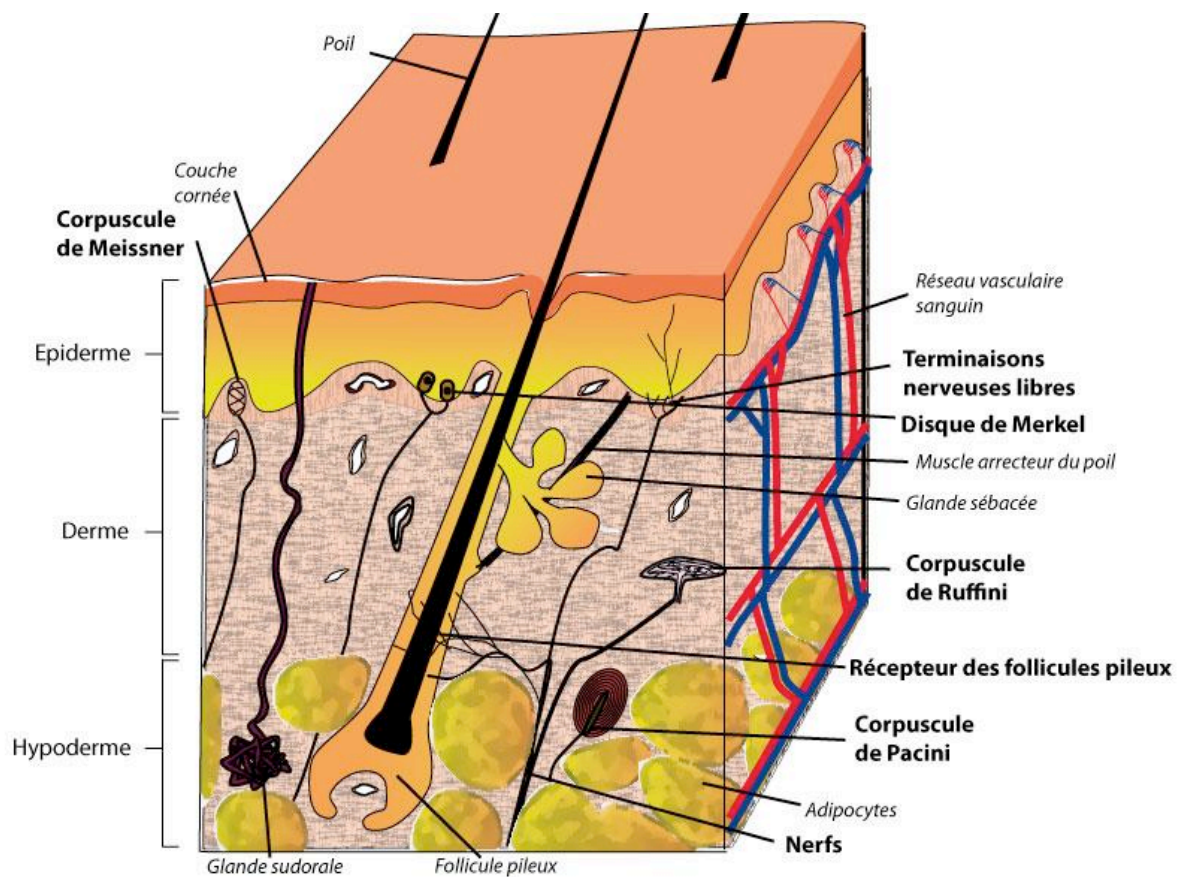


Figure 1 : Coupe de peau humaine

(<https://lejournal.cnrs.fr/articles/quand-le-toucher-decline>)



D'un point de vue structural, on distingue (de la surface vers la profondeur) :

- l'épiderme, tissu le plus superficiel ;
- le derme, tissu intermédiaire ;
- l'hypoderme, tissu le plus profond.

La peau, également appelée tégument, associe à ces trois couches des annexes (follicules pileux, glandes sudoripares, glandes sébacées *etc.*) (figure 4).

## 1.1 Composition

### 1.1.1 Epiderme

L'épiderme se définit comme étant un épithélium squameux stratifié kératinisé, au contact direct de l'environnement extérieur.

Son épaisseur avoisine les 100  $\mu\text{m}$  en moyenne (Martini, 2003) mais reste variable selon sa localisation ; au niveau palmo-plantaire l'épiderme s'épaissit jusqu'à atteindre les 150  $\mu\text{m}$  tandis qu'il s'amenuise à 50  $\mu\text{m}$  au niveau des paupières (Mélissopoulos et Levacher, 2012).

Constitué de cellules vivantes, ce tissu desquame et se renouvelle continuellement (tous les 28 jours en moyenne).

L'épiderme est innervé mais à l'inverse du derme il n'est pas vascularisé.

Quatre types de cellules vivent en symbiose au niveau de l'épiderme : les kératinocytes, les mélanocytes, les cellules de Langerhans et les cellules de Merkel.

#### 1.1.1.1 Les différentes cellules de l'épiderme

(figure 2)

##### 1.1.1.1.1 Kératinocytes

Les kératinocytes, cellules épithéliales majoritaires de l'épiderme, représentent environ 90% des cellules épidermiques.

Les kératinocytes reliés entre eux par des desmosomes, établissent également une liaison solide avec le derme ; en effet, les cellules basales s'ancrent à la jonction dermo-épidermique (JDE) grâce aux hémidesmosomes. Les desmosomes sont des jonctions d'ancrage intervenant dans des liaisons cellule-cellule tandis que les hémidesmosomes interviennent dans des liaisons cellule-matrice extracellulaire (MEC).



Superposés les uns sur les autres à l'image d'un « mur de briques », les kératinocytes donnent à l'épiderme ses caractéristiques morphologiques.

Les kératinocytes assurent plusieurs fonctions dont :

- la cohésion de l'épiderme ;
- un rôle de barrière entre le milieu intérieur et l'extérieur ;
- une activité immunologique : les kératinocytes synthétisent et sécrètent des cytokines anti-inflammatoires et pro-inflammatoires ;
- un rôle de photoprotection : grâce à la phagocytose des mélanosomes.

Ils subissent un processus de kératinisation qui associe migration et différenciation des kératinocytes ; leur morphologie évolue en raison de leur enrichissement progressif en kératine.

Les kératinocytes engagés dans le processus de kératinisation comprennent trois populations cellulaires différentes : les cellules souches situées dans la couche basale qui, en se divisant donnent naissance à deux cellules filles ; l'une va migrer vers la couche granuleuse tandis que l'autre conserve ses propriétés de cellules souches et reste sur place pour se diviser à nouveau (Mélissopoulos et Levacher, 2012). L'existence de cellules souches assure donc un renouvellement constant de l'épiderme. En migrant verticalement de la couche basale vers les couches les plus superficielles, le kératinocyte s'aplatit, perd son noyau et se différencie en cornéocytes.

Ces cellules mortes anucléées et aplaties forment à la surface de la peau la couche cornée (*Stratum corneum*).

#### 1.1.1.1.2 Les mélanocytes

Les mélanocytes sont des cellules dendritiques pigmentogènes qui peuvent être assimilées à de petites usines consacrées à la synthèse d'un pigment : la mélanine.

Ils reposent sur la lame basale de l'épiderme mais sont également retrouvés dans la partie inférieure des follicules pileux.

Leur répartition à la surface du corps est hétérogène ; on en trouve davantage au niveau des organes génitaux, du visage et du cuir chevelu (Mélissopoulos et Levacher, 2012).

Cette population cellulaire s'intercale entre les kératinocytes. On retrouve en moyenne un mélanocyte pour 36 kératinocytes et l'ensemble constitue une unité mélanocytaire (Martini, 2003). C'est au sein de cette unité que se produit le transfert des mélanosomes, des organites intracellulaires spécifiques aux mélanocytes qui sont le lieu de synthèse et de stockage de la mélanine. Les mélanosomes migrent vers les prolongements des mélanocytes et sont transférés aux kératinocytes pour assurer la pigmentation de l'épiderme ainsi que sa protection contre les rayons ultraviolets (UV).

La mélanine est un pigment responsable de la couleur de la peau et des poils. On distingue essentiellement deux types de mélanine : l'eumélanine (de couleur brun-noir) et la phéomélanine (de couleur jaune-orangé).

Le rôle photoprotecteur des mélanocytes s'explique par le fait que la mélanine absorbe le rayonnement UV et assure ainsi notamment la protection du code génétique (l'acide désoxyribonucléique ou ADN) contenu dans les cellules.

#### **1.1.1.1.3 Les cellules de Langerhans**

Elles représentent environ 2 à 5% des cellules épidermiques (Mélissopoulos et Levacher, 2012).

Situées préférentiellement au niveau de la couche épineuse de l'épiderme (voir plus bas), ces cellules dendritiques mobiles jouent un rôle clé dans l'immunité cutanée.

Leur mobilité leur permet d'atteindre les organes lymphoïdes secondaires en cas de contact avec un antigène. « Les cellules de Langerhans, ayant capturé un antigène quittent l'épiderme et la peau par les voies lymphatiques pour rejoindre les zones T ganglionnaires où elles présentent cet antigène aux lymphocytes T naïfs et induisent ainsi une réponse immune primaire » (Schmitt, 2004).

Les cellules de Langerhans naissent au niveau de la moelle osseuse et migrent ensuite vers l'épiderme. Durant leur migration à travers les différentes couches de la peau, les cellules de Langerhans subissent un processus de maturation et passent ainsi du statut de cellules immatures au statut de cellules matures, aussi connues sous le nom de cellules interdigitées. La migration des cellules de Langerhans serait stimulée par des cytokines pro-inflammatoires, l'interleukine 1 (IL-1) et le facteur de nécrose tumorale (TNF $\alpha$ ), produites par les kératinocytes et les cellules de Langerhans elles-mêmes.

La production de cytokines pro-inflammatoires fait suite à des stimuli d'origines diverses (contact avec des allergènes, rayons ultraviolets, blessure entraînant une atteinte de l'intégrité de l'épiderme *etc.*).

A l'inverse, les cytokines anti-inflammatoires incluant l'IL-10 inhibent la migration des cellules de Langerhans et permettent un retour à la normale.

Ainsi, on suppose que la migration des cellules de Langerhans repose sur un déséquilibre entre les taux de cytokines pro-inflammatoires et de cytokines anti-inflammatoires (Wang et *al.*, 2015).

#### **1.1.1.1.4 Les cellules de Merkel**

Les cellules de Merkel sont peu nombreuses au sein de l'épiderme.

Situées sous la crête des papilles dermiques de la peau glabre, ces cellules possèdent des prolongements cytoplasmiques qui s'insinuent entre les kératinocytes basaux (Pritchard et Thomas, 2002).



Les cellules de Merkel jouent un rôle de mécanorécepteur et, situées au contact de terminaisons nerveuses, elles captent les vibrations du milieu environnant. Elles transmettent ensuite les informations aux terminaisons nerveuses, ce qui explique leur implication dans la perception sensorielle.

Ces cellules neuro-épithéliales dont la tâche reste encore mal connue jouent un rôle fondamental dans la fonction de tact (on pense que ce sont essentiellement ces cellules qui entrent en jeu lors de l'utilisation du code braille) mais on leur reconnaît également un rôle de neurosécrétion.

La forte concentration en granules neurosécrétoires au sein de leur cytoplasme permet de réguler l'activité de la terminaison nerveuse.

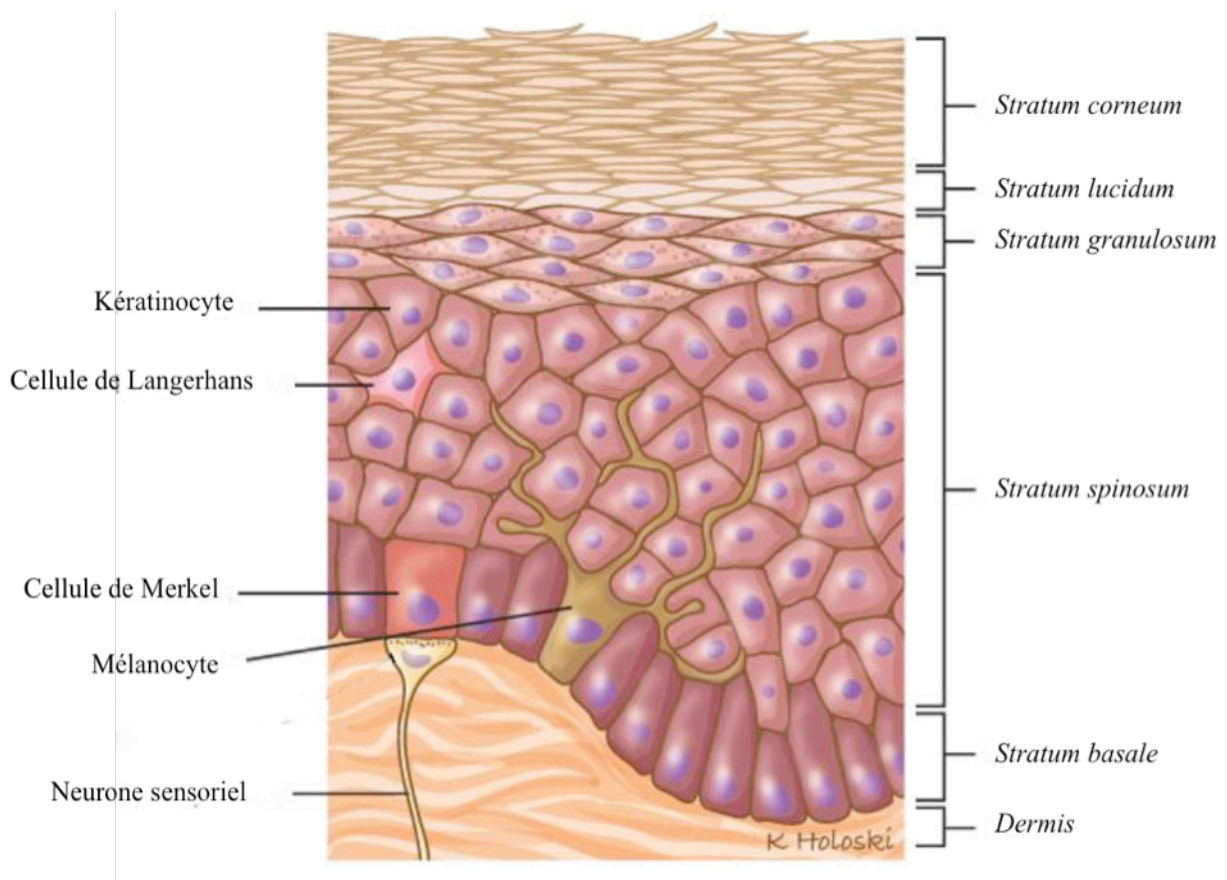


Figure 2 : Les différentes cellules de l'épiderme

(Adapté de : <http://www.headandneckcancerguide.org/adults/introduction-to-head-and-neck-cancer/skin-cancer/anatomy/>)

### 1.1.1.2 Les différentes couches de l'épiderme

(Figure 2)

- **La couche basale** : *Stratum germinativum* ou *Stratum basale*

La couche basale, également appelée couche germinative, est la plus profonde des couches de l'épiderme.

Elle est constituée d'une seule assise de cellules contenant essentiellement des kératinocytes. Cette couche située directement au contact de la JDE se distingue des autres couches par l'activité mitotique intense de ses cellules.

Les kératinocytes s'y divisent avant d'entamer leur migration vers les couches supérieures de l'épiderme.

- **La couche épineuse** : *Stratum spinosum*

Cette couche, également appelée corps muqueux de Malpighi, est constituée de plusieurs assises de kératinocytes (5 à 6 couches). Les kératinocytes formant cette couche ne sont en fait que des cellules filles issues des kératinocytes basaux.

Ces cellules sont solidement reliées les unes aux autres par un grand nombre de desmosomes qui leur confèrent une allure hérissée d'épines d'où le nom de couche épineuse.

- **La couche granuleuse** : *Stratum granulosum*

Les kératinocytes de la couche épineuse s'aplatissent progressivement pour donner naissance à 3 couches de kératinocytes aplatis : c'est la couche granuleuse.

Le nom de cette couche repose sur le fait qu'on observe l'apparition de granulations dans le cytoplasme de ces kératinocytes. Les kératinocytes synthétisent deux types de granulations : la *kératohyaline* qui produit la profilaggrine, précurseur de la filaggrine indispensable à l'agrégation des cellules de la couche cornée, et les *kératinosomes* encore appelés corps lamellaires d'Odland qui relâchent des lipides jouant un rôle de ciment intercellulaire (Martini, 2003) (Mélissopoulos et Levacher, 2012).

Cette zone de transition, qui sépare les cellules vivantes des couches basales et épineuses de celles dites « mortes » dans la couche cornée, est le lieu d'un remodelage important des cellules. En effet, les organites cytoplasmiques ainsi que la chromatine nucléaire se raréfient dans ces cellules car elles ont débuté un processus d'apoptose.

- **La couche cornée** : *Stratum corneum*

C'est la couche la plus externe de l'épiderme.

Cette couche peut être précédée de la couche claire (*Stratum lucidum*) lorsque la peau est épaisse (paumes des mains et plantes des pieds essentiellement).

Constituée de 4 à 20 couches de cellules complètement kératinisées, cette couche conclut le processus de kératinisation. Une fois les kératinocytes complètement différenciés on parle de cornéocytes, qui sont anucléés et entièrement kératinisés.

Parallèlement, les desmosomes responsables de la cohésion des kératinocytes se densifient et se transforment en cornéodesmosomes. La cohésion des kératinocytes est assurée d'une part par la présence de ces cornéodesmosomes et d'autre part par la présence d'un ciment intercellulaire constitué d'acides gras polyinsaturés, de cholestérol et de céramides.

La couche cornée se subdivise en 2 couches distinctes :

- la couche compacte (*Stratum compactum*) où les cellules sont étroitement liées les unes aux autres ;
- la couche desquamante (*Stratum disjonctum*) où les cellules perdent leur cohésion, ce qui aboutit à la desquamation vers le milieu extérieur.

La desquamation est le résultat de l'action d'enzymes protéolytiques fournies par les kératinosomes sur la cornéodesmosine, une protéine assurant la liaison entre les cornéodesmosomes.

Le processus de kératinisation permet donc le renforcement des kératinocytes tout au long de leur migration ; ainsi, les couches les plus superficielles de l'épiderme deviennent de plus en plus résistantes.

La couche cornée joue donc un rôle primordial dans la fonction barrière de la peau. Sa teneur en eau et en lipides permet d'une part le maintien d'un niveau d'hydratation satisfaisant et assure d'autre part la protection contre les pathogènes présents à sa surface comme nous le verrons par la suite.



### 1.1.1.3 La jonction dermo-épidermique

La JDE est une fine membrane basale (100 nm) (Schmitt, 1995) s'insinuant entre l'épiderme et le derme (figure 3).

Cette jonction est constituée de trois feuillets (de l'épiderme vers le derme) : la *lamina lucida*, la *lamina densa* et la *sub lamina densa*.

La *lamina lucida* se distingue par la présence d'hémidesmosomes et de filaments d'ancrage riches en laminine-5. La laminine-5, protéine d'adhérence impliquée dans la réépithélialisation, est exprimée par les kératinocytes migratoires au cours des phases précoces de réparation cutanée (Helbert, 2003). Ces structures caractéristiques relient les kératinocytes basaux de l'épiderme à la lame basale et assurent ainsi l'adhésion du derme et de l'épiderme.

La *lamina densa* est composée majoritairement de collagène de type IV, élément structural important qui n'existe que dans les lames basales. Il confère à la lame sa rigidité et sa force. Ce feuillet se compose également de glycoprotéines (laminine, nidogène, perlécan).

La *sub lamina densa*, quant à elle, se démarque des autres couches par la présence abondante de collagène de type VII, composant des fibres d'ancrage, indispensables à la cohésion dermo-épidermique.

Chez la personne jeune, la JDE présente une structure ondulée qui tend à s'aplanir avec l'âge, réduisant ainsi la surface d'échanges entre les deux structures épiderme et derme.

Hormis son rôle de cohésion, cette interface joue des rôles importants dans le processus de cicatrisation (Nicolas, 1993) puisqu'elle permet la migration de divers types cellulaires, dont les kératinocytes et les lymphocytes, lors des processus inflammatoires. La JDE est également impliquée dans le maintien de l'intégrité cutanée en filtrant les échanges moléculaires et cellulaires entre le derme et l'épiderme.



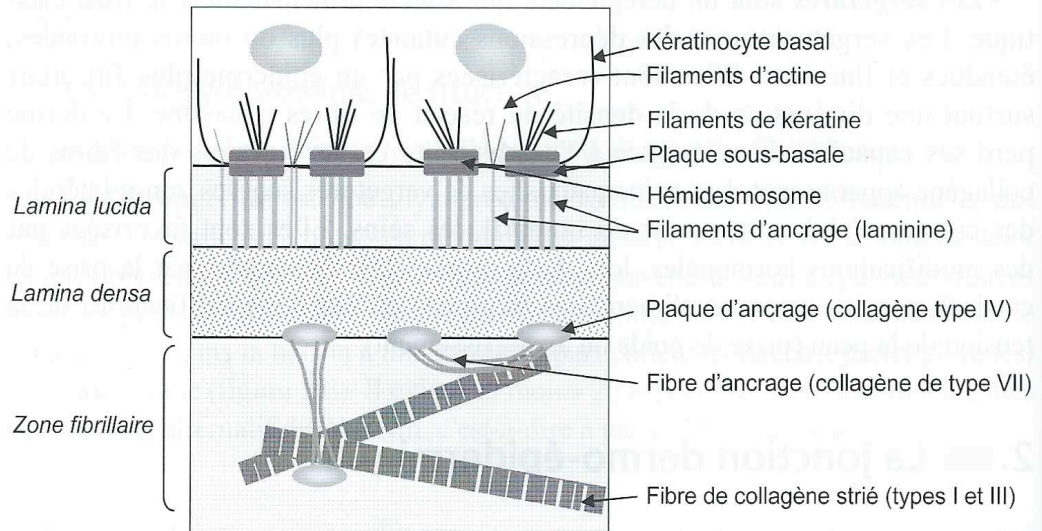


Figure 3 : Structure et interactions moléculaires de la jonction dermo-épidermique (d'après Breitzkreutz et *al.*, 2009)  
(Mélissopoulos et Levacher, 2012)

### 1.1.2 Derme

D'origine mésenchymateuse, le derme est un tissu conjonctif fibro-élastique qui a essentiellement une fonction de soutien de la peau.

Histologiquement, le derme se subdivise en trois zones (de la plus superficielle à la plus profonde) :

- **le derme papillaire** : au contact de l'épiderme, c'est un tissu conjonctif lâche riche en collagène et en fibres élastiques. La surface ondulée du derme papillaire se caractérise par la présence de protubérances s'insinuant dans l'épiderme : les papilles dermiques. Sa large vascularisation lui confère des propriétés nutritives importantes. Il renferme également de nombreux récepteurs nerveux ;
- **le derme réticulaire** : il correspond à la partie la plus étendue du derme. Ce tissu conjonctif aux fibres de collagène grossières se différencie du derme papillaire par sa densité plus importante ;
- **le derme profond** : il constitue une transition avec l'hypoderme.

Constitué à 80% d'eau, le derme renferme principalement des fibroblastes et la MEC qu'ils produisent, mais des dendrocytes dermiques et des mastocytes y résident également.



Les fibroblastes se présentent comme des cellules fusiformes dotées d'un noyau à la forme elliptique. La microscopie électronique permet d'observer un réticulum endoplasmique rugueux bien développé et un appareil de Golgi, deux caractéristiques essentielles d'une cellule sécrétrice de protéines (Kierszenbaum, 2006).

Ainsi, les fibroblastes assurent la synthèse de protéoglycanes, de glycoprotéines de structure et d'adhérence, de collagène et d'élastine (Mélissopoulos et Levacher, 2012) (Kierszenbaum, 2006).

Les fibroblastes ont un rôle primordial dans le maintien de l'intégrité de la peau.

Les protéoglycanes résultent de l'association de protéines avec des glycosaminoglycanes (GAGs).

Les GAGs se présentent comme de longues chaînes ramifiées répétant un motif disaccharidique. Parmi les GAGs on retrouve majoritairement l'acide hyaluronique (seul GAG non sulfaté), mais également le chondroïtine sulfate, l'héparane sulfate ou encore le kératane sulfate.

L'acide hyaluronique, molécule à fort pouvoir hygroscopique, joue un rôle précieux dans le processus de cicatrisation. En effet, en présence d'une plaie, l'acide hyaluronique se voit libéré de ses connexions au sein des protéoglycanes et se retrouve dans la MEC sous forme soluble. Il stimule alors les phénomènes inflammatoires, le recrutement leucocytaire et l'angiogenèse en activant les cellules endothéliales (Gall, 2010).

L'acide hyaluronique est également impliqué dans la migration des kératinocytes, et de récentes études montrent que ses effets biologiques sont directement corrélés à son poids moléculaire (Maquart, 2014).

Les glycoprotéines jouent un rôle important dans la régulation des cellules et certaines d'entre elles sont engagées dans le processus de réparation cutanée.

Parmi elles on peut par exemple citer la thrombospondine-1 (TSP1) impliquée dans l'activation du « transforming growth factor beta » (TGF $\beta$ ) responsable en partie de l'activation des fibroblastes, la ténascine C (TN-C) dont l'expression est corrélée à la stimulation des macrophages et à l'activation des fibroblastes, ou encore la fibronectine qui permet la migration des kératinocytes et des fibroblastes vers la plaie, favorisant ainsi la réparation cutanée (Maquart, 2014).

Le collagène est la protéine la plus abondante du corps humain. Cette protéine inextensible assure la cohésion de la peau ainsi que des propriétés mécaniques de résistance à la déchirure des tissus.

Il existe différents types de collagène ; le nombre s'élève aujourd'hui à plus d'une vingtaine. La molécule de base, le tropocollagène, est composée de trois chaînes polypeptidiques enroulées autour d'un axe central.

Le derme contient principalement des collagènes fibrillaires de type I (60%-80%), III (15-25%), V (2-5%) et des collagènes non fibrillaires de type XII et XIV.

L'agencement de ces fibres varie selon leur localisation.



L'élastine est une protéine non glycosylée hydrophobe organisée en fibres.

Les fibres d'élastine présentes au niveau de la peau sont disposées parallèlement à la surface cutanée et lui confèrent son élasticité. A l'instar du collagène, l'élastine est synthétisée par les fibroblastes sous forme d'un précurseur : la tropoélastine.

### 1.1.3 Hypoderme

L'hypoderme constitue la troisième et dernière couche de la peau.

C'est un tissu graisseux souple (tissu conjonctif lâche) composé d'adipocytes, de fibres de collagène ainsi que de protéoglycanes.

Il constitue une réserve énergétique importante et assure également un rôle de protection qui est à la fois mécanique et thermique. En effet, ainsi constituée d'adipocytes - des cellules capables de stocker la graisse - cette dernière couche de la peau peut être mise à profit lors de la régulation thermique du fait de son rôle d'isolant.

Cependant, il faut préciser que l'épaisseur de l'hypoderme varie en fonction de sa localisation et peut s'avérer inexistant dans certains endroits du corps (paupières).

### 1.1.4 Annexes cutanées

Le derme abrite une grande partie des annexes cutanées, structures épithéliales spécialisées, indispensables au bon fonctionnement de l'organisme.

Ces annexes incluent les glandes sudorales, les follicules pilo-sébacés ainsi que l'appareil unguéal (figure 4).

#### 1.1.4.1 Les glandes sudoripares

Les glandes sudoripares, également appelées glandes sudorales, sont des glandes tubulaires exocrines pelotonnées ; c'est-à-dire qu'elles relâchent leurs substances dans le milieu extérieur.

On distingue deux types de glandes sudoripares : celles liées aux poils, dont le canal excréteur s'ouvre dans le follicule pileux et celles indépendantes des poils, dont le canal s'ouvre au niveau de l'épiderme. Elles ont une sécrétion dite mérocrine. Cela signifie que les glandes déversent leur contenu dans le milieu extérieur sans que leur intégrité cellulaire ne soit affectée.



D'un point de vue structural, elles se composent d'une portion sécrétoire et d'une portion excrétoire. La partie sécrétoire est formée par trois types de cellules : les cellules claires, les cellules sombres et les cellules myoépithéliales.

Les cellules claires et les cellules sombres vont assurer la fabrication d'une sueur primitive à partir du plasma tandis que les cellules myoépithéliales vont permettre son évacuation en se contractant. Lors de son passage dans la portion excrétoire de la glande sudoripare, la sueur primitive est partiellement réabsorbée du fait de sa composition semblable à celle du plasma ; cela aboutit à la formation d'une sueur définitive, aqueuse et hypotonique au plasma.

Les glandes indépendantes des poils, les plus nombreuses, se localisent de façon hétérogène sur l'ensemble du corps. Innervées par des nerfs cholinergiques, elles ont pour rôle principal de produire et de sécréter de la sueur, via leur canal excréteur qui rejoint la surface du derme, essentiellement dans le but de réguler la température corporelle.

Les glandes sudoripares liées aux poils, se localisent quant à elles dans des zones déterminées : conduit auditif externe, creux axillaire, paupières ainsi qu'au niveau des régions génitales. Elles sont innervées par des nerfs adrénérgiques et leur activité sécrétoire ne débute qu'à la puberté. Responsables de la formation d'un produit de sécrétion laiteux et peu abondant, le rôle de ces glandes sudoripares reste aujourd'hui assez mal élucidé.

#### **1.1.4.2 Les glandes sébacées**

Ce sont des glandes alvéolaires exocrines qui sont généralement annexées au poil mais peuvent, plus rarement, être libres et déboucher directement sur la surface cutanée (notamment au niveau des lèvres). Localisées sur l'ensemble du corps à l'exception des paumes et des plantes, elles sont particulièrement nombreuses au niveau du front ainsi qu'au niveau de la région supérieure du dos (Mélissopoulos et Levacher, 2012).

Ces structures multiacineuses ont pour rôle de produire et de sécréter une substance lipidique : le sébum.

Elles ont une sécrétion dite holocrine. Cela signifie que la libération de leur substance est consécutive à l'expulsion des cellules de la glande ; dans le cas des glandes sébacées, les cellules remplies de sébum se détachent de la glande, meurent et libèrent ce film lipidique en se dégradant.

Le sébum est composé essentiellement de triglycérides, de cires, et à moindre degré, de squalènes ainsi que de cholestérol. Sous contrôle hormonal, il a pour rôle de lubrifier le poil auquel il est annexé, de stopper la croissance des champignons et bactéries et d'assurer le maintien de l'hydratation de la peau (en modulant l'évaporation) ainsi que sa protection en s'imposant dans la constitution du film hydrolipidique (FHL).



### 1.1.4.3 Les follicules pileux

Les follicules pileux forment une invagination de l'épiderme dans le derme (Martini, 2003).

Localisés sur la quasi-totalité du corps humain, certaines zones en sont cependant dépourvues. Parmi elles on compte les paumes des mains, les plantes des pieds, les faces latérales des doigts et orteils, le gland, le prépuce, les petites lèvres ainsi que la face interne des grandes lèvres (CEDEF, 2005).

L'homme est recouvert d'environ 5 millions de poils.

Il existe 3 types de poils :

- **les poils terminaux** : ils sont raides, longs, épais et souvent pigmentés. Ils sont implantés jusqu'à l'hypoderme et sont associés à une glande sébacée d'importance moyenne ;
- **les poils duveteux** : ils sont courts, minces et incolores. Ils sont associés à une glande sébacée de taille réduite ;
- **les poils lanugineux** : plus minces et plus courts que les poils duveteux, ils tombent après la naissance.

Les poils sont composés d'une cuticule externe, d'un cortex et d'une médulla.

Le poil est une structure dynamique en constant renouvellement.

### 1.1.4.4 L'appareil unguéal

Annexe cutanée kératinisée, on retrouve cette structure sur la partie supérieure des extrémités des doigts et des orteils.

L'ongle joue un rôle de protection, de préhension, d'agression et il est également impliqué dans la sensibilité pulpaire tactile.

L'ensemble constitué par les ongles, les poils et les cheveux forme ce que l'on appelle les phanères.



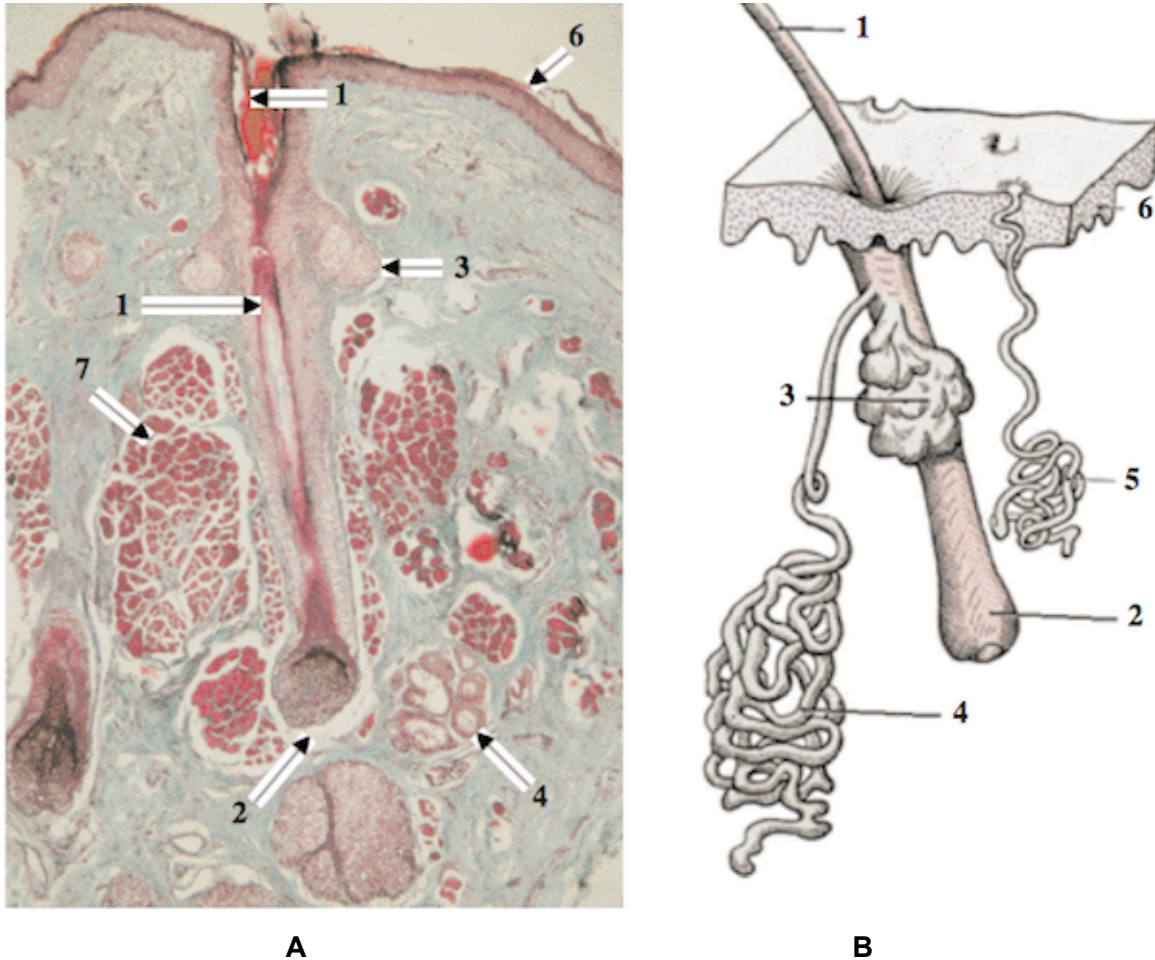


Figure 4 : Les annexes cutanées

(Comprendre la peau. Annales de Dermatologie et Vénérologie 2005)

A = follicule pilo-sébacé et glandes apocrines, au niveau d'une paupière

B = représentation schématisée de la coupe

1 = tige du poil, 2 = follicule pileux, 3 = glande sébacée, 4 = glande sudoripare liée au poil,

5 = glande sudoripare indépendante du follicule pilo-sébacé, 6 = épiderme,

7 = muscle strié

## 1.2 Vascolarisation et innervation cutanée

### 1.2.1 Vascolarisation

La peau, comme tout organe, possède un système circulatoire (figure 5). On parle ici de microcirculation en raison de l'épaisseur de la peau (environ 1 mm).

La circulation cutanée a pour rôle d'assurer la nutrition et l'oxygénation des trois couches de la peau ainsi que la gestion de l'élimination des déchets issus du métabolisme. Elle a également une tâche à accomplir dans la thermorégulation et dans le maintien de l'équilibre de la pression artérielle (Martini, 2003).



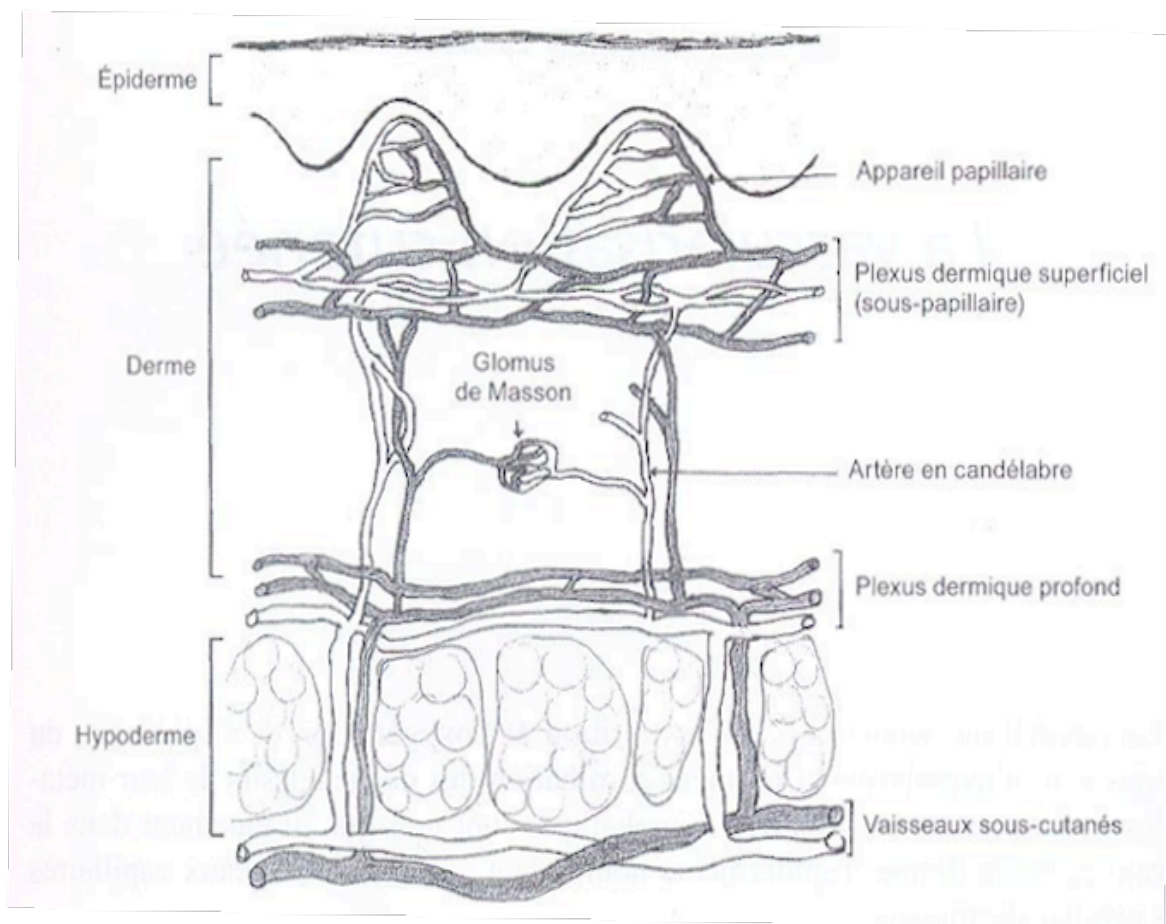


Figure 5 : La vascularisation cutanée  
(système veineux en gris, système artériel en blanc)

(Mélissopoulos et Levacher, 2012)

L'épiderme, avasculaire comme tous les épithéliums, a besoin d'un système circulatoire proche capable de répondre à ses besoins nutritifs. Son apport en nutriments est donc assuré par diffusion à partir du derme. En effet, la vascularisation lymphatique et artérioveineuse traverse le derme et l'hypoderme et s'interrompt en dessous de la jonction dermoépidermique (Martini, 2003).

Le derme est parcouru dans toute sa hauteur par un réseau très abondant de vaisseaux sanguins (artères, capillaires, veines) de petit diamètre, organisés en plexus.

### 1.2.1.1 Le réseau artériel

Des artères sous-cutanées assurent le transport de sang oxygéné. Elles cheminent parallèlement à la surface de la peau, sous l'hypoderme et envoient de grosses collatérales qui s'insinuent verticalement entre les lobules graisseux de l'hypoderme pour atteindre le derme. Ces collatérales vont ensuite s'anastomoser pour former le plexus artériel profond à partir duquel des artères dites « en candélabre » cheminent vers le derme réticulaire pour former un nouveau réseau qui constitue le plexus artériel sous-papillaire. A partir du plexus artériel sous-papillaire, des artérioles pré-capillaires se subdivisent et donnent ainsi naissance à des anses capillaires au sommet de chaque papille dermique qui constituent le système papillaire.

L'anse capillaire est formée d'un segment ascendant artériel et d'un segment descendant veineux.

### 1.2.1.2 Le réseau veineux

Les veines sont positionnées parallèlement aux artères et donnent lieu aux mêmes plexus : les veines sous-cutanées forment le plexus veineux profond et les veinules en émanant constituent le plexus veineux sous-papillaire.

### 1.2.1.3 Le réseau lymphatique

Les vaisseaux lymphatiques ne communiquent pas avec les vaisseaux sanguins mais ont un trajet quasiment parallèle à ceux-ci. Ces vaisseaux à sens unique - du fait de leurs valves anti-reflux - permettent le retour du liquide interstitiel en excès vers le sang par l'intermédiaire du canal thoracique. L'extrémité de ces capillaires lymphatiques se trouve au niveau des papilles dermiques et les capillaires lymphatiques suivent ensuite le trajet du réseau veineux.

Ce réseau lymphatique est indispensable à l'évacuation des déchets macromoléculaires dont la circulation sanguine ne peut se débarrasser.

On lui attribue communément trois grandes fonctions (Mélissopoulos et Levacher, 2012) :

- un rôle de défense contre les agressions microbiennes ;
- un rôle dans la préservation de l'équilibre hydrique ;
- un rôle de drainage des produits du métabolisme cellulaire.



## 1.2.2 Innervation cutanée

Le système nerveux cutané est le siège d'une innervation riche et complexe qui concerne à la fois le derme et l'épiderme. En effet, la peau est un organe sensitif qui permet à l'individu de recevoir une multitude d'informations provenant de son environnement proche.

D'un point de vue histologique, les nerfs cutanés se composent d'axones entourés de cellules de Schwann, enrobés ou non d'une gaine de myéline.

L'innervation cutanée est à la fois sensitive et végétative.

### 1.2.2.1 L'innervation sensitive

L'innervation sensitive est formée d'un réseau dermique de fibres nerveuses et de récepteurs.

Les fibres nerveuses forment deux plexus :

- le plexus dermique profond ;
- le plexus superficiel.

Ces fibres élaborent plusieurs sortes de terminaisons : libres, dilatées ou encapsulées.

Les terminaisons libres sont retrouvées essentiellement au niveau de l'épiderme, des poils et des glandes sébacées, les terminaisons dilatées concernent essentiellement les poils et les terminaisons encapsulées se situent au niveau du derme dans les zones les plus sensibles (visage, pieds, mains, organes génitaux) (Martini, 2003).

### 1.2.2.2 L'innervation végétative

L'innervation végétative (ou innervation motrice) s'applique principalement aux muscles pilo-moteurs, aux glandes sudorales ainsi qu'aux vaisseaux sanguins. Cette innervation est assurée par les fibres neurovégétatives qui sont des chaînes sympathiques amyélinisées de type cholinergique ou adrénérgique.





## 1.3 Fonctions physiologiques

### 1.3.1 Rôle de barrière

Assurée principalement par la couche cornée de l'épiderme, la fonction de barrière est essentielle pour la peau : elle lui permet ainsi d'être protégée des agressions extérieures.

Tout ceci s'explique par sa structure particulière. Les cornéocytes, cellules kératinisées allongées, s'empilent les uns sur les autres selon un nombre variable de couches en fonction de leur localisation et forment la couche cornée (*Stratum corneum*). Ces cellules, biologiquement mortes, renferment de la kératine mais également des lipides, des acides gras ou encore des céramides assurant ainsi l'imperméabilité de la peau du fait de leur hydrophobie. La cohésion de ces cellules est assurée par les cornéodesmosomes, des structures de jonctions intercellulaires que nous avons évoquées précédemment.

#### 1.3.1.1 Barrière antimicrobienne et immunitaire

Si la peau joue un rôle prépondérant dans la lutte contre les agents pathogènes, elle n'en est pas pour autant stérile. En effet, la peau abrite une flore saprophyte qui empêche la colonisation du territoire cutané par des espèces pathogènes.

L'implantation des micro-organismes nocifs est également gênée par l'existence du FHL. Cette émulsion d'eau et de graisses qui recouvre la surface de l'épiderme s'oppose à la pénétration et à la prolifération des microbes et offre ainsi une véritable protection contre ces agresseurs environnants. Le renouvellement constant du FHL ainsi que la desquamation des cornéocytes contribuent à l'élimination permanente des pathogènes présents sur l'épiderme.

La peau possède un pH acide dû aux acides gras sécrétés par les glandes sudoripares et aux acides organiques produits par les staphylocoques commensaux. Il prévient ainsi la croissance bactérienne des espèces pathogènes basophiles (Prescott et al., 2008).

Les cellules épithéliales expriment des protéines antimicrobiennes telles que les défensines, assurant alors une première ligne de combat contre les agresseurs. L'implication immunitaire de la peau permet de combattre d'éventuels pathogènes qui s'y seraient immiscés par l'intermédiaire de lésions cutanées. Cette fonction est assurée principalement par deux populations cellulaires capitales : les cellules de Langerhans et les kératinocytes.



### 1.3.1.2 Barrière physique

La peau est une véritable barrière physique grâce à ses propriétés mécaniques. Régulièrement malmenée par des lésions, des chocs, des tractions, des frottements, les trois couches de la peau ont un rôle à jouer pour limiter les conséquences de ces agressions.

L'épiderme, et plus particulièrement la couche cornée, est extensible dans une certaine mesure. La kératine présente au niveau de l'épiderme lui confère sa résistance et son extensibilité. Elle permet à la peau de se déformer et de revenir à son état initial si la contrainte exercée n'est pas trop importante.

Le derme renferme de nombreuses fibres de collagène ainsi que des fibres d'élastine qui lui octroient des propriétés de résistance, d'élasticité et d'extensibilité.

L'hypoderme, par l'intermédiaire de sa couche graisseuse, atténue les chocs en absorbant une partie de l'énergie mécanique (Mélissopoulos et Levacher, 2012).

### 1.3.1.3 Barrière chimique

La kératine de la couche cornée joue un rôle important dans la résistance aux agressions chimiques. La présence du FHL, la proximité des kératinocytes ainsi que l'existence d'un ciment intercellulaire contribuent à l'imperméabilité cutanée en empêchant la pénétration des substances chimiques.

Cependant, contre les produits acides ou caustiques, la barrière cutanée ne peut assurer pleinement cette fonction de protection ; altérée, elle laisse alors place à des lésions.

### 1.3.1.4 Barrière contre le rayonnement solaire

Les expositions répétées au soleil consomment le capital solaire. Le capital solaire, propre à chaque individu, est acquis à la naissance et n'est pas renouvelable. Il se définit comme la quantité de rayons du soleil que peut recevoir un individu sans s'exposer à des risques cutanés (vieillessement de la peau, cancer, *etc.*).

La peau offre des propriétés naturelles modérées de photoprotection en faisant intervenir divers mécanismes.



On distingue classiquement trois types de rayons ultraviolets en fonction de leurs longueurs d'ondes :

- UVA (400-315 nm)
- UVB (315-280 nm)
- UVC (280-100 nm)

La peau est exposée seulement aux UVA et aux UVB. Les UVC, rayons ultraviolets les plus nocifs, sont interceptés par la couche d'ozone.

La peau est en partie protégée par la pilosité, et plus particulièrement celle du cuir chevelu, qui fait office de première ligne de défense contre le rayonnement ultraviolet. La couche cornée, quant à elle, protège des effets néfastes du soleil en absorbant une partie des UVB.

Les UVB amorcent la différenciation des kératinocytes et induisent alors un épaissement de la couche cornée. Ce renforcement de la couche cornée intensifie ses capacités à protéger les couches les plus profondes de la peau contre de futures irradiations. Les UVB provoquent également la synthèse de mélanine par les mélanocytes d'où l'augmentation quantitative de ce pigment au sein de l'épiderme en l'espace de quelques jours. D'abord localisés dans les mélanocytes, les mélanosomes qui hébergent la mélanine vont être transférés vers les kératinocytes. Les mélanosomes absorbés par phagocytose s'accumulent autour du noyau des kératinocytes protégeant ainsi l'ADN de lésions induites par le rayonnement ultraviolet. Les UVB, en induisant un épaissement de la couche cornée et l'apparition d'un hâle cutané, protègent la peau des lésions photoinduites. Ce n'est pas le cas des UVA.

En effet, les UVA n'augmentent pas l'épaisseur de la couche cornée ce qui amenuise la capacité de l'épiderme à se protéger des effets délétères du soleil. Contrairement aux UVB, ils sont indolores et peuvent pénétrer profondément dans la peau, jusqu'aux cellules du derme. A long terme, ils peuvent altérer les cellules et provoquer un vieillissement de la peau, des troubles de la pigmentation, des cancers de la peau (mélanome), *etc.* (La Roche-Posay, 2015).

### 1.3.2 Rôle sensitif

La peau est un organe sensitif. Richement innervée, elle renferme de multiples récepteurs lui permettant alors de percevoir et de traiter les données du monde qui l'entoure. L'innervation importante du derme et de l'hypoderme permet aux récepteurs de réagir à des stimuli comme les variations de températures, la douleur, le tact.



Les informations perçues sont véhiculées sous forme d'influx nerveux jusqu'aux corps cellulaires des neurones situés dans les ganglions rachidiens puis par des fibres nerveuses sensorielles vers le cerveau.

On distingue quatre catégories de fibres nerveuses sensorielles. Les fibres myélinisées  $A\alpha$ ,  $A\beta$  et  $A\delta$  conduisent rapidement l'influx nerveux grâce à la myéline tandis que les fibres C (dites libres), minces et dépourvues de myéline présentent une vitesse de transmission de l'information moins rapide. Le cerveau interprète alors les informations reçues et s'adapte à son environnement par une réponse appropriée.

### **1.3.3 Rôle métabolique**

#### **1.3.3.1 La thermorégulation**

L'être humain est un homéotherme qui s'efforce de maintenir sa température corporelle autour de  $37^{\circ}\text{C}$ , quelque soit la température du milieu ambiant. Le corps humain est capable de mettre en œuvre des mécanismes de régulation pour maintenir l'homéostasie.

L'acteur principal de la thermorégulation est l'hypothalamus. Cette structure du cerveau reçoit les informations concernant la température cutanée via les thermorécepteurs localisés notamment dans la peau et dans les vaisseaux sanguins. Percevant des variations de températures minimales, l'hypothalamus est capable de mettre en œuvre des mécanismes adaptatifs en cas de déséquilibre de la balance thermique.

L'augmentation de la température corporelle active le centre de la thermolyse. La déperdition de chaleur s'effectue par l'intermédiaire de la sudation et grâce à la vasodilatation cutanée.

Au contraire, la lutte contre le froid active le centre de la thermogénèse. Les mécanismes mis en jeu visent à la fois à diminuer la perte de chaleur (via la vasoconstriction cutanée) et à augmenter la production de chaleur (via l'augmentation du métabolisme et la production de chaleur par les muscles grâce aux frissons).



### 1.3.3.2 Synthèse de vitamine D3

La peau, en participant à la synthèse de vitamine D3, assure le maintien d'un développement et d'un fonctionnement osseux normal.

Dans la peau se trouve un précurseur de la vitamine D3, la provitamine D3 également appelée le 7-déhydrocholestérol, qui sous l'action des UVB, se transforme en prévitamine D3, ou cholécalciférol inactif. Spontanément, le cholécalciférol inactif s'isomérisé en vitamine D3. En vue d'obtenir la forme active de la vitamine D, la vitamine D3 transite par le foie et les reins. Les hydroxylations successives de la vitamine D3 aboutissent à sa forme biologiquement active : la 1,25-dihydroxyvitamine D3 connue sous le nom de calcitriol.



## **2 Altération de la barrière cutanée**

---

### **2.1 Définition**

Une lésion cutanée se définit comme étant une rupture de la continuité tissulaire. Cette altération de la barrière cutanée peut être d'origine traumatique ou chirurgicale.

### **2.2 Classification des plaies**

On peut classer les plaies en deux grandes catégories : les plaies aiguës et les plaies chroniques.

#### **2.2.1 Les plaies aiguës**

Une plaie aiguë cicatrise normalement en l'absence de facteurs locaux ou généraux étant susceptibles de retarder la cicatrisation (Battu et Brischoux, 2012). Une plaie aiguë peut être d'origine chirurgicale (incision, greffe) ou d'origine traumatique (brûlure, dermabrasion, morsure, gelure). Bien sûr, en ce qui concerne notamment les brûlures, la cicatrisation sera dépendante de l'étendue et de la profondeur de l'agression cutanée.

##### **2.2.1.1 Plaies d'origine chirurgicale**

Les plaies chirurgicales sont des plaies généralement propres et qui causent peu de perte de matières. Ce genre de plaie guérit rapidement à l'aide de sutures (Young et McNaught, 2011).

##### **2.2.1.2 Plaies d'origine traumatique**

Les plaies traumatiques, contrairement aux plaies chirurgicales sont souvent accidentelles et peuvent être septiques.

###### **2.2.1.2.1 Les brûlures**

Une brûlure est une altération du revêtement cutané occasionnée par un agent thermique, électrique, radioactif ou chimique dont la gravité est déterminée par son étendue et sa profondeur.



On distingue quatre degrés de profondeur :

- **le premier degré** : seul l'épiderme est atteint. Cliniquement, on observe un érythème accompagné de douleurs. La guérison se fait spontanément en l'espace de 3 à 7 jours.
- **le deuxième degré superficiel** : l'épiderme est totalement atteint et la brûlure s'étend jusqu'au derme papillaire. Cliniquement, on observe l'apparition d'une phlyctène à paroi épaisse. C'est une cloque provoquée par une accumulation de liquide séreux qui s'accompagne d'une élévation de l'épiderme. La cicatrisation, bien que spontanée, est plus longue que précédemment et nécessite une quinzaine de jours.
- **le deuxième degré profond** : l'épiderme et le derme papillaire sont totalement atteints, ainsi qu'une partie du derme réticulaire. Les lésions prennent une couleur rouge-brune voire blanche. Contrairement aux brûlures du second degré superficiel, les phlyctènes ont une paroi fine et ont facilement tendance à se percer. La guérison, encore une fois spontanée, nécessite en moyenne un mois mais peut laisser place à des cicatrices plus ou moins discrètes.
- **le troisième degré** : la brûlure est profonde ; l'épiderme, le derme ainsi qu'une partie de l'hypoderme sont détruits. La déshydratation du derme consécutive à la brûlure provoque l'aspect cartonné de la peau qui prend une couleur blanche ou brune. La brûlure est indolore, ce qui est paradoxalement un signe de gravité, car elle témoigne de l'atteinte des terminaisons nerveuses. La guérison spontanée est impossible ; elle nécessite une greffe de peau.

Au delà, on parle de carbonisation. Les aponévroses, les muscles, les cartilages et les os peuvent être atteints et la cicatrisation est impossible.

Selon leur degré de profondeur, les brûlures peuvent laisser place à des cicatrices imparfaites. Les cicatrices les plus souvent rencontrées chez les brûlés sont hypertrophiques ou chéloïdes (développées plus bas). Afin d'éviter une cicatrisation anarchique, des vêtements de compression peuvent être utilisés une fois l'épiderme reconstruit. La kinésithérapie a également une place prépondérante dans la prévention des rétractations et des enraidissements liés aux brûlures profondes.



#### 2.2.1.2.2 Dermabrasions

Les dermabrasions traumatiques sont des lésions superficielles liées au râpage de la peau. Ces lésions, à l'aspect irrégulier et dont la douleur s'apparente à une brûlure, ne sont pas dangereuses.

Leur traitement repose généralement sur un lavage soigneux de la plaie à l'eau et au savon, suivi d'une désinfection et de l'application d'un pansement. Elles ne nécessitent généralement pas d'intervention chirurgicale.

#### 2.2.1.2.3 Morsures

Les plaies par morsures animales, très rencontrées dans la population pédiatrique, sont de gravité variable. Dans les cas les moins importants il peut s'agir d'une simple dermabrasion, tandis que dans les cas les plus graves, la perte de substance est tellement importante qu'elle peut conduire au décès (Touzet-Roumazeille et *al.*, 2016). Les germes inoculés lors de la morsure représentent un véritable risque infectieux qui doit être pris en charge.

Ces plaies, à l'aspect très variable, peuvent nécessiter des interventions chirurgicales (points de sutures, greffes de peau dans les cas les plus extrêmes, *etc.*).

#### 2.2.1.2.4 Gelures

Les gelures sont des lésions provoquées par le froid généralement localisées au niveau des extrémités (orteils, doigts, nez). Elles se produisent à des températures inférieures à 0°C et touchent particulièrement les alpinistes. Dans les cas les plus graves les gelures débouchent sur une nécrose des tissus qui peut conduire à une amputation.

La gelure ne doit pas être confondue avec l'engelure. En effet, bien que ces deux lésions soient provoquées par le froid, elles sont toutefois bien distinctes. L'engelure est une lésion inflammatoire liée à l'hypersensibilité de l'organisme face au froid, qui n'est pas forcément extrême comme dans le cas des gelures. Les engelures sont plus fréquentes chez les femmes que chez les hommes et les personnes souffrant d'acrotyndrome y sont particulièrement sujettes.





## 2.2.2 Les plaies chroniques

Une plaie est considérée comme chronique après quatre à six semaines d'évolution selon son étiologie (HAS, 2011).

Les plaies chroniques se caractérisent par l'allongement du temps de cicatrisation en dépit de la mise en place de conditions optimales pour aider à la cicatrisation.

On distingue là encore les plaies chroniques chirurgicales (plaies infectées) des plaies chroniques non chirurgicales (escarres, ulcères, plaies diabétiques). La difficulté de cicatrisation de ces plaies s'explique principalement par la présence de délabrements importants (plaie infectée, étendue, etc.) ou par la présence de terrains favorisant (anomalies vasculaires, diabète, etc.). La chronicité des plaies se rencontre principalement chez la personne âgée (Battu et Brischoux, 2012).

Qu'elles soient aiguës ou chroniques, les plaies diffèrent par leur nature, leur taille, leur profondeur, leur localisation, leur propreté (plaies propres, propres-contaminées, contaminées, sales et infectées).

## 2.3 Processus de cicatrisation

La cicatrisation est un phénomène biologique naturel dynamique qui intervient lorsqu'il y a atteinte de l'intégrité cutanée. Il s'agit de la mise en place de processus biologiques faisant intervenir un grand nombre de variétés cellulaires aboutissant à la reconstruction (jamais *ad integrum*) du tissu lésé.

Trois grandes étapes qui se succèdent et se chevauchent dans le temps ont été identifiées au cours de la cicatrisation cutanée normale (figure 7) :

- La phase vasculaire et inflammatoire ;
- La reconstitution tissulaire dermique et épidermique ;
- Le remodelage de la matrice extracellulaire et la maturation de la cicatrice.

On distingue classiquement deux modes de cicatrisation différents en fonction de la nature et de l'aspect de la plaie : la cicatrisation de première intention et la cicatrisation de deuxième intention.

La cicatrisation de première intention concerne les plaies dont les bords sont rapprochés l'un de l'autre en l'absence d'infection. La perte de substance est limitée et les plaies entrant dans cette catégorie sont plutôt des coupures franches. La cicatrisation peut être spontanée ou aidée par des fils ou sutures.



La cicatrisation de deuxième intention, ou cicatrisation dirigée, concerne les plaies présentant une perte de matière et se caractérisent par une forte inflammation. Les berges de la plaie sont éloignées et le temps de cicatrisation se voit allongé.

Les plaies peuvent également être contaminées. On retrouve des blessures à type de brûlures ou d'ulcères dans cette catégorie.

Des travaux effectués sur des porcs par George D. Winter dans les années 1960 montrent que la cicatrisation des plaies est plus rapide en milieu humide qu'en milieu sec. Une plaie couverte par un pansement occlusif maintenant un milieu humide empêche la formation de la croûte et permet aux cellules épithéliales de se répartir sur toute la surface de la plaie minimisant ainsi l'apparition d'une cicatrice importante et souvent disgracieuse (Aerts et *al.*, 2003).

### **2.3.1 Phase vasculaire et inflammatoire**

#### **2.3.1.1 Phase vasculaire**

(KIERSZENBAUM, 2006) (MEAUME et *al.*, 2005) (CATALA et *al.*, 2007)

L'étape vasculaire constitue la première phase de la cicatrisation cutanée. Elle est également appelée hémostase et aboutit à la formation d'un caillot.

Lors d'une lésion traumatique, les vaisseaux cutanés sont atteints à un degré variable. La plupart des blessures touchent le derme et entraînent ainsi l'irruption de sang hors des vaisseaux. Le premier phénomène clinique résultant de cette effraction vasculaire, le saignement, doit être arrêté le plus rapidement possible : c'est le rôle de l'hémostase.

L'effraction de l'endothélium entraîne une mise à nu du sous-endothélium. Au niveau des petits vaisseaux uniquement, une vasoconstriction réflexe locale et transitoire se met immédiatement en place permettant ainsi de limiter la fuite sanguine et d'augmenter les interactions entre les plaquettes et le sous-endothélium. Dans une situation normale les plaquettes n'adhèrent pas à la paroi des vaisseaux sains tandis que lorsque le vaisseau est lésé, le collagène va être mis à nu entraînant alors leur agrégation. Les plaquettes adhèrent, de façon minoritaire, directement aux fibres de collagène sous-endothéliales et, de façon majoritaire, au facteur de von Willebrand (vWF) via leur récepteur GPIb.

Suite à cette adhésion plaquettaire survient une activation plaquettaire qui est la conséquence de la reconnaissance du vWF par le récepteur GPIb.

Les plaquettes activées libèrent le contenu de leurs granules et s'agrègent pour former le clou plaquettaire qui rétablit temporairement l'étanchéité des vaisseaux.



L'activation plaquettaire (figure 6) a pour conséquences :

- **la modification morphologique du thrombocyte.** Le passage d'une forme sphérique à une forme discoïde des plaquettes favorise l'agrégation plaquettaire en augmentant la surface de contact.
- **la dégranulation du thrombocyte.** La modification morphologique des plaquettes provoque sa contraction et conduit ainsi à l'évacuation de son contenu. Les plaquettes concentrent dans leur cytoplasme quatre types de granulations : les granules denses, les granules alpha, les lysosomes et les peroxysomes.

Les granules denses renferment essentiellement de l'adénosine diphosphate (ADP) et de la sérotonine, encore appelée 5-hydroxytryptamine (5-HT), qui ont pour rôle de recruter de nouvelles plaquettes au niveau de la lésion.

Les granules alpha libèrent des protéines de coagulation (fibrinogène), des facteurs de croissance (comme le « platelet-derived growth factor » (PDGF), le « transforming growth factor beta » (TGF $\beta$ ) ou encore le « platelet factor 4 » (PF4)) et des facteurs d'adhérence (fibronectine, thrombospondine, vitronectine) entre autres (Russo Marie, 1999). L'extravasation sanguine apporte de multiples protéines (fibrinogène, fibronectine, thrombospondine, vitronectine, thrombine, vWF) et contribue ainsi à la consolidation du clou plaquettaire, également appelé thrombus blanc (Senet, 2000).

- **la synthèse de thromboxane A2 (TXA2).** Ce puissant vasoconstricteur formé à partir des phospholipides membranaires tend à minimiser la perte sanguine. Il s'avère également être un puissant activateur des plaquettes d'où l'amplification du processus d'activation plaquettaire.
- **la fusion des membranes des granules alpha.** Cette unification des membranes conduit à l'expression du récepteur GPIIb-IIIa, indispensable à l'agrégation plaquettaire.

A l'adhésion et l'activation plaquettaire succède l'agrégation plaquettaire. L'agrégat plaquettaire croît grâce au recrutement de nouvelles plaquettes dont se chargent les activateurs plaquettaires (ADP, 5-HT, TXA2). Le récepteur GPIIb-IIIa présent sur les plaquettes activées leur permet de s'agréger entre elles par l'intermédiaire du fibrinogène et du vWF.

L'hémostase primaire fait place à la coagulation qui a pour but de former un caillot de fibrine sur le clou plaquettaire. L'activation en cascade des facteurs de coagulation conduit à la transformation du fibrinogène en fibrine grâce à l'action de la thrombine et cela aboutit à la formation d'un clou hémostatique constitué de plaquettes et de fibrine. Cette structure qui vise à fermer provisoirement la plaie sert de matrice provisoire.

Elle est nécessaire à la migration de cellules endothéliales, de leucocytes, de kératinocytes et de fibroblastes et sert de réservoir pour les facteurs de croissance (Li et *al.*, 2007).

La libération de cytokines ou de facteurs de croissance par les plaquettes activées contribue au recrutement de deux des acteurs essentiels intervenant dans la phase inflammatoire : les polynucléaires neutrophiles et les macrophages.

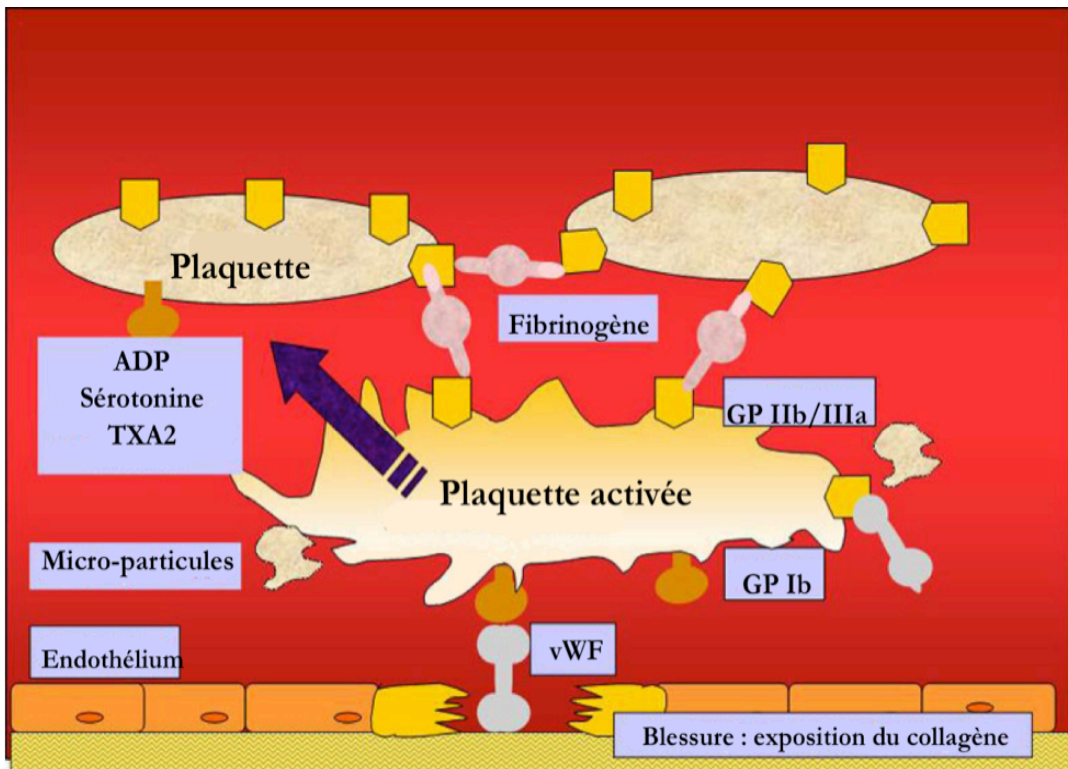


Figure 6 : Activation plaquettaire

(Adapté de : <https://www.rottem.de/fr/methodologie/impedance-agregometrie>)

### 2.3.1.2 Phase inflammatoire

La phase inflammatoire a pour but de prévenir les infections, de débarrasser la plaie de ses débris cellulaires et de préparer un terrain sain en vue de la réparation tissulaire.

La vasoconstriction initiale du vaisseau lésé fait rapidement place à une vasodilatation importante qui, en augmentant la perméabilité vasculaire, permet aux cellules d'affluer à ce niveau pour former un exsudat inflammatoire.

Au niveau de la zone cicatricielle, la libération de facteurs de croissance mais également les peptides bactériens, des facteurs du complément ainsi que les produits issus de la dégradation de la fibrine attirent polynucléaires neutrophiles et monocytes.

Les neutrophiles sont les premières cellules à abonder au niveau du site inflammatoire par chimiotactisme (par l'intermédiaire du « platelet activating factor » (PAF), du PDGF, du PF4, des produits de dégradation de la fibrine *etc.*). Leur rétention au niveau du site inflammatoire est assurée par l'interaction des intégrines présentes à leur surface avec la MEC (Russo Marie, 1999). Les neutrophiles sécrètent également des cytokines pro-inflammatoires qui jouent un rôle dans le recrutement et l'activation des fibroblastes et des kératinocytes. En assurant la détersion de la plaie, ils concourent également à provoquer un écartement des lèvres de la plaie. Au fur et à mesure de l'inflammation, en l'absence d'infection, le nombre de polynucléaires neutrophiles décroît et les macrophages deviennent prédominants (Li et *al.*, 2007). Les macrophages, en phagocytant les neutrophiles, contribuent à la réduction de leur nombre.

Parallèlement au recrutement des polynucléaires neutrophiles, les monocytes vont affluer au niveau de la plaie, se différencier en macrophages et adhérer aux protéines de la MEC (Senet, 2000). Là encore, à l'image des polynucléaires neutrophiles, les macrophages sont sources de cytokines pro-inflammatoires, ce qui concourt donc à maintenir l'inflammation. Parmi les cytokines produites on trouve l'« insulin-like growth factor-1 » (IGF I), le TGF $\beta$ , le « tumor necrosis factor alpha » (TNF $\alpha$ ) et le PDGF.

Ces substances qui amplifient la réponse inflammatoire stimulent l'attraction et la prolifération des fibroblastes et participent à la formation du tissu de granulation (Senet, 2000).

Dans le processus de cicatrisation, l'importance de la présence de macrophages s'explique par les cytokines qu'ils sécrètent, indispensables à la fibrogenèse et à l'angiogenèse (Jurk, 2003). Les macrophages sont donc nécessaires à la cicatrisation cutanée en luttant contre l'infection, en participant à la détersion de la plaie (via la phagocytose) et en jouant un rôle nutritionnel local.

Les lymphocytes interviennent plus tardivement et sont responsables de la réaction immunitaire spécifique.



### 2.3.2 Phase de reconstitution tissulaire

La reconstruction du derme démarre 3 à 4 jours après la blessure.

La phase de prolifération se subdivise en trois étapes: l'angiogenèse et la fibroplasie (production de tissus fibreux), puis la réépithélialisation.

Elle est rendue possible grâce aux facteurs de croissance et aux cytokines qui dérivent principalement des plaquettes et des macrophages (Witte, 1997).

#### 2.3.2.1 Formation du tissu de granulation

La formation du tissu de granulation, fortement corrélée à la présence de cytokines, s'étale sur 10 à 15 jours (Senet, 2000).

Durant cette phase de prolifération, le caillot fibrino-plaquettaire se rétracte et laisse apparaître le tissu conjonctif sous-jacent appelé tissu de granulation qui comblera le manque tissulaire (Catala et *al.*, 2007).

La formation du tissu de granulation implique la prolifération fibroblastique ainsi que la néo-angiogenèse. La prolifération fibroblastique est rendue possible grâce aux facteurs de croissance libérés par les macrophages et les plaquettes activées. Le TGF $\beta$  et le PDGF sont les principaux facteurs de croissance permettant la prolifération et la migration des fibroblastes au niveau de la plaie (Young, 2011 et Li et *al.*, 2007).

Après leur migration au niveau de la zone lésée, les fibroblastes acquièrent un phénotype leur permettant de synthétiser abondamment des macromolécules qui forment le tissu cicatriciel. Les fibroblastes élaborent ainsi de la MEC, indispensable pour guider et faciliter la mobilité cellulaire. Son importance réside également dans le fait qu'elle sert de réservoir de cytokines (Jurk et *al.*, 2003).

Dans le tissu de granulation la composition de la MEC diverge de celle observée dans un tissu sain. En effet, le tissu de granulation renferme une forte proportion de collagène de type III (immature) et peu de collagène de type I (mature) tandis que dans la peau normale le collagène de type I représente 80% du collagène total et le collagène de type III seulement 10% (Witte, 1997) (Li et *al.*, 2007). À ce stade, la consistance de la MEC s'apparente à un gel riche en collagène de type III et en fibronectine. Cette MEC primitive prend un aspect désorganisé et lâche. Peu à peu, la proportion de collagène de type III s'affaiblit et laisse place à un taux abondant de collagène de type I, mature, rendant alors la matrice plus résistante.

L'hypoxie tissulaire rencontrée au centre de la plaie provoque la libération de facteurs angiogéniques par les macrophages et encourage ainsi la néoangiogenèse. De nouveaux capillaires se créent à partir des vaisseaux sains voisins pour aboutir à la formation d'un réseau vasculaire indifférencié. L'angiogenèse est une étape essentielle pour assurer la nutrition du tissu de granulation et du néoépiderme ; elle est stimulée par des cytokines (Schmitt, 1997).



L'association de ce réseau vasculaire au tissu conjonctif nouvellement formé va constituer un bourgeon charnu : c'est le tissu de granulation (encore appelé tissu de bourgeonnement).

### 2.3.2.2 Contraction de la plaie

Le tissu de granulation a la propriété d'être contractile. Le degré de contraction de la blessure varie selon la profondeur de la blessure (Li et *al.*, 2007).

Pendant la formation du tissu de granulation, les fibroblastes acquièrent un phénotype myofibroblastique leur octroyant alors des propriétés contractiles. L'expression d'une isoforme particulière d'actine, l'actine  $\alpha$ -musculaire lisse, confère aux myofibroblastes la capacité de rapprocher les berges de la plaie en se contractant ce qui tend à réduire la surface de la plaie. La contraction de la plaie progresse à hauteur d'environ 0,75 mm/j (Young, 2011) et ne s'arrête que lorsque les berges de la plaie se rejoignent.

Si l'implication des myofibroblastes semblait évidente dans la contraction de la plaie, aujourd'hui, une deuxième théorie se confronte à celle-ci. Cette théorie suggère que la contraction de la plaie serait imputable à tous les fibroblastes et pas seulement aux myofibroblastes. Cette théorie s'appuie sur le fait que la réorganisation de la MEC provoquée par les fibroblastes pourrait créer une contraction (Witte, 1997).

Dans une situation normale, lorsque la blessure se referme, la zone s'appauvrit en cellules et les myofibroblastes disparaissent par apoptose (Desmoulière et *al.*, 1995).

### 2.3.2.3 Réépithélialisation

Durant la phase de réépithélialisation, également appelée réépidermisation, des kératinocytes issus des berges de la plaie migrent pour venir combler le manque d'épiderme au niveau de la région lésée.

Pour se faire, les kératinocytes expriment à leur surface des marqueurs de surface comme le CD44 qui, en se liant à l'acide hyaluronique, favoriserait la migration des cellules sur le tissu de granulation (Atala, 2008). Les kératinocytes se mettent ensuite à proliférer et assurent ainsi le recouvrement de la plaie.

Une fois la plaie recouverte, un phénomène complexe - l'inhibition de contact (provoquée par un contact étroit entre des cellules de même type) -, entraîne l'arrêt de la migration et de la prolifération des kératinocytes (Li et *al.*, 2007).

La réépidermisation aboutit, après une phase de différenciation, à la naissance d'un néo-épithélium stratifié (Jurk et *al.*, 2003).



Les médiateurs de type « epidermal growth factor » (EGF), « keratinocyte growth factor » (KGF) et TGF $\alpha$  sont aujourd'hui reconnus pour leur rôle essentiel dans la stimulation de la migration et de la prolifération des kératinocytes (Jurk et *al.*, 2003) (Li et *al.*, 2007).

### 2.3.3 Phase de maturation

Également connue sous le nom de remodelage, la phase de maturation se prolonge dans le temps. Cette phase s'avère être indispensable. En effet, le tissu de granulation n'étant pas aussi résistant que le tissu normal, il doit être progressivement réorganisé (Mélissopoulos et Levacher, 2012).

Cette étape se caractérise par le changement de composition de la MEC; le collagène de type III va être progressivement remplacé par le collagène de type I. Le vieux collagène est remplacé par du nouveau collagène grâce à un processus finement régulé maintenant un équilibre entre la synthèse et la lyse des collagènes.

L'équilibre de la balance entre collagénogenèse et collagénolyse est maintenu grâce à l'action de métalloprotéases matricielles et de leurs inhibiteurs (Li et *al.*, 2007).

Ce remodelage matriciel permet l'accroissement des résistances mécaniques de la cicatrice qui retrouve alors une résistance équivalente à environ 80 à 90% de celle de la peau saine (Mélissopoulos et Levacher, 2012).

De façon concomitante, les vaisseaux produits lors de la formation du tissu de granulation diminuent en nombre, les cellules excédentaires sont éliminées par apoptose et la cicatrice s'éclaircit. La fibronectine et l'acide hyaluronique initialement présents laissent place à du collagène essentiellement de type I, à des fibres élastiques et à des GAGs (CEDEF, 2005).





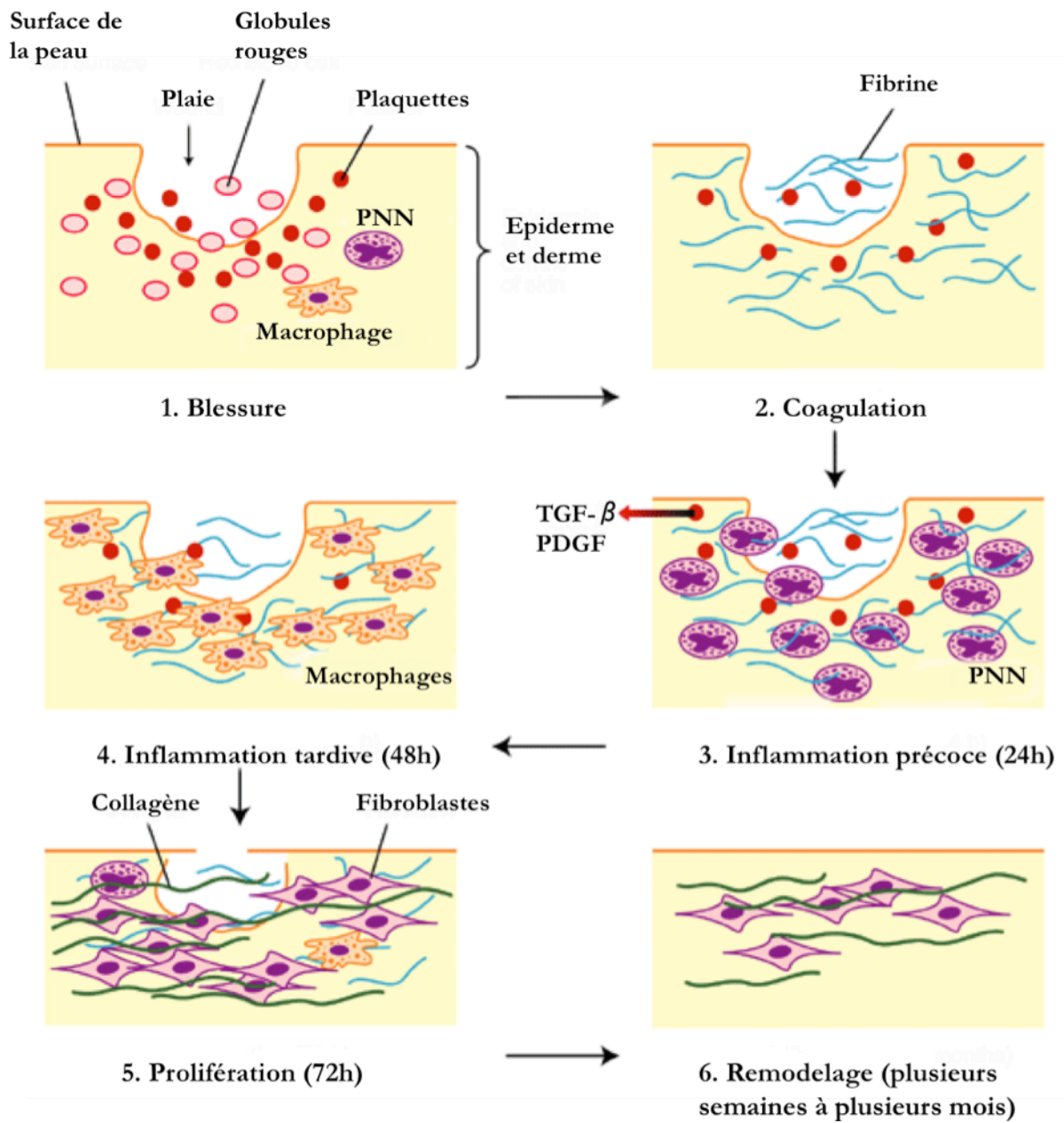


Figure 7 : Les phases de la réparation cutanée

Adapté de « Expert Reviews in Molecular Medicine © 2003 Cambridge University Press » Beanes et al., 2003

([http://journals.cambridge.org/fulltext\\_content/ERM/ERM5\\_08/S1462399403005817sup002.htm](http://journals.cambridge.org/fulltext_content/ERM/ERM5_08/S1462399403005817sup002.htm))



### 2.3.4 Cicatrisation pathologique

Comme vu précédemment, la cicatrisation est un processus long du fait de sa phase de remodelage qui s'étale dans le temps. La cicatrice définitive n'apparaît qu'après plusieurs mois voire plusieurs années.

Il arrive cependant que la cicatrisation ne se fasse pas normalement, ce qui aboutit à une cicatrice pathologique. Ce terme regroupe entre autres les cicatrices hypertrophiques, chéloïdes, rétractiles ou encore les retards à la cicatrisation.

Les cicatrices hypertrophiques sont de couleur rouge-violacé et s'élèvent au-dessus de la surface de la peau. Ne dépassant pas le bord de la plaie initiale, elles se distinguent des chéloïdes qui s'étendent au-delà des limites de la plaie. Dans le cas des cicatrices hypertrophiques comme dans le cas des cicatrices chéloïdes, le processus de cicatrisation ne s'interrompt pas et provoque une production anarchique de collagène responsable de la boursouffure de ces cicatrices. Ce phénomène de croissance de la cicatrice se limite aux six premiers mois dans le cas d'une cicatrice hypertrophique, tandis qu'il se poursuit dans le temps pour les chéloïdes.

Les cicatrices chéloïdes sont des pseudotumeurs cutanées bénignes qui présentent des extensions en pattes de crabe. Inesthétiques, elles sont résistantes à la chirurgie puisqu'en cas d'ablation, elles se reforment très souvent.

Les cicatrices rétractiles surviennent fréquemment après des brûlures profondes (Senet, 2000). Elles résultent souvent de la mauvaise orientation de la plaie par rapport aux lignes de tractions physiologiques. Elles peuvent provoquer des dysfonctionnements au niveau de la mobilité des membres, ce qui est particulièrement inconfortable.

Les retards à la cicatrisation connaissent de nombreuses étiologies différentes (tableau 1).



<b>Causes générales</b>	Carences nutritionnelles	carences protéiques, vitaminiques, en zinc
	Carences vasculaires	- insuffisance artérielle et/ou veineuse - microangiopathie (sclérodermie, vascularite, diabète...)
	Causes endocriniennes	- diabète (micro et macroangiopathie, causes infectieuses) - hypercorticisme
	Maladies du tissu conjonctif	- syndrome d'Ehlers-Danlos, déficit en prolidase
	Troubles de la coagulation et causes hématologiques	- thrombopathies, déficits en facteur VIII, XIII - syndromes myéloprolifératifs, cryoglobulinémie, anémies
	Causes iatrogènes	- corticoïdes, radiothérapie, chimiothérapie
	Divers	- déficits immunitaires, insuffisance cardiaque, vascularite - vieillissement, tabac, alcool, stress
<b>Causes régionales</b>	Surinfection virale ou bactérienne	
	Présence de débris fibrineux, nécrotiques, hématome	
	Dénervation	
	Erreurs de traitement local	

Tableau 1 : Principales causes de retard de cicatrisation

Adapté de «Physiologie de la cicatrisation cutanée »  
(Senet, 2000)



### 2.3.5 Reconstruction des tissus : de la simple plaie à la greffe de peau

Une greffe cutanée est un fragment de peau qui va être complètement séparé de son site donneur pour être fixé sur un site receveur qui va spontanément le revasculariser (Meaume et *al.*, 2005). Cela suggère donc que pour qu'une greffe prenne, le tissu receveur doit être correctement vascularisé.

Une fois le greffon en place, on distingue trois phases (Meaume et *al.*, 2005) :

- **l'imbibition plasmatisque**, qui correspond à une phase ischémique. Le greffon n'est alimenté que par l'exsudat de la plaie étant donné qu'il n'a pas encore établi de connexion vasculaire. Cette phase s'étale sur 24 à 48h. Au delà, l'absence de vascularisation du greffon entraîne sa destruction.
- **la revascularisation** ; on considère que la vascularisation est restaurée en 4 à 7 jours. Elle s'explique d'une part par la formation d'anastomoses et d'autre part par un phénomène de néo-vascularisation (Ledecq, 2013).
- **la réinnervation**, qui est concomitante avec le retour de la sensibilité. Sa réintégration, partielle, longue, s'étale sur plusieurs mois et elle est rarement correcte.

En fonction du type de donneur, on distingue plusieurs types de greffes : les autogreffes (prélèvement sur l'individu lui-même), les isogreffes (prélèvement sur un jumeau homozygote), les allogreffes (prélèvement sur un autre être humain) et les xéno-greffes (prélèvement sur un animal).

Les greffes de peau trouvent principalement leurs indications dans les lésions dont la perte de substance est importante. En effet, la perte de substance est telle que seule une couverture de la plaie par le greffon peut faire envisager la guérison. Cette perte de substance peut faire suite à des brûlures profondes, à des dermabrasions traumatiques profondes et étendues, à l'excision de nævus géants (Meaume et *al.*, 2005), à des morsures *etc.*

La complication la plus redoutable dans ce type d'intervention est la nécrose du greffon, qu'elle résulte d'une ischémie, d'une infection ou les deux (Revol, 2006).



## **DEUXIÈME PARTIE : L'ANIMAL UTILISÉ DANS SON INTÉGRITÉ COMME MÉDICAMENT**

---



# 1 Les sangsues médicinales : l'hirudothérapie

---

L'utilisation des sangsues en médecine remonte à l'Égypte ancienne. Connues également des grecs, les sangsues étaient utilisées pour rétablir l'équilibre des humeurs. La théorie des humeurs, élaborée par Hippocrate puis reprise par Galien, stipulait que l'Homme possédait quatre humeurs différentes : le sang, le phlegme, la bile noire, la bile jaune et que la prédominance d'une humeur était caractéristique d'une maladie. Les sangsues étaient donc utilisées pour « aspirer le mal » et rétablir l'équilibre de ces balances.

Si les sangsues ont eu une popularité fluctuante selon les époques, c'est au XIX<sup>ème</sup> siècle que leur utilisation atteint son zénith. C'est en effet sous l'influence de François Joseph Victor Broussais, chirurgien dans la Grande Armée de Napoléon, que la thérapie par les sangsues devient très en vogue. Cependant, l'utilisation excessive et sans discernement des sangsues conduit à de nombreuses hémorragies ; s'amorce alors la phase de déclin de cette pratique.

Il faudra attendre la fin du XX<sup>ème</sup> siècle pour que la sangsue soit remise sur le devant de la scène. En France, c'est le professeur Jacques Baudet, chirurgien plasticien au CHU de Bordeaux, qui innove en utilisant des sangsues lors de la réimplantation de doigts.

## 1.1 Espèces utilisables

S'il existe plus de 600 espèces de sangsues répertoriées, seule la sangsue médicinale *Hirudo medicinalis* est utilisée à des fins thérapeutiques en Europe.

Certains auteurs rapportent également l'utilisation d'*Hirudo verbana*. Il semblerait cependant qu'*Hirudo medicinalis verbana* soit un terme plus approprié pour parler de cette espèce. En effet, il s'avérerait qu'*Hirudo verbana* ne soit en fait qu'un sous-groupe de l'espèce *Hirudo medicinalis* ! Phylogénétiquement très proches et de qualité égale en thérapie, c'est donc indifféremment que la sangsue *Hirudo medicinalis verbana* et la sangsue *Hirudo medicinalis medicinalis* seront regroupées sous un unique et même terme : *Hirudo medicinalis* (Kaehler Schweizer, 2008).

Il est à noter que cette espèce est aujourd'hui menacée d'extinction et fait partie de la liste des animaux protégés par la convention de Washington (également connue sous le nom de CITES).



## 1.1.1 Présentation des sangsues médicinales

### 1.1.1.1 Taxonomie

D'un point de vue taxonomique, la sangsue appartient à l'embranchement des Annélides et plus particulièrement au sous-embranchement des Clitellates.

Les annélides se définissent comme étant des vers annelés aquatiques ou terrestres possédant un corps segmenté en métamères.

L'appartenance au sous-embranchement des Clitellates se justifie par la présence d'un clitellum, renflement du corps des Annélides où sont sécrétés les cocons muqueux abritant les œufs. Au sein des Clitellates, les sangsues appartiennent à la classe des Hirudinées caractérisées par leur absence de soie et parapodes. Elles font partie de l'ordre des Arhynchobdellidés caractérisés par la présence de 3 mâchoires dentées et constituent la famille des Hirudinidés et le genre *Hirudo*.

### 1.1.1.2 Morphologie générale

Formée de 34 métamères, la sangsue possède une forme cylindrique aplatie dorso-ventralement. Elle possède une coloration noirâtre à vert olive.

La sangsue est un ver très contractile qui mesure environ 12 centimètres. Elle est capable de se rétracter, réduisant ainsi sa taille des deux tiers (Whitaker, 2005). La sangsue adulte possède un diamètre pouvant atteindre 1,5 centimètre et pèse 1 gramme voire 1,5 gramme avant de se nourrir (Whitaker, 2005).

Cependant, ces mesures connaissent d'importantes fluctuations corrélées à l'état nutritionnel de la sangsue.

La sangsue présente une ventouse à chacune de ses extrémités (figure 8). La ventouse postérieure qui est la plus puissante sert à la fixation de la sangsue. La ventouse antérieure plus petite et plus mobile, située au niveau de la tête, forme l'organe de succion et se distingue de la ventouse postérieure par ses perforations.

La sangsue possède un appareil digestif très développé qui peut accueillir une quantité de sang représentant jusqu'à dix fois son poids (Kaehler Schweizer, 2008) (site web de la société Ricarimpex) (figure 8).

Son estomac particulièrement extensible présente des poches latérales servant de garde-manger pour le sang ingéré (Kaehler Schweizer, 2008). Le sang ingéré par la cavité buccale, est conduit jusqu'à l'estomac grâce à un péristaltisme pharyngien puis va progressivement être hémolysé. Cette destruction des érythrocytes est le fruit de l'action des bactéries symbiotiques logées dans le tube digestif de l'annélide.

Parmi ces bactéries symbiotiques, indispensables à la digestion, on trouve *Aeromonas hydrophila* et *Pseudomonas hirudinis* (site web de la société Ricarimpex).

La digestion, très lente, s'étale sur plusieurs mois. Les sangsues possèdent une forte résistance au jeûne et pourraient s'abstenir de manger pendant 1 an (Whitaker, 2005).

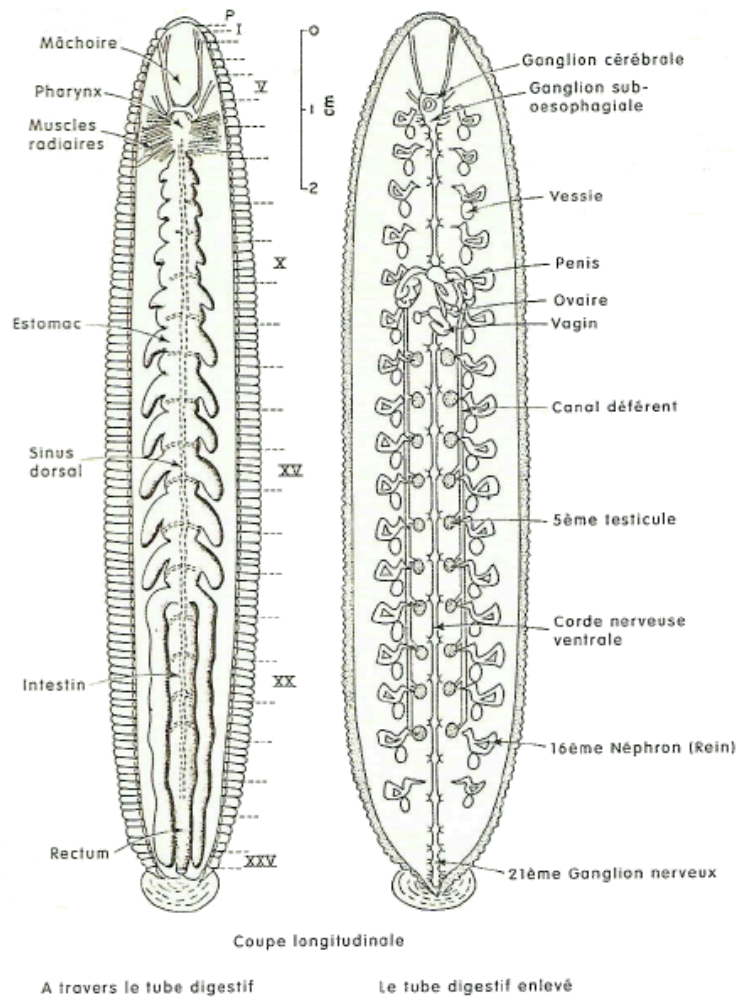


Figure 8 : Coupe longitudinale d'*Hirudo medicinalis* d'après K.H. Mann, 1962 (Kaehler Schweizer, 2008)





### 1.1.1.3 Mode de vie

Les sangsues vivent dans les eaux douces, stagnantes et plutôt froides. Le milieu de vie des sangsues doit leur permettre de pouvoir s'enterrer pour se protéger des périodes de grand froid ou de grandes chaleurs (Kaehler Schweizer, 2008). Dans ces lieux, les sangsues doivent également pouvoir trouver des proies pour se nourrir et de la végétation aquatique pour cacher les cocons.

Si les sangsues sont connues pour être hématophages, il est à noter que les jeunes sangsues se nourrissent de larves d'insectes ou de petits oligochètes et ce n'est que plus tard qu'elles se nourrissent de sang (Manaranche, 2015).

L'assèchement des marais conjugué à la pollution et à l'impact négatif de l'Homme sur l'environnement, sont responsables de la désertification des sangsues dans leur milieu de vie naturel. Menacées d'extinction, elles sont aujourd'hui élevées en bassins reconstitués ou en laboratoires.

En France, Ricarimpex, située dans la ville d'Eysines, est la seule entreprise française spécialisée dans l'élevage et la commercialisation des sangsues médicinales (site web de la société Ricarimpex). C'est donc dans le département de la Gironde que l'hirudiniculture bat son plein. Les bassins reconstitués reproduisent le milieu de vie naturel des sangsues tandis que l'élevage en laboratoire permet d'optimiser les conditions d'élevage et d'assurer ainsi un suivi constant de la naissance à la vente de la sangsue.

Les sangsues sont des êtres hermaphrodites mais qui ne peuvent cependant pas s'autoféconder. Leur reproduction conduit à la formation de cocons qui éclosent après environ 6 semaines, aboutissant alors à la naissance de 5 à 30 sangsues par cocon (Kaehler Schweizer, 2008).

## 1.2 Intérêt de l'hirudothérapie dans la guérison d'une plaie

L'utilisation de la sangsue en médecine se justifie par la richesse de ses sécrétions salivaires.

En 1884, le physiologiste britannique John Berry Haycraft met en évidence pour la première fois l'hirudine et démontre ses propriétés anticoagulantes. Depuis, de multiples nouvelles substances actives ont été caractérisées.

Si l'effet de saignée exercé par la sangsue est déjà très intéressant, c'est en fait sa salive qui justifie sa place en thérapeutique (Kaehler Schweizer, 2008).



### 1.2.1 Indications

Les domaines d'application des sangsues sont aujourd'hui variés mais leur place est particulièrement importante dans le domaine de la chirurgie plastique et réparatrice.

Le traitement de la congestion veineuse des lambeaux chirurgicaux constitue leur indication principale (Khelifa, 2011). Elles ont également un intérêt dans le soulagement des hématomes post-traumatiques et post-opératoires (Kaehler Schweizer, 2008). Soulignons que les sangsues sont particulièrement attirées par le sang désoxygéné, ce qui rend leur indication dans la congestion veineuse encore plus parlante.

Pour comprendre l'intérêt de leur utilisation dans le traitement de la congestion veineuse, il faut savoir que si la réanastomose artérielle est relativement aisée, ce n'est pas le cas des réanastomoses veineuses.

Comme vu précédemment, la complication la plus redoutable d'une greffe est la nécrose. La survie d'un tissu réimplanté repose sur le bon raccordement des artères ainsi que sur l'efficacité du retour veineux (Kaehler Schweizer, 2008). Les réanastomoses veineuses étant plus longues à se mettre en place, il arrive qu'une congestion veineuse s'installe. La congestion veineuse résulte d'une grande perturbation du drainage veineux voire d'un blocage complet de celui-ci alors que le flux artériel est intact (Riede et al., 2010). Consécutivement à l'accumulation de sang, la pression intra-vasculaire augmente et peut provoquer le rejet du tissu réimplanté suite à une hyperpression (Chorus Limoges, 2013) ; la modification de la perméabilité des capillaires conduit à la formation d'un œdème. Cette accumulation de sang désoxygéné au sein du tissu crée une situation d'hypoxie et peut entraîner des lésions nécrotiques (Ayadi, 2015). Cliniquement, une stase veineuse se manifeste par une peau tiède violacée avec un tissu œdémateux (Kaehler Schweizer, 2008). La stase veineuse est donc une sérieuse complication des chirurgies reconstructives consécutive à des greffes, des lambeaux libres etc.

S'il est parfois possible de pallier à ce genre de complications par une reprise chirurgicale, ce n'est pas toujours le cas. En effet, pour illustrer ces propos on peut prendre l'exemple d'un essai clinique mené entre 1995 et 2000, dans l'Université du Michigan. Cet essai clinique, rapporté en 2002 par Chepeha et al., avait pour but d'évaluer l'efficacité et les complications associées d'un protocole axé autour de l'hirudothérapie pour des patients ayant subi des transplantations de tissus au niveau des régions tête et cou. Sur ces nombreuses chirurgies effectuées en 5 ans, 8 patients ont développé des obstructions veineuses qui ne pouvaient pas être réparées chirurgicalement ou par des traitements thrombolytiques conventionnels. De ce fait, les 8 patients présentant ce type de complications ont été inclus dans un protocole bien défini. Ces patients ont donc bénéficié d'une thérapie par les sangsues associée à un traitement anti-thrombotique, accompagnée de bilans sanguins réguliers, de transfusions sanguines si cela était nécessaire et d'une antibioprophylaxie contre *Aeromonas hydrophila* (bactérie symbiotique de la sangsue). Ce protocole étalé sur plus ou moins une semaine, a permis de sauver les 8 lambeaux menacés par l'obstruction veineuse. Cette étude confirme le véritable intérêt thérapeutique de la sangsue (Singh, 2010).



La sangsue assure donc la survie du greffon le temps qu'une néo-vascularisation se mette en place. Elle est également un bon indicateur de l'état du greffon. En effet, elle ne mord que les tissus vivants, donc lorsqu'une sangsue ne veut pas mordre, on peut être amené à se questionner sur la viabilité du greffon. Ainsi, la succion des sangsues stimule l'irrigation des tissus susceptibles de se nécroser, favorise la restauration de l'anastomose des capillaires et accélère le désengorgement des greffons (Roulet, 2010).

Il est cependant important de souligner qu'en cas d'occlusion artérielle, l'utilisation de sangsues est une contre-indication.

Les sangsues sont également indiquées dans le traitement des cicatrices douloureuses et inesthétiques (figure 9). Elles seraient capables d'assouplir les cicatrices rétractées et d'atténuer ainsi les contractures (Kaehler Schweizer, 2008).





Figure 9 : Cas d'hirudothérapie chez un patient de 94 ans

(photographies extraites de l'article : *Medicinal leeches for the treatment of venous congestion and hematoma after plastic reconstructive surgery*, Riede et al., 2010)

- a : patient présentant une congestion veineuse de la partie distale du lambeau un jour après la reconstruction de la lèvre inférieure.
- b : traitement de la congestion veineuse à l'aide de 3 sangsues.
- c : décoloration significative du lambeau un jour après le traitement.
- d : apparence clinique après 4 jours.
- e : apparence clinique après 2 mois.

## 1.2.2 Mécanisme d'action

### 1.2.2.1 Rappel sur l'hémostase

(Gouault-Helmann, 2006) et (Vaubourdolle, 2013)

Au préalable, un rappel sur l'hémostase s'impose pour comprendre l'action des différents composés salivaires de la sangsue résumée dans le tableau 3. Précédemment, nous avons développé l'hémostase primaire pour comprendre le mécanisme d'action des plaquettes dans la cicatrisation cutanée, intéressons-nous maintenant à la coagulation.

Parallèlement à l'hémostase primaire se produit l'hémostase secondaire également appelée coagulation (figure 10).

La coagulation a pour but de former un caillot de fibrine nécessaire à la consolidation du clou plaquettaire. Cela est rendu possible grâce à l'activation en cascade d'enzymes spécifiques : les facteurs de coagulation. Les facteurs de coagulation sont au nombre de dix et sont désignés par un nom et un numéro en chiffre romain. Le suffixe « a » accolé au chiffre romain indique que le facteur se trouve sous sa forme activée. A l'état normal ils se trouvent sous leur forme inactive mais ils s'activent en cascade pour réparer une brèche vasculaire.

Numéro	Nom	Fonction
I	Fibrinogène	Substrat
II	Prothrombine	Zymogène
V	Proaccélélerine	Cofacteur
VII	Proconvertine	Zymogène
VIII	Facteur anti-hémophilique A	Cofacteur
IX	Facteur anti-hémophilique B	Zymogène
X	Facteur de Stuart	Zymogène
XI	Facteur de Rosenthal	Zymogène
XII	Facteur de Hagerman	Zymogène
XIII	Facteur stabilisant la fibrine	Zymogène

Tableau 2 : Les différents facteurs de coagulation

(Source : cours de M. Jean Feuillard, hématologue au CHU de Limoges.)



La coagulation plasmatique se réalise *in vitro* par le biais de deux voies distinctes : la voie intrinsèque et la voie extrinsèque. Cependant, *in vivo* c'est le facteur tissulaire (FT), glycoprotéine membranaire fabriquée par les fibroblastes de la tunique externe des vaisseaux, qui joue un rôle primordial dans l'induction de la cascade de coagulation (Gouault-Helmann, 2006).

- **Déclenchement de la coagulation**

Physiologiquement, le FT est absent des cellules au contact du sang. Cependant, la mise à nu de la zone sous-endothéliale consécutive à une blessure au niveau de la paroi vasculaire aboutit à son démasquage et déclenche alors la coagulation (Gouault-Helmann, 2006).

Le FT se complexe ensuite avec le facteur VII qui va s'activer en facteur VIIa.

- **Génération du facteur Xa**

Deux situations peuvent être rencontrées en fonction de la concentration de FT : si la concentration en FT est importante, alors le complexe formé par le FT et le facteur VIIa va être capable d'activer directement le facteur X en facteur Xa ; mais, si la concentration en FT est moindre, alors le complexe FT /facteur VIIa activera préférentiellement le facteur IX en facteur IXa. En présence du facteur VIIIa le facteur IXa activera le facteur X. L'amplification du nombre de facteurs IXa et Xa générés se fait par l'intermédiaire de la voie intrinsèque. La voie intrinsèque, également appelée voie endogène, est déclenchée par l'activation du facteur XII consécutive à une activation par le complexe pré-kallicréine/kininogène de haut poids moléculaire. Le facteur XIIa active ensuite le facteur XI lui-même capable d'activer le facteur IX en facteur IXa à l'instar du complexe formé par le facteur tissulaire et le facteur VIIa. L'activation du facteur IX par l'intermédiaire du facteur XI et XII semble cependant être minime *in vivo*.

- **Génération de thrombine**

Le facteur II, également appelé prothrombine, est activé grâce au complexe prothrombinase. Ce complexe regroupe le facteur Xa et son cofacteur, le Va, qui sont reliés aux phospholipides plaquettaires par des ponts calciques (Vaubourdolle, 2013).

Le facteur II ainsi activé prend le nom de thrombine qui a un rôle clé du fait de ses multiples fonctions. En effet, elle est capable de stimuler la libération de PAF et elle joue également un rôle dans la dernière étape de la coagulation, permettant ainsi la transformation du fibrinogène en fibrine (Whitaker, 2005). La thrombine amplifie sa propre formation par rétroactivation des facteurs V, VIII et XI (Vaubourdolle, 2013). Le support de l'ensemble de ces réactions en cascade n'est autre que la surface des plaquettes qui est chargée négativement lorsqu'elles sont activées.



## • Formation de fibrine

La formation de fibrine est réalisée grâce à l'action protéolytique de la thrombine sur le fibrinogène. Cela aboutit à la formation de monomères de fibrine qui seront ensuite stabilisés grâce à l'action du facteur XIII préalablement activé par la thrombine.

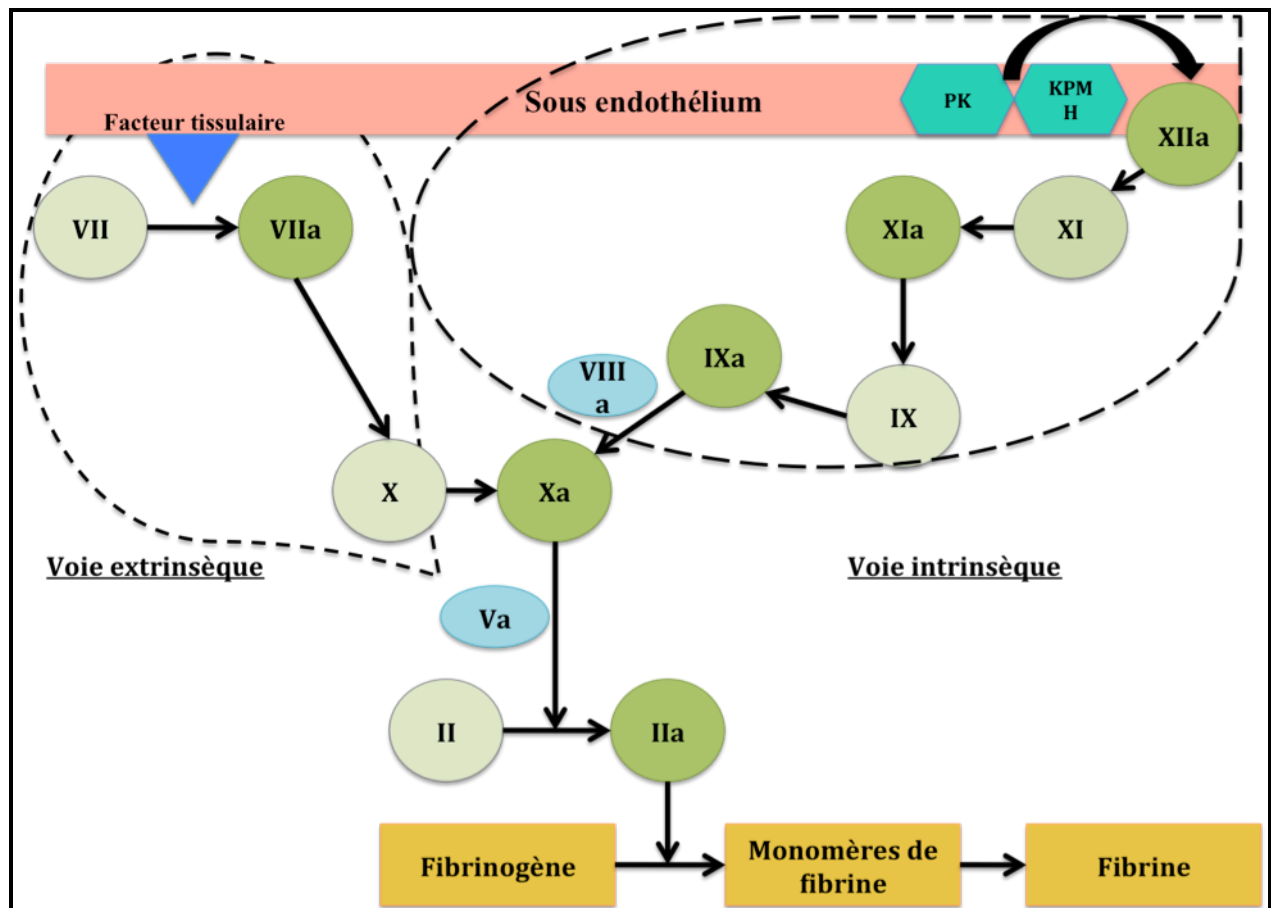


Figure 10 : La cascade de coagulation

## • Fibrinolyse

Dans les situations physiologiques, la fibrinolyse assure la disparition des caillots de fibrine qui permet la mise en place du tissu de granulation.

La fibrinolyse est rendue possible grâce à l'activation du plasminogène en plasmine qui va progressivement digérer la fibrine. Les produits de dégradation formés par cette lyse des caillots de fibrine prennent le nom de D-dimères et leur concentration dans le plasma s'avère être un bon reflet de la formation de fibrine et de sa lyse (Gouault-Helmann, 2006).

La sangsue, par le biais de sa morsure, exerce une activité décongestionnante mais son véritable intérêt thérapeutique réside dans la composition de sa salive.

Comme nous l'avons vu précédemment, l'application précoce de sangsues sur un tissu congestionné au niveau des veines diminue rapidement la pression intra-vasculaire et peut permettre d'échapper à l'apparition de lésions nécrotiques. Les sangsues ont un effet de saignée qui s'ajoute aux propriétés de leurs substances actives salivaires.

### 1.2.2.2 Action sur l'hémostase

(figure 11)

La salive des sangsues renferme une multitude de substances actives (tableau 3).

La plus connue des sécrétions est l'**hirudine**, une petite protéine formée de 65 acides aminés possédant des propriétés anticoagulantes. L'hirudine permet aux sangsues de rendre le sang moins coagulable, propriété qui leur est essentielle pour l'ingestion de leur repas. L'hirudine est un inhibiteur direct de la thrombine. Possédant une forte affinité pour celle-ci (Hildebrandt, 2011), l'hirudine se fixe sur la thrombine empêchant alors les substrats de la thrombine de se lier au site de reconnaissance (Whitaker, 2005). L'inhibition de la thrombine perturbe la cascade de coagulation, empêchant alors la transformation du fibrinogène en fibrine ainsi que l'activation du facteur XIIIa qui a pour rôle de stabiliser la fibrine.

L'hirudine naturelle n'est pas aujourd'hui commercialisée en tant que telle mais on sait produire des dérivés synthétiques par génie génétique. Ils sont au nombre de trois : la désirudine (Revasc®), la lépirudine (Refludan®) et la bivalirudine (Angiox®).

Moins efficaces que l'hirudine naturelle, ces anti-thrombotiques restent assez peu utilisés dans la thérapeutique actuelle, et on leur préfère l'héparine malgré l'effet indésirable majeur, la thrombopénie, qu'elle peut provoquer.

L'hirudine semblerait également avoir une action sur le facteur X (Whitaker, 2005).

La salive de sangsue renferme également des inhibiteurs de l'adhérence et de l'activation plaquettaire agissant en bloquant l'interaction du vWF avec le collagène.

Parmi eux, on trouve notamment la **saratine** qui va agir en se fixant sur les collagènes de type I et II exposés lors d'une brèche vasculaire et qui va inhiber la fixation du vWF de manière compétitive (Hildebrandt, 2011). Le vWF ne pouvant plus se lier au collagène, l'agrégation plaquettaire n'aura pas lieu.

La **caline** présente un mode d'action similaire. Elle se fixe au collagène de type I empêchant alors sa liaison avec le facteur de von Willebrand. Il semblerait qu'elle soit à l'origine des saignements prolongés observés après une morsure de sangsue (Hildebrandt, 2011).

Le temps plaquettaire de l'hémostase primaire se trouve ainsi perturbé par ces deux molécules.



On retrouve également dans la salive une enzyme, l'**apyrase**, qui agit aussi sur ce temps plaquettaire. Elle transforme l'adénosine diphosphate (ADP) en adénosine monophosphate (AMP) ce qui contribue à minimiser l'adhésion plaquettaire.

En effet, comme nous l'avons vu précédemment, l'ADP joue un rôle important dans le recrutement et l'activation des plaquettes. L'AMP ne possédant pas ces propriétés, l'agrégation plaquettaire est amoindrie.

La salive de sangsues renferme également des substances actives capables de perturber la fibrinolyse. Parmi elles, on compte notamment les **bdellines**.

Il existe deux sortes de bdellines : la bdelline A et la bdelline B. Ce sont des protéines très stables, retrouvées à différents endroits dans le corps de la sangsue, et particulièrement au niveau des organes sexuels (Ascenzi, 1995). Les bdellines sont des inhibiteurs de la trypsine et de la plasmine. En s'opposant à l'activité de la plasmine, les bdellines pourraient être utilisées en thérapeutique (notamment la bdelline A) pour contrôler les saignements. En inhibant des protéases inflammatoires, les bdellines présentent également des propriétés anti-inflammatoires.

La **déstabilase** va également agir sur la fibrinolyse mais elle ne va pas s'y opposer à l'image des bdellines ; au contraire, elle la stimule. La déstabilase est une isopeptidase capable de lyser les caillots de fibrine. Cette propriété fibrinolytique retient toute l'attention pour de futures applications thérapeutiques car s'il existe des anti-thrombotiques sur le marché, le nombre de thrombolytiques s'avère beaucoup plus restreint. Il convient de noter que la déstabilase joue également un rôle antimicrobien en agissant de deux façons différentes. Grâce à un mécanisme enzymatique elle est capable de digérer les ponts glycosidiques  $\beta$ -1,4 dans les peptidoglycanes des membranes cellulaires bactériennes ce qui conduit à la lyse de la bactérie. D'autre part, elle est capable d'agir par l'intermédiaire d'un mécanisme non enzymatique en inhibant la croissance bactérienne. Cette déstabilase joue un rôle antimicrobien au niveau de la peau de l'hôte, mais permet surtout à la sangsue d'éviter d'attraper une infection consécutive à une infection bactérienne dont l'hôte pourrait être porteur.

### 1.2.2.3 Activité anti-inflammatoire

A l'instar des bdellines, les **églines** sont des inhibiteurs de protéases.

L'églie existe sous plusieurs formes mais les deux isoformes principales sont la B et la C. Ces protéines très stables inhibent l'élastase, la cathepsine G et la chymotrypsine libérées lors de certains phénomènes inflammatoires. Les églines possèdent des propriétés anti-inflammatoires reconnues mais elles présentent un intérêt majeur en thérapeutique puisqu'elles jouent un rôle préventif dans l'emphysème pulmonaire.

En maintenant la balance élastase/anti-élastase à l'équilibre, elles assurent l'intégrité des structures alvéolaires (site web de la société Ricarimpex).

La salive d'*Hirudo medicinalis* renferme des inhibiteurs de la tryptase comme la « **leech-derived trypsin inhibitor** » (LDTI). Pour rappel, la tryptase est une sérine protéase libérée par les mastocytes activés lors notamment d'allergies, de processus inflammatoires ou encore d'infections parasitaires. En relarguant cette substance, la sangsue met en place un mécanisme lui permettant de se défendre contre les réactions immunitaires mises en place par l'hôte consécutivement à la morsure. La LDTI inhibe la tryptase mais également la trypsine, la chymotrypsine, la kallikréine des tissus, la thrombine et la cathepsine G neutrophilique (Ascenzi, 1995). Elle contribue ainsi à atténuer la réaction inflammatoire de l'hôte.

Des **inhibiteurs des composants du complément** ont également été identifiés. Le système du complément regroupe de multiples protéines dont le rôle est de compléter l'action des immunoglobulines lors de réactions immunitaires. Le complément stimule l'inflammation donc en inhibant l'enzyme C1s du complément, et ces substances empêchent l'activation de la voie classique du système du complément et contribue ainsi à diminuer l'inflammation.

#### 1.2.2.4 Action sur la vasomotricité

L'**histamine** libérée par la sangsue permet d'augmenter la perméabilité vasculaire.

La vasodilatation est également favorisée par la libération du « **leech carboxypeptidase inhibitor** » (LCI) qui inhibe les carboxypeptidases. Les carboxypeptidases sont des métalloprotéases qui clivent et inactivent les kinines impliquées dans l'augmentation locale du flux sanguin. En s'opposant à leur clivage, les LCI permettent le maintien de la vasodilatation cutanée.

A l'image des LCI, l'**hirustasine** des sangsues est également impliquée dans le système kinine/kallicréine. En inhibant la kallicréine tissulaire elle s'oppose à la formation de kinines qui sont des substances vasodilatatrices et évite ainsi une vasodilatation trop importante chez l'hôte.

#### 1.2.2.5 Action sur la perméabilité tissulaire

La **hyaluronidase** libérée par les sangsues est capable de digérer l'acide hyaluronique contenu dans la MEC. Augmentant alors la perméabilité tissulaire, la hyaluronidase facilite la pénétration des composés salivaires dans la région où se nourrit la sangsue (Hildebrandt, 2011).

A l'action de la hyaluronidase s'ajoute celle d'une **collagénase** qui digère le collagène et accroît également la perméabilité tissulaire.

### 1.2.2.6 Action anesthésiante

La salive de sangsue semble renfermer des composés possédant une action anesthésiante. Cependant, aucun composant salivaire susceptible de posséder une action anesthésiante n'a été découvert à l'heure actuelle.

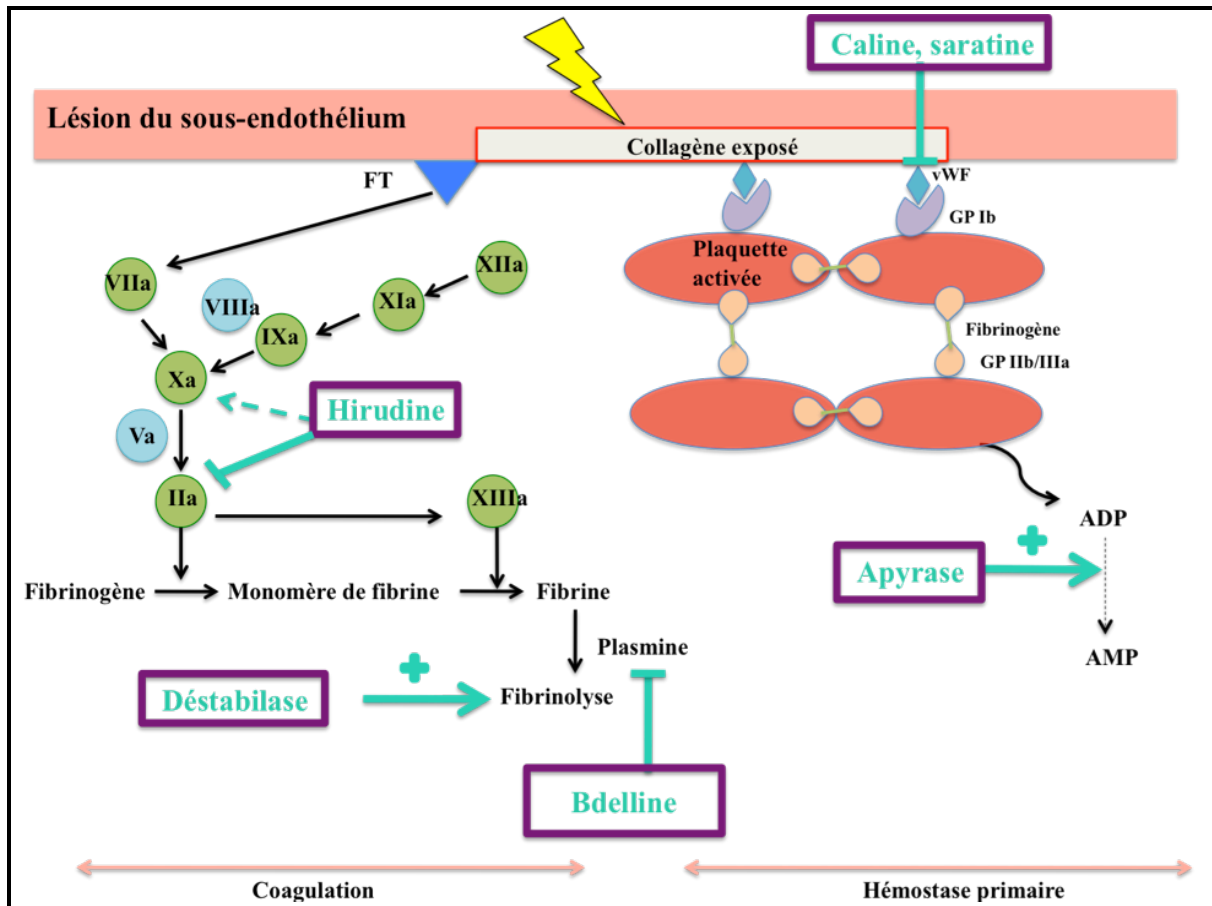


Figure 11 : Action des composés salivaires d'*Hirudo medicinalis* au niveau de l'hémostase



Substance active	Niveau d'action	Mécanisme d'action	Conséquences
<b>Hirudine</b>	Coagulation	Inhibition de la thrombine	Pas de coagulation
<b>Saratine</b>	Hémostase primaire	Fixation au collagène	Inhibition de l'adhérence et de l'activation plaquettaire
<b>Caline</b>	Hémostase primaire	Fixation au collagène	Inhibition de l'adhérence et de l'activation plaquettaire
<b>Apyrase</b>	Hémostase primaire	Transformation de l'ADP en AMP	Inhibition de l'agrégation plaquettaire
<b>Bdelline</b>	Fibrinolyse/Inflammation	Inhibition de la trypsine et de la plasmine	Minimise la fibrinolyse Activité anti-inflammatoire
<b>Déstabilase</b>	Fibrinolyse/Bactéries	Lyse de la fibrine Lyse de la membrane cellulaire des bactéries et inhibition de leur croissance	Favorise la fibrinolyse Activité antimicrobienne
<b>Egline</b>	Inflammation	Inhibition de protéases	Activité anti-inflammatoire
<b>LDTI</b>	Inflammation	Inhibition de protéases	Activité anti-inflammatoire
<b>Inhibiteur du complément</b>	Inflammation	Inhibition de l'enzyme C1s	Activité anti-inflammatoire
<b>Histamine</b>	Vaisseaux	/	Vasodilatation
<b>LCI</b>	Vaisseaux	Inhibition des carboxypeptidases	Vasodilatation
<b>Hirustasine</b>	Vaisseaux	Inhibition de la kallicréine	Vasoconstriction
<b>Hyaluronidase</b>	Tissus	Digestion de l'acide hyaluronique	Augmentation de la perméabilité tissulaire
<b>Collagénase</b>	Tissus	Digestion du collagène	Augmentation de la perméabilité tissulaire

Tableau 3 : Résumé de l'action des composants salivaires d'*Hirudo medicinalis*



## **1.3 Utilisation pratique**

### **1.3.1 De l'hirudiniculteur à l'application au CHU de Limoges**

#### **1.3.1.1 Circuit d'approvisionnement**

L'approvisionnement en sangsues se fait par l'intermédiaire de l'entreprise Ricarimpex. Une fois la commande passée, elle est acheminée très rapidement par un transporteur express. Ricarimpex assure l'envoi des sangsues dans un linge humide placé au sein d'une boîte de polystyrène. Les sangsues livrées sont à jeun depuis au moins 3 mois. Une fois reçue, la commande est réceptionnée au niveau de la pharmacie centrale de l'hôpital.

La réception des sangsues fait l'objet d'une traçabilité au niveau du préparatoire de la pharmacie centrale. Sont reportées sur un cahier les mentions suivantes : date de la réception, nombre de sangsues réceptionnées, numéro de lot.

#### **1.3.1.2 Conditions de conservation**

Les sangsues sont ensuite déplacées dans un bocal en verre propre rempli d'eau minérale. Le numéro de lot est obligatoirement reporté sur le bocal. Le couvercle du bocal est perforé afin de laisser passer l'air.

Si l'eau minérale est choisie en fonction de son coût, l'eau du robinet est à proscrire du fait de sa concentration en chlore qui serait néfaste voire mortelle pour la sangsue. L'eau est changée en moyenne tous les dix jours voire quinze jours selon le nombre de sangsues y résidant.

Le bocal abritant les sangsues est ensuite déplacé dans une armoire réfrigérée à 4°C, à l'abri de la lumière. La conservation à des températures basses évite aux sangsues de se reproduire. Elles peuvent être conservées plusieurs mois dans ces conditions et ne seront pas nourries avant d'être utilisées sur l'Homme.

#### **1.3.1.3 Répartition des sangsues dans les services**

(figure 12)

Entre avril 2008 et mai 2015, 2068 sangsues ont été délivrées par la pharmacie centrale.

Ces sangsues ont été utilisées par 49 patients différents, ce qui rapporte le nombre moyen de sangsues utilisées par patient à un peu plus de 42. Cela s'explique par le fait que l'utilisation de sangsues pour une même personne peut s'échelonner sur plusieurs jours en fonction de l'affection.



Le service le plus consommateur de sangsues est de loin celui de l'orthopédie. Elles sont particulièrement utilisées suite à des réimplantations digitales mais également dans des suites de greffes pour revasculariser les lambeaux.

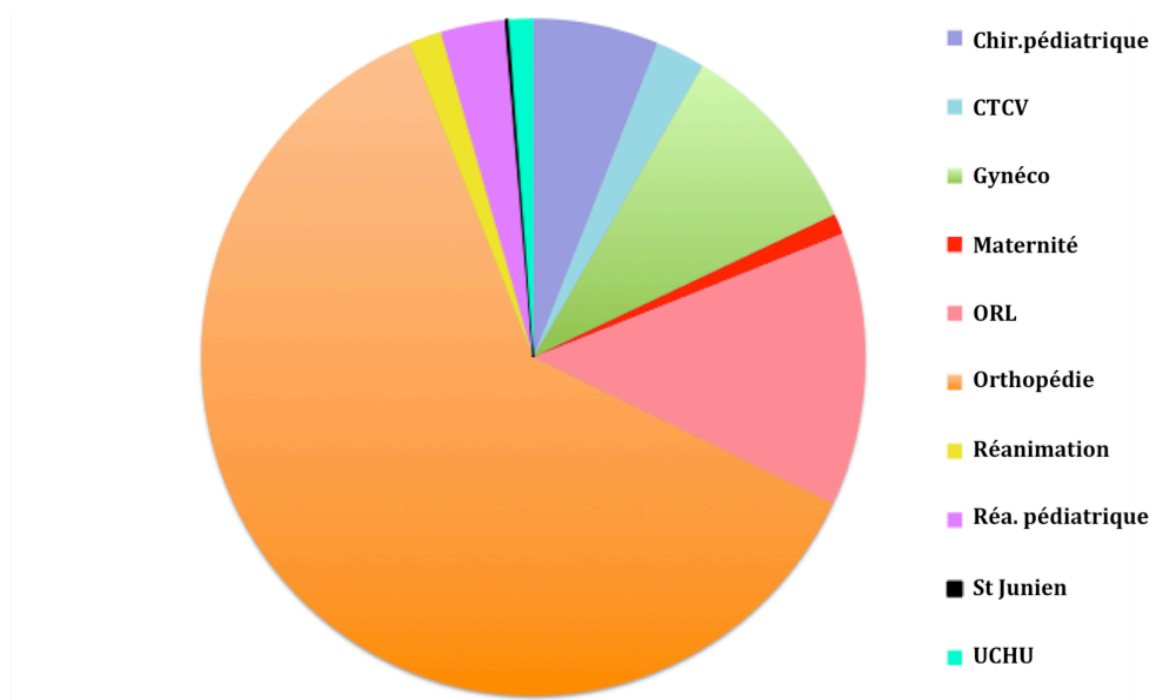


Figure 12 : Répartition de l'utilisation de sangsues dans les différents services

Chir. pédiatrique = chirurgie pédiatrique, CTCV = chirurgie thoracique et cardiovasculaire, Gynéco = gynécologie, ORL = oto-rhino-laryngologie, Réa. pédiatrique = réanimation pédiatrique, St Junien = hôpital de Saint-Junien, UCHU = unité chirurgicale d'hospitalisation d'urgence.

Le service d'ORL s'impose comme le deuxième secteur le plus consommateur de sangsues à l'hôpital suivi par le service de gynécologie.

L'utilisation de sangsues à l'hôpital reste cependant assez fluctuante et très médecin-dépendante.

### 1.3.1.4 Protocole d'utilisation des sangsues

Une fois la demande faite par les services, les sangsues médicinales, *Hirudo medicinalis*, sont délivrées par la pharmacie centrale.

Avant leur délivrance, une ampoule de gentamicine 10 mg/mL est versée dans l'eau où baignent les sangsues. La gentamicine est un antibiotique de la classe des aminosides utilisé pour minimiser le risque infectieux.

En effet, comme nous l'avons évoqué précédemment, les sangsues ne sont pas stériles. Les bactéries *Aeromonas hydrophila*, bien qu'indispensables à la digestion des sangsues, ne sont pas sans risque pour l'Homme.

*Aeromonas hydrophila* étant sensible à la gentamicine, l'utilisation de cet antibiotique est justifiée. Si ce protocole est utilisé à Limoges, ce n'est pas le seul existant. En effet, la littérature suggère également l'utilisation d'antiseptiques comme la chlorhexidine pour décontaminer les sangsues (Roulet, 2010) ou l'utilisation d'autres antibiotiques auxquels *Aeromonas hydrophila* est sensible (ciprofloxacine, tétracycline, etc.). A la décontamination des sangsues peut être ajoutée une autre mesure préventive : l'antibioprophylaxie. L'antibioprophylaxie se résume souvent à l'administration de ciprofloxacine au patient. Cependant, elle n'est pas pratiquée au CHU de Limoges.

L'application des sangsues sur le patient ne doit pas se faire à mains nues ; le port de gants est obligatoire. La manipulation des sangsues doit se faire avec délicatesse pour ne pas traumatiser l'annélide.

La zone d'application doit préalablement être désinfectée à l'aide d'un antiseptique puis rincée à l'eau claire. Les odeurs sont susceptibles d'avoir un effet répulsif sur l'animal qui ne voudra plus mordre. La température de l'eau appliquée sur la peau a également son importance. En effet, une eau chaude favorise une vasodilatation facilitant la morsure. De plus, les sangsues mordent préférentiellement entre 33 et 40°C et rarement en dessous de 25°C (Whitaker, 2005). Cela fait d'ailleurs des sangsues de bons indicateurs quant à la viabilité des greffons. S'ils sont sur le point de nécroser la température locale est logiquement diminuée par défaut de vascularisation.

Ensuite, une compresse de gaze percée en son centre est appliquée sur la zone à traiter et l'animal y est déposé. Le jeûne des sangsues censé stimuler la morsure peut parfois ne pas s'avérer suffisant. Il est alors possible de scarifier légèrement la peau afin d'en faire sortir une goutte de sang pour favoriser la succion de la sangsue.

La douleur éprouvée par le patient lors d'une morsure de sangsue s'apparente à celle d'une piqûre d'ortie. Rapidement, la douleur s'estompe grâce à l'action de molécules potentiellement anesthésiantes présentes dans la salive des sangsues mais encore non identifiées à ce jour, comme mentionné plus haut.



La présence du personnel soignant aux côtés du patient est nécessaire pendant le temps d'application des sangsues. En effet, les sangsues ayant la capacité de migrer, peuvent se diriger vers des orifices naturels, notamment les voies aérodigestives, et la surveillance est donc de mise. La durée de la succion s'étale en moyenne sur 10 à 30 minutes. Il est fortement déconseillé de tenter de décrocher la sangsue de force. Cela favorise une régurgitation de la sangsue au niveau de la plaie exposant alors le patient à un risque infectieux. En cas de nécessité absolue, la sangsue peut être détachée grâce à l'application d'une solution saline voire tout simplement de sel de table (Whitaker, 2003). Une fois les sangsues détachées, la plaie peut saigner plusieurs heures du fait des composants salivaires libérés par *Hirudo medicinalis*.

Les sangsues usagées sont traitées comme des déchets d'activités de soins à risques infectieux (DASRI). Elles sont à usage unique en raison du fait qu'elles pourraient être vectrices d'infections si elles étaient utilisées sur plusieurs patients. Elles ne doivent pas non plus être relâchées dans la nature après avoir servi. Les seules possibilités envisageables quant au devenir des sangsues usagées sont soit de les tremper dans un bain d'acétone, ce qui provoque leur mort rapidement, soit de les incinérer. Au CHU de Limoges, c'est la première méthode qui est privilégiée. L'entreprise Ricarimpex évoque également la possibilité de plonger les sangsues dans un bain de javel.

L'utilisation de sangsues n'est cependant pas sans conséquences et doit être évitée chez certaines catégories de personnes en raison de l'effet de saignée qu'elles provoquent.

### **1.3.1.5 Contre-indications**

L'hirudothérapie connaît certaines contre-indications, résumées dans le tableau 4 (Kaehler Schweizer, 2008).





Risques encourus	Contre-indications absolues	Contre-indications relatives
<b>Risque hémorragique</b>	- Hémophilie - Anémie sévère - Prise d'anticoagulants - Gastrite érosive/ulcère gastro-duodéal	- Prise d'antiagrégants plaquettaires - Anémie modérée
<b>Risque infectieux</b>	- Immunodépression	
<b>Risque allergique</b>	- Allergie grave connue à un des composants salivaires	- Allergie modérée à un des composants salivaires
<b>Risque dermatologique</b>		- Retard de cicatrisation
<b>Autres</b>		- Grossesse et allaitement

Tableau 4 : Contre-indications à l'utilisation des sangsues

L'utilisation de sangsues peut poser problème chez les personnes réticentes. En effet, sans être une contre-indication, la barrière psychologique peut parfois être un frein et ne doit pas être négligée. Il semblerait cependant qu'une grande majorité de patients accepte la pose de ces annélides visqueux sauf pour certaines localisations comme l'intérieur de la bouche.

### 1.3.1.6 Complications

La complication qui est la plus à craindre dans l'utilisation de sangsues médicinales reste l'infection à *Aeromonas hydrophila*. Cependant, des précautions visant à limiter l'incidence de ce genre de complications existent comme nous l'avons vu précédemment.

La bactérie *Aeromonas hydrophila* est un bacille à Gram négatif susceptible de provoquer des troubles de type gastro-entérite très sévères. Elle peut également entraîner des infections extra-digestives se manifestant alors par une infection des plaies ce qui est absolument contraire au bénéfice attendu lors de l'utilisation des sangsues dans la reconstruction tissulaire (Grosjean, 2011). Cette complication non négligeable pourrait alors menacer la guérison voire même être à l'origine d'un rejet du greffon.

La gravité des complications consécutives à une infection à *Aeromonas hydrophila* souligne l'importance des mesures préventives à mettre en œuvre.



## 2 Les asticots : la larvothérapie

---

L'utilisation abusive d'antibiotiques a conduit à l'émergence de bactéries résistantes à de nombreux traitements.

La nécessité de se tourner vers d'autres alternatives thérapeutiques a provoqué un regain d'intérêt pour la larvothérapie ces dernières années. C'est ainsi qu'en Europe, on compte chaque année environ 15 000 patients traités par cette méthode.

### 2.1 Historique

La larvothérapie également appelée asticothérapie, luciliathérapie ou encore « maggot -therapy » pour le terme anglophone, se définit comme étant l'utilisation délibérée de larves à des fins thérapeutiques. Elle est connue depuis des siècles.

En effet, depuis les temps les plus anciens, les bienfaits de l'utilisation de certaines larves dans la détersion et la désinfection des plaies avaient été observés par de nombreuses personnes. La découverte de peintures de la civilisation Maya en Amérique centrale et d'aborigènes en Australie en est la preuve.

C'est le chirurgien Ambroise Paré (1510-1590) qui fut le premier à constater les effets bénéfiques des larves appliquées dans les plaies suppuratives. En 1557, lors de la bataille de Saint-Quentin, ce fondateur de la chirurgie moderne remarque l'infestation fréquente des plaies purulentes par les larves et note que leur présence accélère la guérison. Malgré cette découverte intéressante, les asticots n'obtiennent pas grâce à ses yeux et restent pour lui des nuisances dans les plaies des blessés qu'il soigne.

Quelques années plus tard, le baron Dominique-Jean Larrey (1766-1842) décrit pour la première fois les effets positifs de certains asticots dans les plaies. Cependant, la découverte de l'accélération de la cicatrisation provoquée par les larves ou encore la disparition des tissus morts s'arrête au stade de la simple observation.

Le premier médecin occidental à mettre au point une technique de thérapie par les asticots est William Baer (1872-1931). Ce sont à nouveau les temps de guerres qui amènent les asticots sur le devant de la scène. C'est au cours de la Première Guerre mondiale que Baer fut amené à soigner deux blessés de guerre qui avaient erré pendant une semaine dans le *no man's land* entre les lignes de tranchées. Touchés au fémur, les deux hommes souffraient d'une fracture ouverte condamnant leurs jours en raison de l'incapacité des médecins à guérir ce genre d'affection à cette époque. Malgré l'absence d'eau et de nourriture pendant huit jours, les deux hommes ne souffraient ni d'infections ni d'hyperthermie. C'est lors de l'examen que Baer remarqua la présence d'asticots.



Dix ans plus tard, cette observation l'amène à utiliser les asticots chez quatre enfants atteints d'ostéomyélite. Le succès de cette expérience menée sur un faible nombre de personnes encourage Baer à approfondir la larvothérapie. Baer met alors au point une méthode permettant de stériliser les larves de façon à ne pas provoquer d'infections consécutives à leur introduction dans les plaies.

Ce succès se répand rapidement aux États-Unis puis tombe en désuétude dix ans plus tard ; c'est en effet l'arrivée des antibiotiques sur le marché en 1940 qui détrône la larvothérapie.

Cependant, l'utilisation massive des antibiotiques a conduit à l'apparition de résistances. Aujourd'hui, la réduction des options thérapeutiques due à des bactéries multirésistantes conduit à reconsidérer certains traitements, comme par exemple la larvothérapie.

## 2.2 Espèces utilisables

Les asticots utilisés dans la larvothérapie appartiennent au genre *Lucilia* et à l'espèce *sericata*. Ce sont des formes immatures de mouche (Figure 13).

Parmi les nombreuses espèces de mouches, *Lucilia sericata* est une des seules espèces utilisables pour la larvothérapie (Figure 14). En effet, nécrophages vrais, les asticots de cette espèce ne s'attaquent qu'aux tissus morts évitant alors la dégradation des tissus sains.

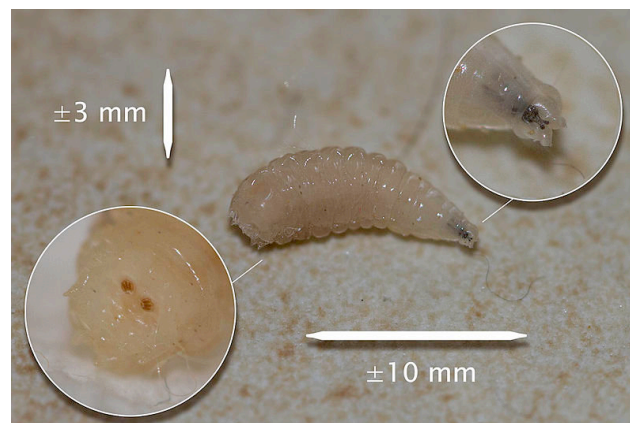


Figure 13 : Larves de mouche verte, *Lucilia sericata*  
(<http://www.animogen.com>)



Figure 14 : Mouche verte, *Lucilia sericata*

(photo de M. Christian Pourre, <http://www.hautesavoiephotos.com>)

C'est la société BioMonde qui permet l'approvisionnement des établissements hospitaliers français en larves et pansements (voir plus bas). Il est à noter que jusqu'en 2010, il existait deux producteurs européens de larves médicales, Zoobiotic et BioMonde. Ces deux sociétés ont décidé par la suite de fusionner et d'adopter l'identité de BioMonde.

Cette société possède deux unités de production : une située en Allemagne et l'autre située au Royaume-Uni (Pays de Galles). L'unité de production située au Pays de Galles produit uniquement les larves pour la Grande-Bretagne tandis que l'unité située en Allemagne approvisionne tous les autres pays d'Europe.

Dans le cadre de cette thèse, j'ai pu réaliser un entretien téléphonique avec un cadre de la société BioMonde me permettant ainsi d'en apprendre un peu plus quant à leurs pratiques d'élevage.

La ponte des mouches est assurée par l'intermédiaire d'un système un peu particulier. La présence de nourriture (notamment du foie) dans un endroit clos attire les mouches *Lucilia sericata* dans une pièce plongée dans le noir, l'obscurité favorisant la ponte. Les mouches vont alors pondre sur des substances en décomposition. Une fois cette étape terminée, les œufs sont prélevés, séparés et subissent un processus de désinfection dont les étapes ne m'ont pas été communiquées. Les œufs désinfectés puis rincés sont transférés dans une boîte de Pétri remplie d'un milieu gélosé stérile. L'ensemble est placé dans un incubateur où leur éclosion aura lieu environ 24 heures plus tard.

Les larves obtenues sont nettoyées puis distribuées dans des sachets avec une trame très lâche. Les sachets sont ensuite thermosoudés avant de se voir attribuer un numéro de lot et une date de péremption. Le conditionnement des larves peut également se faire dans un tube stérile.



## 2.3 Présentation de *Lucilia sericata*

### 2.3.1.1 Classification

Embranchement : Arthropodes  
Classe : Insectes  
Ordre : Diptères  
Sous-ordre : Brachycères cyclorhaphes  
Famille : Calliphoridae  
Genre : *Lucilia*  
Espèce : *sericata*

### 2.3.1.2 Forme adulte

La mouche *Lucilia sericata* est un insecte de petite taille (6 à 11 mm) appartenant à l'ordre des diptères, caractérisé par la présence d'une seule paire d'ailes et d'une paire d'organes d'équilibration encore connus sous le nom de balanciers assurant la stabilité pendant le vol.

Le corps de la mouche est segmenté en trois parties : la tête, le thorax et l'abdomen (Figure 15).

La tête regroupe deux yeux composés, trois ocelles (encore appelés yeux simples), deux antennes courtes et un appareil buccal. Les yeux composés, également appelés yeux à facettes sont constitués d'ommatidies, des récepteurs sensibles à la lumière. Ils transmettent les informations aux structures nerveuses et permettent ainsi à la mouche de se construire une image de son environnement. Les yeux simples ou ocelles ne conduisent pas à la construction d'une image mais permettent de capter les variations de luminosité. Il est à noter qu'au niveau des yeux il existe un dimorphisme sexuel : les yeux sont plus écartés chez la femelle que chez le mâle.

Les brachycères possèdent des antennes courtes et trapues formées de trois segments. On appelle arista la longue soie portée par le dernier article de l'antenne. Les antennes, organes tactiles de la mouche, sont pourvues de nombreux récepteurs sensoriels. Les pièces buccales des mouches vertes sont de type lécheur-suceur, adaptées à l'ingestion de substances liquides.

Le thorax est divisé en trois parties : le prothorax, le mésothorax et le métathorax.

Chaque segment porte une paire de pattes. Le mésothorax porte les ailes tandis que le métathorax regroupe une paire de balanciers qui, comme mentionné plus haut, permettent la stabilisation du vol.

L'abdomen, quant à lui, volumineux, renferme les viscères.



On compte environ une trentaine d'espèces de *Lucilia* se distinguant par leur taille et leur couleur. De couleur métallique vert émeraude, *Lucilia sericata* est une espèce cosmopolite fréquemment rencontrée.

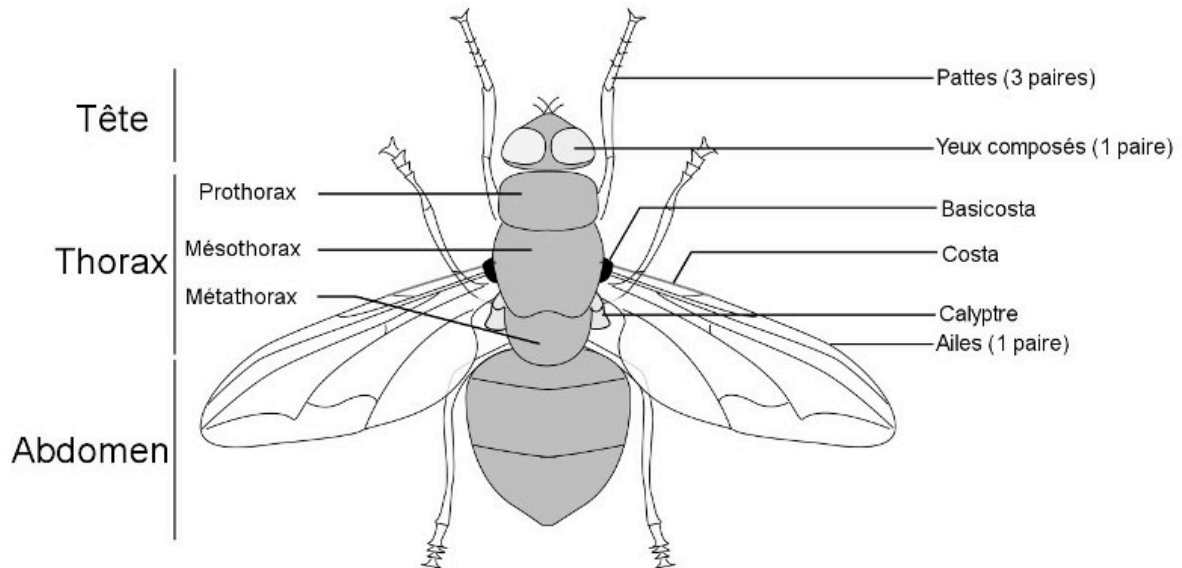


Figure 15 : Schéma général d'une mouche, dessin de C. Schneider, muséum national d'histoire naturel (MNHN)

(<http://edu.mnhn.fr>)

### 2.3.1.3 Forme larvaire

Les larves des brachycères cyclorhaphes sont vermiformes, acéphales et apodes. Deux crochets mobiles buccaux font office de mandibule s'articulant sur un squelette céphalique interne (Elouard, 1981). Les larves des brachycères cyclorhaphes sont caractérisées par leur digestion extra-intestinale comme nous le verrons par la suite. Le terme cyclorhaphes fait référence au mode d'ouverture de l'enveloppe nymphale ; l'ouverture est circulaire et se produit au niveau de la partie antérieure de la puppe (voir plus bas).

### 2.3.1.4 Cycle de développement

(Figure 16)

La durée du cycle de *Lucilia sericata* s'étend sur un nombre variable de semaines, certaines étapes étant conditionnées par des facteurs environnementaux (température, humidité).

La fécondation est soumise à l'ingestion par la femelle de nutriments riches en protéines, le développement ovarien ne débutant qu'à la suite d'un apport protéique. Une fois cette condition remplie, le cycle de reproduction peut être amorcé.

Après accouplement, la femelle gravide pond environ 200 œufs sur un substrat favorable à leur développement (excréments, charognes, substances organiques en décomposition) sous 4 à 6 jours. L'éclosion des œufs se produit généralement 8 à 24 heures plus tard, cela étant fonction de la température extérieure.

Comme tous les diptères cyclorhaphes, 3 stades larvaires vont se succéder chez *Lucilia sericata* en l'espace de 3 à 10 jours. Chez *Lucilia sericata*, les larves au premier stade (L1) mesurent environ 1,65 mm de long et s'accroissent jusqu'à une longueur de 16 mm au dernier stade larvaire (L3) (Bates, 2012). Il semblerait que cette maturation du stade L1 au stade L3 se fasse en 2 à 3 jours, indépendamment de la température (Jacquenet et Mage, 2004). Une fois le troisième stade larvaire atteint, la larve s'enfouit dans le sol et sa cuticule se durcit : c'est la pupa, à l'intérieur de laquelle l'adulte (appelé également imago) se forme. En fonction de la température ambiante, la pupa donnera naissance à l'imago sous 1 à 4 semaines, et un nouveau cycle pourra s'amorcer.

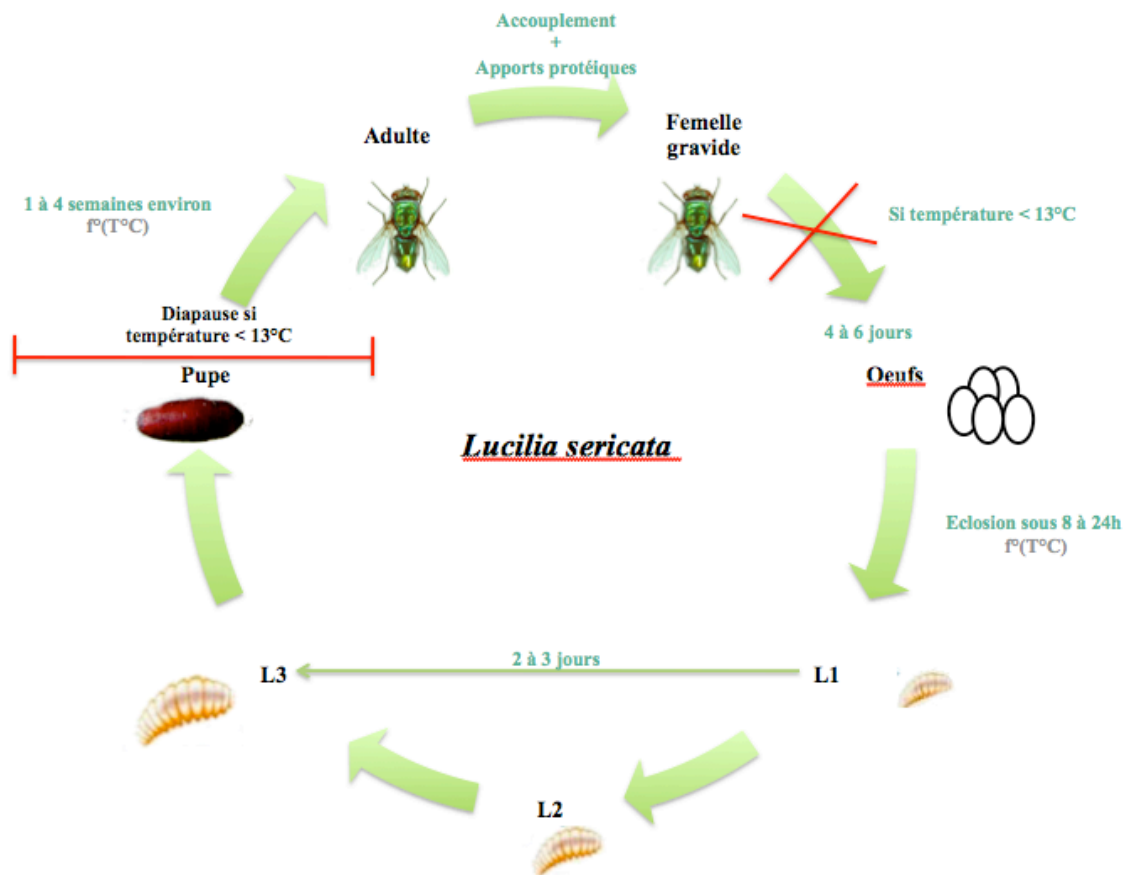


Figure 16 : Cycle de développement de *Lucilia sericata*

(Inspiré de Jacquenet et Mage, 2004 ainsi que de Ramel A. : <http://aramel.free.fr>)

f°(T°C) = fonction de la température.



## 2.4 Mécanisme d'action

(figure 17)

Si les différents mécanismes d'action des larves ne sont pas entièrement connus à l'heure actuelle, il est néanmoins bien établi aujourd'hui que la larvothérapie s'appuie sur trois modes d'action combinant :

- la détersion de la plaie
- l'action antimicrobienne
- la stimulation de la guérison cutanée

### 2.4.1 Détersion des plaies

Comme Rodeheaver le disait, la détersion est le geste essentiel dans la première phase de cicatrisation (Castède, <http://www.e-plastic.fr/pdf/plaies/detersionplaies.pdf>). Si cette étape essentielle n'est pas réalisée, cela compromet la bonne cicatrisation des tissus endommagés.

La détersion des plaies par les larves est le mécanisme d'action le mieux compris de tous actuellement. Pour réaliser cette détersion, la larvothérapie présente l'avantage de coupler une action mécanique à une action enzymatique.

#### 2.4.1.1 Action mécanique

Le grouillement des larves sur le lit de la plaie ainsi que la dilacération des tissus par leurs mandibules provoquent une irritation responsable de la formation d'un exsudat bénéfique. En détruisant la cohésion cellulaire, les crochets des larves favoriseraient la pénétration des sécrétions larvaires dans la plaie (Turkmen et *al.*, 2008).

#### 2.4.1.2 Action enzymatique

La détersion enzymatique fait appel à un mécanisme de digestion extracorporelle.





Les larves de *Lucilia sericata* produisent un cocktail de substances antimicrobiennes et protéolytiques qui permettent l'élimination des tissus nécrotiques. Présentes dans l'estomac de la larve ainsi qu'au niveau des glandes salivaires, ces substances semblent jouer un rôle majeur dans la guérison des plaies. Ces enzymes provoquent la liquéfaction des tissus nécrotiques, ce qui permet, dans un second temps, l'ingestion de ces fluides grâce à un phénomène de succion. La fibrine absorbée par les larves représenterait l'équivalent de 15 grammes par jour (Toussaint, 2008).

Aujourd'hui, la composition exacte des sécrétions larvaires n'est pas encore parfaitement établie, mais les multiples recherches à ce sujet ont permis l'identification de plusieurs composants.

En 1931, Hobson décrit l'existence d'une substance capable de digérer le collagène (Hobson, 1931), mais il faudra attendre 1953 pour que Ziffren et son équipe confirment les faits en mettant en évidence la présence de collagénase dans les sécrétions larvaires (Ziffren et al., 1953).

De nombreuses recherches se succèdent permettant notamment la mise en évidence de carboxypeptidases A et B ainsi que d'enzymes protéolytiques dont deux protéases à sérine, une métalloprotéinase et une aspartyl-protéinase (Turkmen et al., 2008). L'activité « chymotrypsin-like » des protéinases à sérine permet la dégradation de certains composants de la MEC dont font partie la laminine, la fibronectine ou encore le collagène de type I et III (Turkmen et al., 2008). Ces enzymes détruisent sélectivement les tissus nécrotiques sans endommager les tissus sains (Parnes et Lagan, 2007).

Deux enzymes clés, la trypsine et la chymotrypsine ont été identifiées et des études indiquent que le succès du débridement par larvothérapie réside dans l'aptitude de ces enzymes à résister à certains facteurs endogènes. Il a été démontré récemment que la chymotrypsine des larves était capable de dégrader certaines macromolécules présentes au niveau des ulcères de jambes comme la fibrine et le fibrinogène, des composants sur lesquels les biofilms s'attachent et s'accumulent (Nigam, 2016).

## 2.4.2 Action antimicrobienne

Les plaies chroniques sont fréquemment colonisées par des bactéries de la flore commensale dont font partie les staphylocoques, les streptocoques, *Pseudomonas aeruginosa* ou encore *Escherichia coli* (Parnes et Lagan, 2007).

Une importante charge bactérienne au niveau de la plaie peut entraver le processus de cicatrisation ce qui explique qu'une désinfection soit parfois nécessaire.

Le phénomène de succion décrit plus haut permet l'ingestion concomitante des bactéries présentes au niveau de la plaie. Une fois ingérées, les bactéries seraient manifestement détruites par l'acidité rencontrée lors de leur passage dans le tube digestif de la larve.

Cependant, les études se contredisent à ce sujet, certaines évoquant la destruction des bactéries, d'autres confirmant la persistance de souches vivantes dans les déjections de larves (Cartier et Combemale, 2008). Certaines recherches suggèreraient même que les bactéries qui ne sont pas détruites par l'acidité sont concentrées dans la membrane péritrophique des larves, empêchant ainsi une nouvelle contamination de la plaie (Parnes et Lagan, 2007).

Comme vu précédemment, le grouillement des larves, irritant, stimule la production d'un exsudat qui permet l'élimination des bactéries en irrigant la plaie. Il n'est cependant pas impossible que la plaie soit irriguée par les sécrétions larvaires elles-mêmes (Parnes et Lagan, 2007).

### ■ Les larves produisent des facteurs antimicrobiens

La présence de fractions antibactériennes dans les sécrétions de larves a été confirmée (Nigam, 2016).

De nombreux chercheurs se sont intéressés à l'activité antibactérienne des substances contenues dans les sécrétions des larves et à leurs spectres d'action. Ces études ont révélé des résultats inconstants voire parfois même contradictoires. Cela pourrait s'expliquer par une divergence de la méthode pour récolter les sécrétions de larves, du taux de concentration des sécrétions larvaires utilisées, des espèces de bactéries, *etc.* (Cazander et *al.*, 2013).

Ces dernières années, plusieurs molécules possédant une activité antimicrobienne ont été isolées de *Lucilia sericata*.

Les sécrétions larvaires contiennent une grande variété de composants alcalins, parmi lesquels on retrouve du bicarbonate d'ammonium, du calcium, de l'allantoïne et de l'urée qui inhibent la croissance bactérienne (Parnes et Lagan, 2007) (Fleischmann et *al.*, 2004). Ces composants alcalins, à l'origine d'une augmentation du pH au niveau de la plaie, fournissent un environnement optimal à l'activité enzymatique tout en rendant ce milieu hostile à l'implantation de nombreuses bactéries, empêchant ainsi une recolonisation. Certaines études scientifiques auraient même suggéré la possibilité que les larves utilisent les enzymes produites par certaines bactéries pour leur propre intérêt (Fleischmann et *al.*, 2004).

En y réfléchissant, la mise en œuvre par les larves de mécanismes antimicrobiens ne paraît pas surprenante. En effet, étant donné l'hostilité de leur milieu de vie naturel (cadavres, excréments), il n'est pas insensé de penser que les larves ont développé des mécanismes pour lutter contre les pathogènes.

Ces faits ont d'ailleurs été vérifiés par des études récentes qui ont prouvé que la capacité à sécréter des peptides antibactériens était plus développée chez les larves au contact d'un environnement infecté que chez les larves évoluant au sein d'un contexte stérile. Cette étude suggère donc qu'une larve stérile placée dans une plaie infectée commencera à produire des substances antibactériennes au contact ou après l'ingestion de bactéries.

Tout cela a conduit certains chercheurs à faire l'hypothèse que les larves stimulées par les bactéries pourraient produire une nouvelle génération d'antibiotiques (Nigam, 2016).

À défaut de tenter d'éliminer le pathogène présent au niveau de la plaie, les larves peuvent également vivre en symbiose avec certaines bactéries. C'est le cas notamment de la bactérie *Proteus mirabilis* qui sécrète des toxines antibactériennes à l'égard de bactéries délétères, sans affecter les larves (Fleischmann et al., 2004).

Des études récentes ont permis de découvrir la nature de certains agents antibactériens contenus dans les sécrétions des larves. Parmi eux, on trouve notamment les lucifensines, des peptides antimicrobiens qui agiraient en perméabilisant la membrane cytoplasmique des bactéries. La production de lucifensines débute 5 à 6 heures après l'éclosion des œufs de larves (Valachová, 2013). Ces peptides, fortement exprimés dans les glandes salivaires et dans une moindre mesure au niveau des cellules graisseuses et de l'hémolymphe, se retrouvent chez la larve en quantité variable en fonction de certains paramètres.

En effet, en 2013, Valachová et son équipe ont mis en évidence une baisse de production des lucifensines lorsque les larves sont privées de nourriture. Les lucifensines seraient actives uniquement contre les bactéries Gram +, et plus particulièrement contre les streptocoques et les staphylocoques (Valachová, 2013).

Parmi ces fractions antibactériennes, on retrouve également la sératicine, une petite molécule antibactérienne possédant notamment une activité puissante contre les staphylocoques dorés résistants à la méthicilline (SARM) (Nigam, 2016), la protéine MAMP (pour « microorganism associated molecular pattern » ou encore « motif moléculaire associé aux microbes »), qui inhibe *Staphylococcus aureus* et rompt l'intégrité de la membrane des cellules bactériennes.

Un groupe de chercheurs a postulé que plus de 45 peptides antimicrobiens étaient codés dans *Lucilia sericata*, incluant les lucifensines, la lucimycine, les attacines, les cécropines, des diptérines, des peptides riches en proline ainsi que des sarcotoxines, certains d'entre eux possédant un large spectre d'activité (Nigam, 2016).

## ■ Les sécrétions de larves réduisent les biofilms

Les sécrétions larvaires se sont également avérées intéressantes dans la destruction des biofilms formés par les bactéries ainsi que dans leur prévention.

Ces amas de micro-organismes capables d'adhérer à une surface en produisant une couche de protection, emprisonnent bactéries et nutriments afin de servir de réservoir alimentaire aux bactéries. Ces biofilms sont extrêmement difficiles à éradiquer ; de nombreux topiques s'avèrent inefficaces et de nombreux antibiotiques ne peuvent pas pénétrer cette communauté fortifiée (Nigam, 2016).

La chronicité des plaies est généralement aggravée par la présence d'un biofilm.

James et *al.*, ont mené une étude sur 93 patients dont 77 d'entre eux présentaient une plaie chronique et les 16 autres des plaies aiguës. Il est ressorti de cette étude que 60% des patients atteints de plaies chroniques présentaient des biofilms tandis que seulement 6% des patients atteints de plaies aiguës étaient concernés (James et *al.*, 2008).

Le couplage des larves aux antibiotiques pourrait donc assurer l'élimination complète des biofilms, l'action des antibiotiques étant majorée par l'action préalable des larves (Valachová, 2013).

Récemment, il a été mis en évidence que la chymotrypsine contenue dans les sécrétions des larves prévenait la formation de biofilms.

En 2013, Harris et *al.*, se sont intéressés à l'étude d'une chymotrypsine recombinée qui s'est avérée particulièrement efficace sur les biofilms de *S.epidermidis*. De plus, il semblerait que l'activité anti-biofilm puisse être induite par une DNase, capable de décomposer l'ADN et de digérer l'ADN bactérien.

À l'instar des peptides antimicrobiens qui sont inductibles par certains facteurs environnementaux, les molécules responsables de la dégradation des biofilms le seraient aussi.

### 2.4.3 Stimulation de la guérison cutanée

La cicatrisation par les larves a longtemps été réduite à un effet purement mécanique imputable aux mouvements larvaires.

Cependant, en s'intéressant de plus près à la composition des sécrétions larvaires, des chercheurs ont mis en évidence les rôles joués par certains éléments identifiés. C'est entre autre l'utilisation de pansements de type Biobag® qui a permis de confirmer l'implication d'autres facteurs.

En effet, malgré l'empaquetage des larves qui inhibe la stimulation mécanique, une amélioration de la guérison des plaies est tout de même constatée.

## ■ Les sécrétions des larves augmentent le pH

Comme mentionné plus haut, l'allantoïne, le bicarbonate d'ammonium, le calcium et l'urée retrouvés dans ces sécrétions permettraient une augmentation du pH favorable à la cicatrisation.

Un pH acide favorise la prolifération cellulaire tandis qu'un pH basique ralentit la migration cellulaire, la synthèse d'ADN, la croissance des fibroblastes et améliore l'épithélialisation (Magalon et Vanwijck, 2003). Si l'on pourrait croire que l'augmentation du pH provoquée par les sécrétions larvaires est défavorable à la croissance des fibroblastes, il a cependant été démontré *in vitro* que ces sécrétions permettaient la croissance des fibroblastes humains (Toussaint, 2008).

Les extraits larvaires seraient également capables de stimuler la production d'EGF qui favorise la formation du tissu de granulation et d'IL-6, une cytokine pro-inflammatoire (Turkmen, 2008). La mise en évidence de cytokines pro-cicatrisantes et de facteurs de croissance dans les sécrétions larvaires fait actuellement l'objet de nombreuses recherches (Toussaint, 2008).

Outre le caractère alcalin de ces composés, ils agiraient également comme des facteurs de croissance (Parnes et Lagan, 2007).

## ■ Les sécrétions des larves diminuent la réponse inflammatoire

Comme abordé dans la partie traitant de l'hirudothérapie, le complément est un système de protéines sériques impliqué dans la réponse innée aux infections et joue à ce titre, un rôle majeur dans l'activation de la réponse inflammatoire consécutive à une blessure.

Si l'activation du complément est une étape nécessaire au processus de guérison d'une plaie, une activation prolongée de ce système fait perdurer l'inflammation et, à terme, finit par entraver la cicatrisation.

La guérison des plaies étant améliorée à la suite d'un traitement par les larves, et la sollicitation excessive du système du complément étant délétère à celle-ci, des chercheurs ont fait l'hypothèse que les sécrétions des larves interféraient avec certains facteurs du complément. Le mécanisme sous-jacent impliquerait probablement certains composants du complément, notamment C3 et C4 (Cazander et al., 2012).

La réduction des niveaux de facteurs pro-inflammatoires consécutive à un traitement par les larves a été démontrée par plusieurs études.

Certaines substances contenues dans les sécrétions seraient capables de réduire la production de cytokines pro-inflammatoires comme l'IL-2 ou encore le TNF $\alpha$  et d'accroître la production de cytokines anti-inflammatoires comme l'IL-10 (Cazander et *al.*, 2013).

En définitive, la découverte dans les sécrétions de larves d'éléments capables d'inhiber le complément pourrait être à l'origine de nouvelles modalités de traitement de maladies provoquées par l'activation excessive du complément comme dans le cas des infections chroniques ou des blessures ischémiques (Cazander et *al.*, 2013).

### ■ Les sécrétions larvaires affectent la migration des cellules, l'angiogenèse et la production de facteurs de croissance

Comme vu précédemment, la migration des fibroblastes contribue à la formation d'un tissu de granulation.

De plus, Wang et *al.* (2010), ont montré une augmentation significative de la migration des cellules endothéliales microvasculaires à la suite d'une exposition aux sécrétions de larves. De nombreux chercheurs ont prouvé que les sécrétions des larves régulaient la production de facteurs de croissance, permettant ainsi la stimulation et la prolifération d'un nouveau tissu.

Une étude récente a démontré qu'il existait une élévation des taux de clusters de différenciation (CD), le CD34 et le CD68, des marqueurs impliqués dans l'angiogenèse, dans le cadre d'un traitement par larvothérapie.

Cela signifie que les larves pourraient jouer un rôle dans l'induction de l'angiogenèse durant la cicatrisation. Le mécanisme exact est aujourd'hui encore inconnu mais il semblerait que cela puisse impliquer la voie du VEGF.

De plus, trois acides aminés (le L-histidine, l'acide 3-guanidinopropionique et le L-valinol) ont récemment été identifiés dans les sécrétions larvaires par Bexfield et son équipe (2010) et ils pourraient promouvoir l'angiogenèse (Cazander et *al.*, 2013).

Une équipe de chirurgiens japonais, constituée par Maeda et *al.* (2014), s'est intéressée aux variations des pressions de perfusion à proximité d'une plaie chronique consécutive à une amputation. Après un traitement par larvothérapie, la pression de perfusion du patient est passée de 12 à 54 mmHg sur le dos du pied et de 14 à 44 mmHg au niveau de la plante du pied.

Cela fait présumer que la présence de larves dans la plaie a contribué à l'amélioration de la circulation sanguine au niveau de la plaie ischémique, fournissant une preuve supplémentaire de l'utilité de la larvothérapie dans la guérison des plaies (Nigam, 2016).



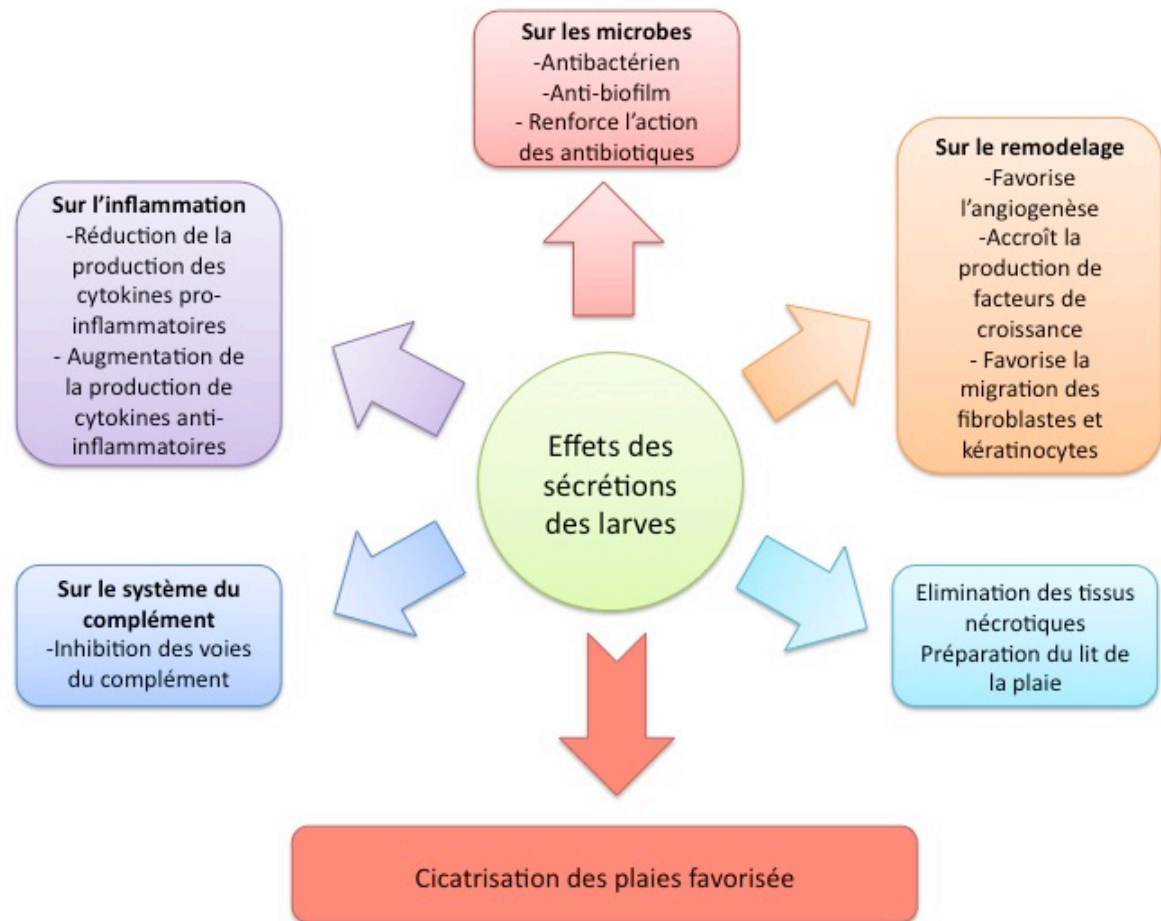


Figure 17: Résumé de l'action des sécrétions larvaires au niveau d'une plaie  
 (Adapté du schéma extrait de « Multiple actions of *Lucilia sericata* larvae in hard-to-heal wounds », Cazander et al., 2013)

## 2.5 Intérêt de la larvothérapie dans la cicatrisation d'une plaie

Il serait utopique de croire que la larvothérapie s'applique à tous les types de plaies. Néanmoins, la larvothérapie a vu ses indications s'élargir avec le temps. En effet, initialement utilisée seulement dans les plaies engageant le pronostic vital, elle connaît aujourd'hui bien d'autres indications.

Les larves sont utilisées pour la détersion des plaies nécrotiques, infectées ou fibrineuses.

Les patients souffrant de plaies aiguës ou chroniques infectées et plus particulièrement les patients diabétiques, dont les plaies cicatrisent difficilement, sont de bons candidats à la larvothérapie (Fleischmann, 2004).

La larvothérapie est également indiquée chez les patients atteints d'ulcères de jambe, de brûlures, d'escarres de décubitus ou encore de plaies cancéreuses. Hormis ces indications, les larves ont aussi été employées comme complément à la chirurgie pour le traitement de la fasciite nécrosante et dans la préparation de sites de greffes (<http://www.step3.fr>).

## 2.6 Application clinique

### 2.6.1 Protocole d'application des larves

(Figure 18 et 19)

Comme vu précédemment, la larvothérapie fait appel à deux techniques différentes. Il est en effet possible d'appliquer les larves à même la plaie ou par l'intermédiaire d'un pansement (Biobag®). En France, la larvothérapie ne s'effectue que dans le cadre d'une autorisation temporaire d'utilisation nominative (ATU) et concerne exclusivement la forme pansements (Biobag®).

L'initiation de soins faisant appel à la larvothérapie impose de déterminer correctement la date du début de traitement. En effet, il est indispensable d'avoir à l'esprit que la livraison n'a lieu que du mardi au vendredi afin d'assurer la qualité des produits. Une fois la date déterminée, il est indispensable de mesurer la plaie afin d'appliquer le pansement le plus adapté. Le pansement doit couvrir la plaie sans déborder sur le tissu sain environnant.

Afin de répondre au mieux aux besoins des patients, la société BioMonde® commercialise des pansements de tailles diverses (2,5x4cm, 5x4cm, 5x6cm, 12x6cm, 10x10cm).

Une fois ces éléments déterminés, il appartient au médecin prescripteur de rédiger l'ordonnance qui sera transmise au pharmacien puis faxée à l'agence nationale de santé de sécurité du médicament et des produits de santé (ANSM) afin d'obtenir une ATU.

Une fois l'ATU obtenue, le traitement peut débuter selon un protocole précis.

#### 2.6.1.1 Forme libre

(Figure 18)

Commandées sous leur forme libre, les larves désinfectées de *Lucilia sericata* sont conditionnées dans des flacons stériles.

La forme libre, pourtant moins facile à manipuler que la forme pansement (Biobag®), présente l'avantage d'assurer une détersion efficace du fait du couplage de son action mécanique à son action enzymatique. Certaines études s'accorderaient même à dire que l'utilisation de larves libres serait plus efficace.



L'utilisation de larves libres nécessite la mise en place d'un pansement hydrocolloïde bordant la plaie afin d'éviter la migration des larves (figure 18-A).

Il suffit ensuite d'ajouter une faible quantité de solution saline stérile (environ 5 millilitres) au flacon renfermant les larves et d'agiter doucement le flacon afin de les décoller des parois (figure 18-C).

Par la suite, les larves sont déposées sur un filet préalablement découpé (figure 18-B et 18-E) et mouillé par la solution saline (figure 18-D), de sorte qu'il recouvre la plaie et déborde légèrement sur le pansement hydrocolloïde. Une fois cette étape effectuée, il suffit de retourner la face du filet contenant les larves sur la plaie (figure 18-F) et de sécuriser les bords à l'aide d'une bande adhésive (figure 18-G).

L'ensemble sera recouvert d'une compresse et d'un bandage léger non occlusif et non absorbant afin d'optimiser la viabilité des larves (figure 18-H).



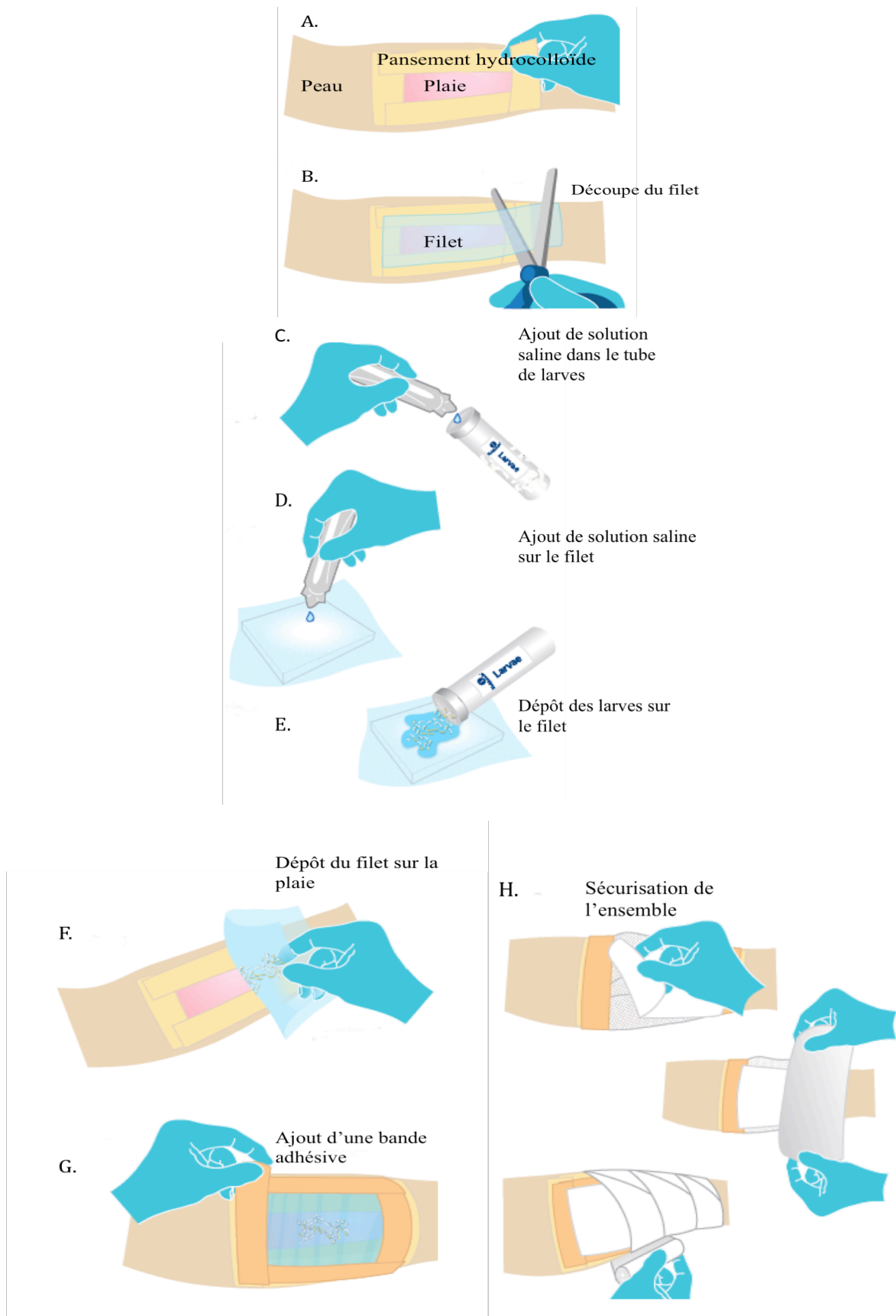


Figure 18 : Protocole d'application de larves libres  
(Adapté de [www.biomonde.com](http://www.biomonde.com))

### 2.6.1.2 Forme pansement : Biobag®

(Figure 19)

Les pansements Biobag® sont des sachets fermés contenant des larves désinfectées de *Lucilia sericata* ainsi que des particules de mousse permettant le maintien de leur espace vital ainsi que leur croissance (Toussaint, 2008).

Le sachet, stérile, est en polyester et sa trame lâche autorise le passage des sécrétions larvaires dans la plaie.

Avant d'amorcer la larvothérapie, il est nécessaire d'éliminer toute trace de résidus dus à des traitements antérieurs à l'aide de sérum physiologique.

Si les larves de *Lucilia sericata* ne s'attaquent pas aux tissus sains, il est tout de même nécessaire de protéger la peau péri-lésionnelle à l'aide d'une pâte à l'eau ou encore de vaseline neutre car l'exsudat produit par les larves peut s'avérer corrosif pour la peau saine.

Avant la mise en place du sachet Biobag®, il est nécessaire que le personnel soignant chargé de faire le pansement s'assure de la viabilité des larves.

Une fois le pansement Biobag® correctement positionné, une gaze humidifiée au sérum physiologique sera placée au-dessus et l'ensemble sera maintenu à l'aide d'un bandage non occlusif et peu serré afin d'assurer la viabilité des larves.

Il est à noter qu'en fonction de la taille de la plaie, plusieurs pansements peuvent être appliqués afin de recouvrir toute la surface de la plaie.



Figure 19: Protocole de traitement par Biobag®

(Adapté de [www.biomonde.com](http://www.biomonde.com))

### 2.6.2 Chronologie d'un traitement par Biobag®

(Figure 20)

Un même sachet de Biobag® peut être laissé en place au maximum 4 jours au contact de la plaie. Si la plaie n'est pas suffisamment détergée, ce cycle peut être répété en veillant à utiliser un nouveau sachet de Biobag®.

L'application de Biobag® doit être stoppée lorsque la plaie est suffisamment détergée ou si aucune amélioration n'est observée au bout de 3 applications ou plus. Le nombre de cycle à effectuer dépend de la plaie et de la réponse du patient à la larvothérapie, la plupart des plaies nécessitant entre 1 et 6 cycles de traitement ([www.biomonde.com](http://www.biomonde.com)).

Des soins quotidiens sont procurés aux patients, ceux-ci consistant en l'application de la crème barrière protégeant la peau saine péri-lésionnelle, le changement du pansement secondaire et la vérification de la viabilité des larves.

Soixante-douze heures après la mise en place de Biobag®, le personnel soignant vérifie l'état de la plaie et évalue la nécessité d'amorcer un nouveau cycle de traitement. En cas de poursuite du traitement, une nouvelle commande de larves sera programmée.

Dans tous les cas le pansement sera retiré quatre jours après sa mise en place et sera éliminé. Le pansement Biobag® usagé doit être considéré comme un déchet contaminé et doit à ce titre, être placé dans deux sacs solidement scellés afin d'éviter tout risque infectieux.

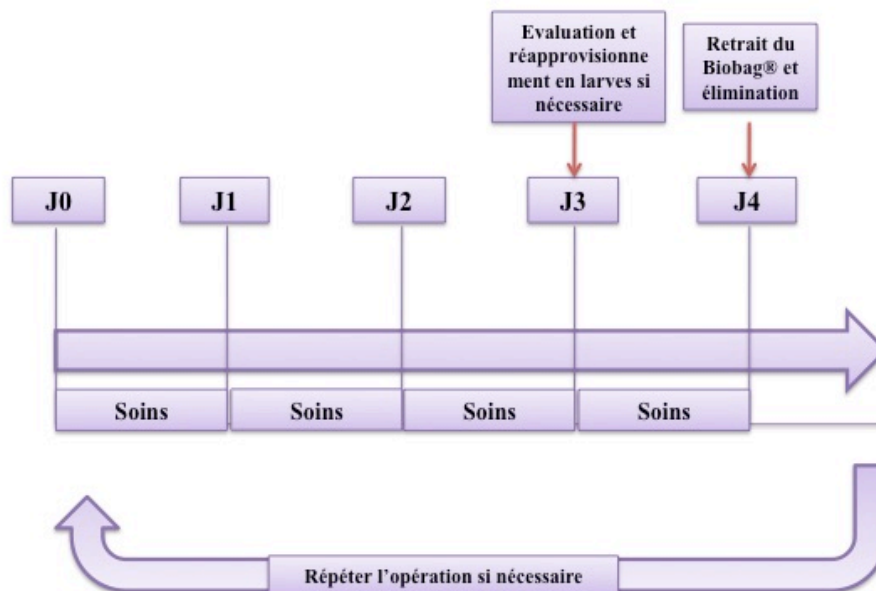


Figure 20: Chronologie d'un traitement par Biobag®

(Adapté de [www.biomonde.com](http://www.biomonde.com))

### 2.6.3 Résultats

(figure 21)

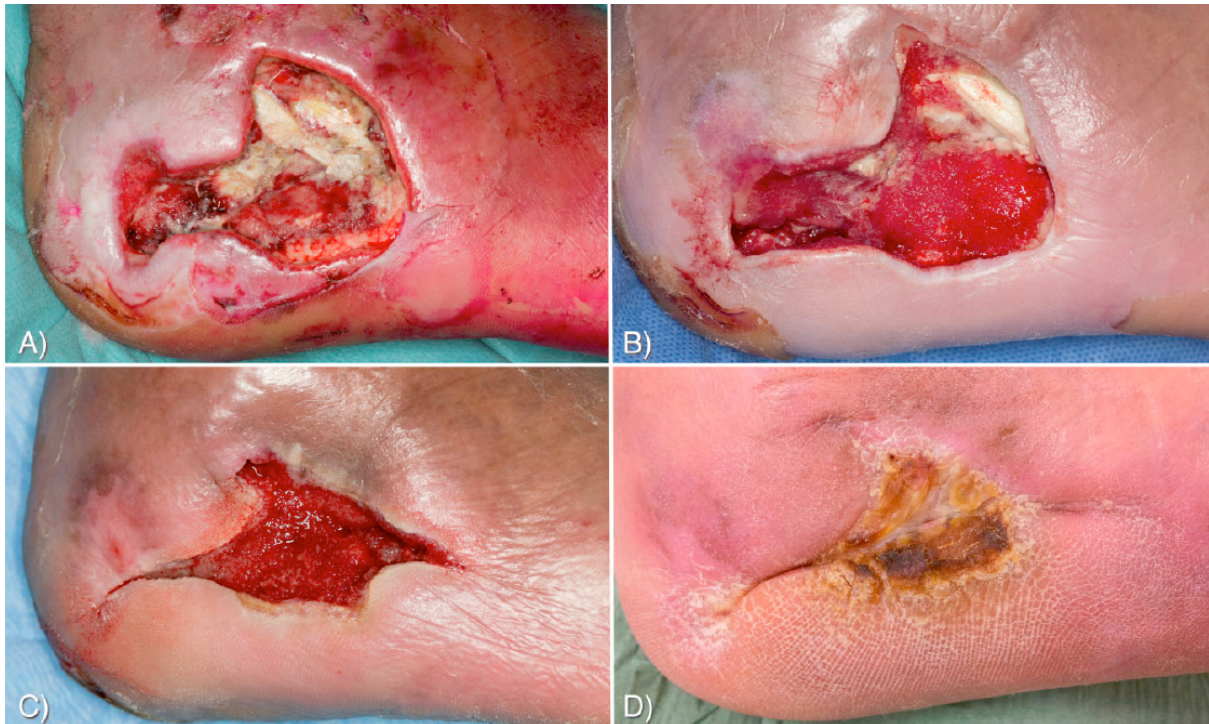


Figure 21: Evolution d'une brûlure du pied chez un patient diabétique de 48 ans traité par larvothérapie

(Photographies prises par Gerrit Kracht, Leiden University Medical Center, The Netherlands)  
(photos extraites de l'article « Multiple actions of *Lucilia sericata* larvae in hard-to-heal wounds », Cazander et al., 2016)

A : Avant la larvothérapie

B : Après 2 applications de larves

C : Un mois après la fin de la larvothérapie

D : Quatre mois après la fin de la larvothérapie

### 2.6.4 Avantages

La larvothérapie peut s'avérer avantageuse financièrement par rapport à des traitements conventionnels. C'est le constat qu'a fait S.Thomas en 2006 après avoir réalisé une étude comparative entre le coût d'un traitement par les larves et celui d'un traitement conventionnel (Thomas, 2006). En effet, il révèle que la larvothérapie pourrait faire économiser près de 200 millions de livres sterling au système de santé publique du Royaume-Uni, le National Health Service (NHS).

Wayman et al. (2000), ont étudié la rentabilité d'un traitement par larvothérapie en comparaison à un traitement par hydrogel dans les ulcères veineux d'un échantillon de 12 patients. Il s'est avéré que le coût moyen du traitement par larvothérapie avoisinait les 78,64 livres sterling contre 136,23 livres sterling dans le groupe traité par hydrogels.

Si dans l'absolu le coût des larves peut paraître plus important que celui des hydrogels, les économies engendrées s'expliquent principalement par la diminution du temps consacré aux soins infirmiers. En effet, il a été constaté dans cette étude que le temps moyen consacré aux patients était considérablement augmenté chez le groupe soigné par hydrogels (86 minutes/patients/mois dans le groupe traité par les larves contre 426 minutes/patients/mois dans le groupe traité par hydrogels). Le gain de temps est considérable.

Ces bénéfices sont basés sur les économies faites grâce à la réduction du temps de traitement avec les larves. Au regard du prix moyen d'une amputation, des frais d'hospitalisation occasionnés ainsi que du coût des soins post-amputation engendrés, le prix de la larvothérapie paraît insignifiant. À titre informatif, le coût moyen pour deux cures d'une larvothérapie varie de 300 à 1500€ toutes taxes comprises en fonction du nombre et de la taille des pansements appliqués.

## **2.7 Limites**

### **2.7.1 Contre-indications**

Si la larvothérapie présente relativement peu de contre-indications, quelques-unes ont cependant été établies :

- Les plaies qui communiquent avec la cavité abdominale, les organes internes ou encore les plaies à proximité d'un gros vaisseau. En effet, il existe un risque de perforation par les enzymes protéolytiques.
- Les plaies mal vascularisées. Cela s'explique par le fait qu'en l'absence d'une bonne vascularisation, il sera impossible qu'un tissu de granulation se constitue. Même si les larves permettent tout de même d'enlever la nécrose, l'absence de formation d'un tissu de granulation et d'épithélialisation mènera au retour de la nécrose une fois les larves retirées de la plaie.
- Les troubles de la coagulation. Les larves ne doivent pas être utilisées chez les patients présentant un déficit de la coagulation ou sous anticoagulants à moins d'un suivi minutieux et constant du patient à l'hôpital.



## 2.7.2 Effets indésirables

(Toussaint, 2008)

Quelques effets indésirables ont été rapportés avec ce type de traitement :

- Généraux : syndrome grippal, fièvre.
- Locaux : prurit intense, douleur, dermite d'irritation péri-lésionnelle. Les douleurs sont des effets indésirables souvent rapportés par le patient et elles pourraient être dues à la dilacération des tissus par les mandibules des larves ou encore à la modification du pH de la plaie qui serait à l'origine d'une stimulation des récepteurs à la douleur.
- Psychologiques : insomnies, anxiété. Le retentissement psychologique, abordé par la suite, se comprend aisément. La présence de corps étrangers de type asticots dans une plaie est rarement bien supportée.

## 2.7.3 Inconvénients

### 2.7.3.1 Aspect inesthétique

Les larves souffrent de l'image négative qui leur est attribuée.

En effet, la pensée des vers grouillant dans la plaie véhicule chez le patient des images renvoyant à la saleté, la putréfaction ou encore la maladie. Le frein psychologique ne doit pas être sous-estimé et se rencontre aussi bien du côté du personnel soignant que des patients. C'est d'ailleurs bien souvent par l'équipe soignante que le dégoût se fait sentir ; le patient, généralement prêt à tout pour guérir, accepte plus facilement le traitement.

L'utilisation de larves dans un pansement permet définitivement une meilleure acceptabilité du traitement car les larves ne sont pas visibles.

### 2.7.3.2 Durée de vie

Une des difficultés majeures liée à l'utilisation de ces organismes vivants s'explique par le timing réduit qui impose une orchestration précise des différentes étapes mentionnées plus haut.



En effet, du fait de leur cycle de développement, les larves ont une durée de vie de 5 à 6 jours avant de se transformer en pupes. Afin d'assurer la qualité des produits, les commandes doivent être passées avant midi. Ainsi, la production est opérée l'après-midi du jour de la commande, et la livraison est assurée le lendemain.

### **2.7.3.3 Risque de contamination**

L'utilisation d'organismes vivants est indissociable du risque de contamination malgré toutes les étapes de désinfection mises en œuvre. C'est d'ailleurs suite à la découverte de larves contaminées que les demandes d'ATU ont été refusées de janvier à juillet 2015 condamnant alors leur utilisation pendant ces six mois.

S'il est compliqué de garantir l'asepsie parfaite de tous les lots, des tests de stérilité sont néanmoins réalisés avant chaque production. En effet, des œufs choisis de façon aléatoire sont mis en culture. Si la contamination microbienne est négative pour tous ces œufs, la production peut être mise en route.

On estime le risque de contamination d'un lot à environ 2% pour 6 lots retirés par an.

### **2.7.3.4 Manque d'études**

La larvothérapie, bien que connue depuis de longues années, n'est pas aujourd'hui un traitement de première intention. Cela s'explique en partie par le peu d'études réalisées et la faible envergure de celles-ci.

En France, deux études en double aveugle ont été réalisées dans les hôpitaux de Caen et Lyon, regroupant respectivement 103 et 16 patients. Ces études coordonnées par la dermatologue Anne Domp Martin avaient pour objectif de comparer l'efficacité d'un sac de larves à un traitement conventionnel dans le débridement des plaies.

Ces 119 patients présentaient des plaies rebelles qui ne guérissaient pas.

Les plaies étaient caractérisées par leur profondeur de moins de 2 centimètres, leur surface maximale de 40 centimètres carrés et un index de pression systolique à la cheville de 0,8 voire plus.

L'index de pression systolique représente le rapport entre la pression systolique mesurée à la cheville et la pression systolique humérale. Cet outil permet notamment le dépistage de l'artériopathie oblitérante des membres inférieurs (AOMI), avant qu'elle ne soit symptomatique (Mazoyer, 2013).

Quatorze de ces patients ont été exclus de l'étude en raison d'un manque de photographies permettant d'apprécier l'évolution de la plaie, de douleurs importantes nécessitant l'arrêt du traitement, de l'apparition de critères d'exclusion, ou encore après s'être rétractés.





Cette étude randomisée s'est étendue sur 2 semaines pendant lesquelles les patients ont reçu un traitement par les larves ou un traitement conventionnel ; le traitement conventionnel reposait sur le couplage d'une détersion mécanique à un pansement de type hydrogel, hydrofibre ou alginate en fonction du type de plaie.

Il s'est avéré qu'au bout de 8 jours une différence significative a pu être constatée entre les deux méthodes. Le pourcentage de détersion était plus important dans le groupe de patients traités par les larves que dans le groupe contrôle mais cette différence s'est finalement réduite au cours de la deuxième semaine pour ne plus être significative.

Cette étude n'a donc pas montré globalement de bénéfices avec la larvothérapie par rapport à un traitement conventionnel même si la détersion s'est montrée nettement plus efficace avec les larves durant la première semaine de traitement.

Si le traitement par larvothérapie est aujourd'hui encore peu utilisé, il pourrait y avoir une évolution dans les années à venir.

En effet, des chercheurs de Caroline du Nord ont développé des larves génétiquement modifiées capables de sécréter un facteur de croissance : le PDGF-BB (Linger et *al.*, 2016). Connu pour stimuler la prolifération et la survie cellulaire et pour promouvoir la guérison des plaies, ce facteur de croissance a déjà été utilisé comme traitement topique sur les plaies ayant du mal à cicatriser. En effet, en 2008, Papanas et Maltezos ont étudié l'efficacité du Becaplermin, un gel cicatrisant topique à base de PDGF-BB humain recombinant, dans le traitement des ulcères du pied diabétique (Papanas et Maltezos, 2008).

Ces essais cliniques ont montré que la présence de PDGF-BB provoquait une augmentation du nombre de fibroblastes, ainsi qu'une augmentation de la formation des fibrilles de collagène. Ainsi, le temps de guérison était significativement réduit chez ces patients diabétiques aux capacités de cicatrisation altérées.

Cette modification génétique des larves pourrait ouvrir la porte à une utilisation plus importante des larves dans la thérapeutique actuelle.



## TROISIÈME PARTIE : LES PRODUITS DÉRIVÉS DE L'ANIMAL

---



# 1 L'apithérapie : cicatrisation par le miel

---

« Aucun être vivant, même pas l'homme, n'a réalisé au centre de sa sphère ce que l'abeille a réalisé dans la sienne ; et si une intelligence étrangère à la nôtre venait à demander à la Terre l'objet le plus parfait de la logique de la vie, il faudrait lui présenter l'humble rayon de miel ». Maeterlinck, « La vie des abeilles ».

## 1.1 Présentation du miel

Le miel se définit comme « la substance sucrée naturelle produite par les abeilles de l'espèce *Apis mellifera* à partir du nectar de plantes ou des sécrétions provenant de parties vivantes des plantes ou des excréments laissés sur celles-ci par des insectes suceurs, qu'elles butinent, transforment, en les combinant avec des matières spécifiques propres, déposent, déshydratent, entreposent et laissent mûrir dans les rayons de la ruche. À l'exception du miel filtré, aucun pollen ou constituant propre au miel ne doit être retiré, sauf si cela est inévitable lors de l'élimination de matières organiques et inorganiques étrangères » d'après l'annexe 1 du décret n°2003-587 du 30 juin 2003 (<https://www.legifrance.gouv.fr>).

Le miel est un produit naturel formé par les abeilles du genre *Apis*, connu de l'Homme depuis l'Antiquité. Utilisé par l'Homme à la fois comme aliment et pour ses propriétés thérapeutiques, le miel est avant tout élaboré par les abeilles dans le but de se nourrir. Il permet également de protéger le couvain du froid en isolant thermiquement la ruche (Metral, 2014).

L'intérieur de la ruche est assimilable à une entreprise très organisée où chaque individu joue un rôle bien défini. Les abeilles sont des insectes hyménoptères dits « sociaux » qui vivent en colonie.

Les colonies sont composées de trois castes.

On distingue **la reine** qui est l'unique femelle fertile et féconde et dont la mission est d'assurer la pérennité de la ruche en pondant.

Les **ouvrières** forment la cour de la reine. Leur âge détermine la nature des tâches attribuées ; l'ouvrière sera d'abord nettoyeuse, nourrice, architecte, manutentionnaire, ventilouse, gardienne puis butineuse.

Les mâles, encore appelés **faux-bourdon** ont quant à eux la mission d'assurer la fécondation de la reine.

Comme nous l'avons rapidement évoqué ci-dessus, les abeilles utilisées en apithérapie appartiennent au genre *Apis*. On distingue trois sous-genres : le sous-genre *Micrapis* (abeilles naines), le sous-genre *Megapis* (abeilles géantes) et le sous-genre *Apis*.



*Apis mellifera* également appelée *Apis mellifica* est l'espèce la plus étudiée et la plus utilisée en apithérapie. En effet, sa capacité à produire d'importants volumes de miel ainsi que sa présence sur tous les continents du monde sauf l'Antarctique en fait une espèce de choix pour l'apithérapie. De nombreuses sous-espèces d'*Apis mellifera* existent mais, celles-ci étant rarement mentionnées dans les études scientifiques nous ne ferons pas la distinction par la suite.

## 1.2 Formation du miel

Le miel est une substance sucrée d'origine végétale, qui peut être de deux types en fonction de la matière première récoltée par l'abeille.

Le miel est principalement obtenu à partir du nectar des plantes, un liquide sucré riche en eau et en glucides, mais il peut également provenir du miellat.

Le miellat est un liquide épais et visqueux excrété principalement par les pucerons et les cochenilles. Ces insectes, en parasitant les plantes, se nourrissent des matières azotées contenues dans la sève qu'ils transforment en une substance sucrée : le miellat. Cet exsudat est alors récolté par les abeilles puis transformé en miel, complétant celui obtenu par l'intermédiaire du nectar ou le remplaçant.

L'histoire du miel commence bien avant la ruche.

En butinant les fleurs, les abeilles récoltent le nectar situé au fond de la corolle de la fleur et dans le même temps, enduisent leurs pattes de grains de pollen, contribuant ainsi à la pollinisation et à la survie des différentes espèces florales.

Une fois le nectar récolté, il est acheminé vers le jabot de l'abeille butineuse, aussi appelé estomac à miel, qui n'est autre qu'un renflement de l'œsophage ayant une fonction de stockage.

Avant d'atteindre le jabot de l'abeille, le nectar transite successivement par la bouche, où débouchent les glandes hypopharyngiennes et salivaires, par le pharynx, qui permet de pomper le nectar et par l'œsophage (figure 22).



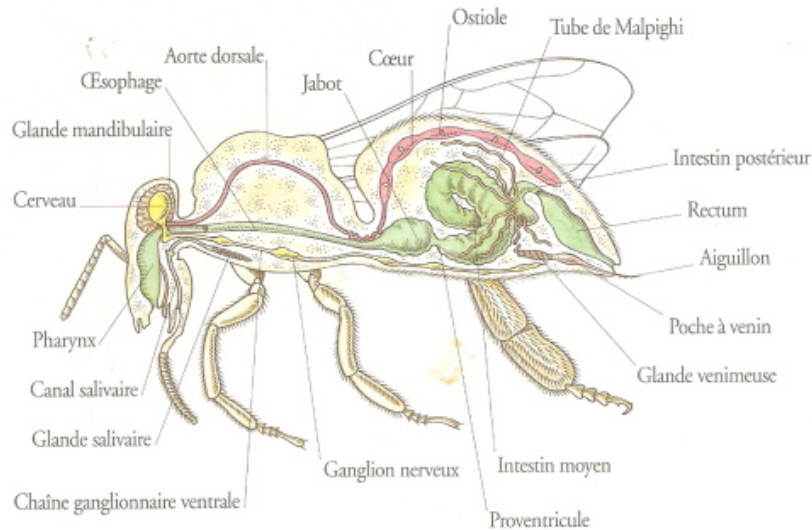


Figure 22: Anatomie interne d'une abeille ouvrière  
(<https://sciencesheembeek.wordpress.com>)

C'est au niveau du jabot que débute la transformation chimique du nectar.

En effet, la présence d'enzymes et plus particulièrement de l'invertase au niveau du jabot de l'abeille permet l'hydrolyse du saccharose en sucres simples : le glucose et le fructose (figure 23).

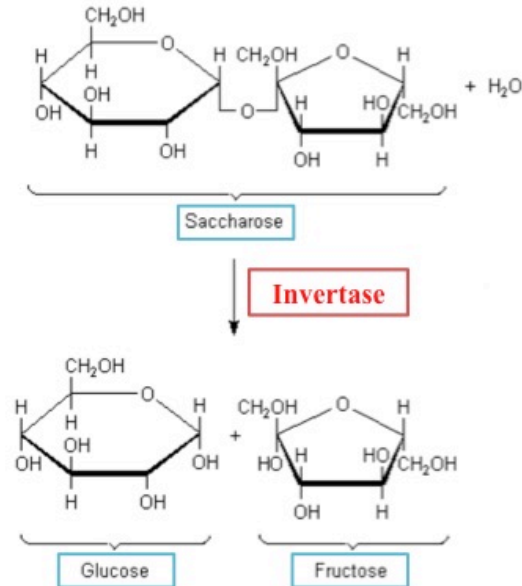


Figure 23: Hydrolyse du saccharose sous l'action de l'invertase  
(Adapté de : <http://apiculture-populaire.com>)

La concentration des sucres résultant de l'assèchement du nectar débute dans le jabot de l'abeille butineuse et se poursuit une fois que celle-ci est de retour à la ruche.



La butineuse régurgite le nectar qui sera ensuite réingurgité par de nouvelles abeilles ouvrières : c'est la trophallaxie (figure 24).



Figure 24: La trophallaxie des abeilles  
(<http://manaturamoi.skynetblogs.be>)

Grâce à ce moyen d'échange, le nectar qui transite d'abeilles en abeilles se charge en enzymes (invertase, diastase, glucose oxydase) ainsi qu'en sucs gastriques et se concentre par évaporation de l'eau du nectar (Desmoulière et *al.*, 2013).

La glucose oxydase permet la conversion du glucose en acide gluconique et en peroxyde d'hydrogène (figure 23). Durant la maturation du miel, cette enzyme est inactivée du fait de la faible teneur en eau mais elle reprend son activité si le miel est dilué.

Le rôle majeur des composés émanant de l'action de la glucose oxydase sera développé par la suite.

Une fois la trophallaxie terminée, le nectar encore chargé en eau est déposé dans les alvéoles de la ruche. Interviennent alors les ventileuses qui vont se charger d'abaisser la teneur en eau du produit à 17-20%.

Une fois cette valeur atteinte, le miel est prêt à être operculé par une fine couche de cire produite par les glandes cirières des abeilles afin de le protéger de l'humidité ([www.melibiotech.com](http://www.melibiotech.com)).



Le miel de miellat constitue quant à lui un cas particulier. Il n'est utilisé par les abeilles qu'en seconde intention, si le nectar vient à manquer ou en cas de conditions climatiques défavorables (Metral, 2014).

### 1.3 Miel utilisé

Pour être utilisé en thérapeutique, le miel doit répondre à certains critères : une contamination microbienne limitée, une bonne capacité d'inhibition des germes rencontrés en milieu hospitalier, un potentiel de cicatrisation et une bonne stabilité (Brischoux et *al.*, 2013).

À ce titre, le miel alimentaire classique ne peut être utilisé pour le soin des plaies.

Pour être conforme aux normes pharmaceutiques, la charge bactérienne du miel utilisé dans la cicatrisation des plaies ne doit pas excéder 30 unités formant colonies (UFC) par gramme. Pour répondre à ces exigences, il est possible d'avoir recours à la stérilisation par rayonnement gamma. Cela permet de détruire les organismes pathogènes présents dans le miel.

Cependant, à ce jour, aucune étude n'a été réalisée pour s'assurer que la stérilisation gamma ne modifiait pas les propriétés thérapeutiques du miel.

En comparaison, il est intéressant de noter qu'en moyenne 600 UFC par gramme sont retrouvés dans le miel alimentaire classique (Lechaux, 2013).

Afin de garantir son innocuité, le miel doit également être dénué de tous pesticides et métaux lourds. De plus, sa teneur en eau doit être comprise entre 17 et 18% pour écarter tout risque de fermentation.

Sa conservation se fera à l'abri des rayons UV afin d'éviter une altération de ses propriétés thérapeutiques (Lechaux, 2013).

Pour son utilisation en thérapeutique, le CHU de Limoges avait initialement jeté son dévolu sur le miel de thym. Riche en phénols (thymol, carvacrol), il présente une activité antibactérienne très importante, notamment sur *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*, des germes souvent rencontrés au niveau des plaies. Suite à quelques déconvenues qui seront développées plus bas, le miel de thym a aujourd'hui cédé sa place au miel de lavande.



## 1.4 Composition

Le miel est un produit à la composition très complexe et variable.

Cette inconstance s'explique notamment par l'intervention de nombreux facteurs parmi lesquels on retrouve :

- la composition du nectar et du miellat (variable selon l'espèce botanique butinée, la nature des sols, la saison, l'emplacement géographique, les conditions météorologiques) ;
- les transformations effectuées au sein de la ruche (dépendantes de l'état de la colonie, la température, la ventilation de la ruche, l'espèce des abeilles, les enzymes apportées par la butineuse) ;
- l'entretien des ruches (matériaux, éventuels produits phytosanitaires utilisés) ;
- les conditions de récolte et de conservation du miel (chauffage, humidité, lumière) (Metral, 2014).





Le miel est un aliment contenant près de 200 substances dont la composition moyenne est décrite dans le tableau ci-dessous :

Composés	Teneur	Détails
Eau	14-25%	
Glucides	78-80%	<p><u>Monosaccharides</u> : glucose ou dextrose (31%), fructose ou levulose (38%).</p> <p><u>Disaccharides</u> : maltose (7,3%), isomaltose, saccharose (1-2%).</p> <p><u>Polysaccharides</u> : erlose, raffinose, mélézitose, mélibiose.</p>
Acides organiques	Traces	Acides gluconique (majoritaire), formique, maléique, succinique, oxalique, glutamique, pyroglutamique, citrique, glucuronique, acétique, butyrique, chlorhydrique, lactique, malique, phosphorique <i>etc.</i>
Acides aminés et protéines	0,26%	Proline, tyrosine, leucine, histidine, alanine, glycine, méthionine, acide aspartique, albumine, peptones, globulines.
Lipides (acides gras)	Traces	Acide palmitique, oléique, linoléique, butyrique, caprique, caproïque et valérique.
Sels minéraux et oligoéléments	0,3%	K, Fe, Co, Ca, Zn, Cr, Na, Mn, Pb, Mg, Cu, Cd, Al, Ni <i>etc.</i>
Enzymes		Glucosyl-invertase, amylase $\alpha$ et $\beta$ , glucose oxydase, $\alpha$ -glucosidase, catalase, diastase, phosphatase.
Vitamines	Faible quantité	B1, B2, B3 ou PP, B5, B6, B8, B9. Vitamines C, A, D, K parfois présentes.
Pigments		Caroténoïdes, flavonoïdes, xanthophylles.
Substances aromatiques		<p><u>Alcool</u> : méthanol, éthanol, isobutanol, 2-phényléthanol.</p> <p><u>Aldéhydes et acétones</u> : formaldéhydes, acétaldéhydes <i>etc.</i></p> <p><u>Esters</u> : méthylantranlylates, acétates, méthyléthylcétone <i>etc.</i></p>



Substances		Inhibines, eau oxygénée, résidus médicamenteux (chloramphénicol, tétracyclines, antibiotiques, sulfatiazol), défensines.
Divers		Polluants (Cadmium, Plomb etc.), HMF, etc.

Tableau 5: Composition moyenne des miels européens  
(Adapté de l'ouvrage « Le miel dans votre pharmacie », Metral, 2014)

Les proportions établies dans le tableau ci-dessus ne sont que des valeurs moyennes. Il est important de souligner que ces pourcentages varient de façon plus ou moins importante d'un miel à l'autre.

## 1.5 Mode d'action et intérêt du miel dans le processus de cicatrisation

Les vertus cicatrisantes du miel sont aujourd'hui bien reconnues. Utilisé depuis de nombreuses années, c'est tout d'abord au CHU de Limoges que le miel s'est réellement implanté au sein de l'arsenal thérapeutique disponible. Véritable pionnier dans l'utilisation du miel à vertu cicatrisante, le professeur Bernard Descottes, chef du service de chirurgie viscérale et transplantations au CHU de Limoges aujourd'hui décédé, a consacré 25 ans de sa vie à l'étude du miel et de son utilisation en milieu hospitalier dans le traitement des plaies post-opératoires et des escarres.

### 1.5.1 Activité antimicrobienne

L'activité antimicrobienne du miel semble être le résultat de plusieurs éléments parmi lesquels on retrouve :

- **le peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)**

Comme nous l'avons évoqué précédemment, le peroxyde d'hydrogène est produit par réaction enzymatique (figure 25).

La production de peroxyde d'hydrogène et d'acide gluconique résulte de l'action sur le glucose d'une enzyme sécrétée par les glandes hypopharyngiennes de l'abeille : la glucose oxydase.



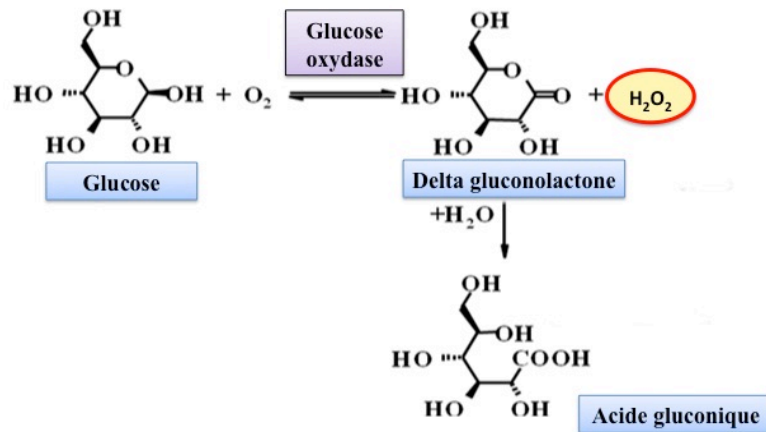
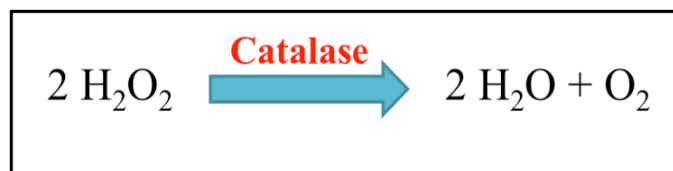


Figure 25: Oxydation du glucose par la glucose oxydase en milieu aérobie

A l'inverse de la glucose oxydase, la catalase réduit le peroxyde d'hydrogène selon la réaction suivante :



La concentration en peroxyde d'hydrogène est donc étroitement liée à l'activité de ces deux enzymes.

Le peroxyde d'hydrogène, également appelé eau oxygénée, est considéré comme étant la principale inhibine contenue dans le miel. Cette inhibine possède donc une double origine : végétale grâce au glucose provenant du nectar des plantes, mais également animale puisque sa formation implique une enzyme d'origine animale : la glucose oxydase sécrétée par l'abeille (Desmoulière et *al.*, 2013).

La formation de l'eau oxygénée est influencée par la chaleur et la lumière, la glucose oxydase étant une enzyme thermolabile et photosensible. Ces deux facteurs environnementaux altèrent la glucose oxydase, diminuant alors la production d'eau oxygénée d'où l'importance d'entreposer le miel dans un endroit frais à l'abri de la lumière (Bogdanov et Blumer, 2001).

Comme nous l'avons vu précédemment, la glucose oxydase est inactivée dans les miels mûrs mais sa réactivation est possible si le miel est dilué, comme c'est le cas au contact des exsudats d'une plaie.

Les travaux de White et *al.* menés en 1962 ont permis d'estimer qu'après dilution du miel l'activité de l'enzyme augmenterait de 2500 à 50000 permettant ainsi une libération lente et prolongée de peroxyde d'hydrogène à un niveau suffisamment important pour exercer son activité antimicrobienne sans pour autant provoquer de dommages tissulaires.

Il est particulièrement intéressant de noter que l'utilisation d'eau oxygénée seule est bien moins profitable que l'utilisation de miel. En effet, l'application de solutions antiseptiques classiques à base d'eau oxygénée conduit à une inflammation tissulaire excessive et à des dommages tissulaires, entravant alors la guérison des plaies. Au contraire, le miel réduit considérablement les effets indésirables du peroxyde d'hydrogène du fait de sa plus faible concentration (1000 fois moins importante que dans les solutions antiseptiques classiques) mais également de par sa forte teneur en antioxydants (composés phénoliques, flavonoïdes, caroténoïdes) qui protègent les tissus lésés des radicaux libres produits par H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (Oryan et *al.*, 2016). De plus, la présence d'acide ascorbique (vitamine C) dans le miel peut promouvoir l'activité bactéricide du peroxyde d'hydrogène.

Depuis plusieurs années, les propriétés antibactériennes de certains miels sont abondamment étudiées *in vitro* et *in vivo*. Les résultats qui en découlent démontrent une grande efficacité sur la plupart des bactéries sans laisser entrevoir l'émergence de résistances.

En effet, si depuis quelques années de nombreuses bactéries multi-résistantes (BMR) aux antibiotiques ont vu le jour, cela a incité de nombreux cliniciens à réévaluer l'utilisation du miel dans la cicatrisation des plaies. L'entreprise Melipharm® a, dans ce contexte, choisi de collaborer avec le CHU de Nîmes pour évaluer les propriétés antibactériennes d'un dispositif médical à base de miel sur un panel (>100) de souches bactériennes cliniques isolées de plaies de patients diabétiques. Les résultats (figure 26), très prometteurs, laissent entrevoir de nouvelles perspectives en suggérant l'utilisation du miel médical comme antiseptique d'autant qu'il n'existe aujourd'hui, comme nous l'avons mentionné plus haut, aucune résistance au miel.



## Résultats

Concentrations Minimales Inhibitrices et Bactéricides (CMI/CMB) du DM Melipharm vis à vis de souches de bactéries de référence et multi résistantes.

Microorganisms	MIC range	MBC range	
<b>Gram positive aerobic cocci</b>			
<i>Staphylococcus aureus</i> (N=6)	8,53 - 13,3	10,6 - 13,3	Même dilué (<16%), le DM Melipharm  - est bactéricide sur la plupart des souches testées  - est bactériostatique sur l'intégralité des souches testées.  Certaines souches multi résistantes sont même plus sensibles au DM Melipharm que les souches de référence (ATCC 23923 et PAO1) .
<i>S. aureus multirésistant</i> (N=10)	5,46 - 13,3	6,82 - 16,6	
<i>Enterococcus faecalis</i> (N=10)	10,6 - 16,6	16,6 - >16,6	
<i>Staphylococcus coagulase negative</i> (N=10)	5,46 - 10,6	6,82 - 10,6	
<i>Streptococcus pyogenes</i> (N=5)	10,6 - 13,3	13,3 - >16,6	
<i>Corynebacterium</i> (N=2)	5,0 - 6,0	6,82 - 8,53	
<b>Gram négative aerobic bacilli</b>			
<i>Escherichia coli</i> (N=10)	10,6 - 16,6	13,3 - >16,6	
<i>E. coli multirésistant</i> (N=10)	10,6 - 16,6	10,6 - >16,6	
<i>Proteus mirabilis</i> (N=5)	10,6	>16,6	
<i>P. mirabilis multirésistant</i> (N=4)	8,53 - 13,3	13,3 - >16,6	
<i>Enterobacter aerogenes</i> (N=5)	13,3	13,3	
<i>E. aerogenes multirésistant</i> (N=4)	13,3 - 16,6	16,6 - >16,6	
<i>Enterobacter cloacae</i> (N=8)	13,3	13,3	
<i>E. cloacae multirésistant</i> (N=5)	10,6 - 16,6	13,3 - 16,3	
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (N=6)	13,3	13,3	
<i>K. pneumoniae multirésistant</i> (N=5)	16,6 - >16,6	>16,6	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (N=16)	5,46 - 13,3	10,6 - 16,6	
<i>P. aeruginosa multirésistant</i> (N=10)	5,46 - 13,3	5,46 - >16,6	
<i>Acinetobacter baumannii</i> (N=9)	10,6	10,6	
<i>A. baumannii multirésistant</i> (N=8)	10,6 - 13,3	10,6 - 13,3	
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i> (N=2)	8,53 - 10,6	13,3 - 16,6	

Figure 26: Résultats d'une étude menée au CHU de Nîmes sur les propriétés antibactériennes du DM Melipharm

(www.melipharm.com)

### - Osmolarité

Le miel est un fluide visqueux qui fournit une barrière protectrice en empêchant la pénétration des microorganismes dans les plaies (figure 27).

Cette solution hypertonique saturée ou sursaturée en sucres, est fortement osmolaire du fait de la présence d'hydrates de carbones (fructose, glucose, sucrose, maltose etc.) (Oryan et al., 2016). L'osmolarité correspond à la concentration de particules osmotiquement actives contenues dans une solution. Plus simplement, cela signifie que les particules osmotiquement actives exercent un pouvoir attractif sur les molécules d'eau.

L'effet osmotique du miel facilite le drainage de la lymphe et du plasma à partir des tissus sous-jacents (figure 26). Cela permet le maintien d'un milieu humide favorable à la cicatrisation, un apport de nutriments et d'oxygène, un débridement mécanique permis par les mouvements des fluides ainsi qu'une résorption de l'œdème péri-lésionnel (Tomczak, 2010). Le débridement mécanique classique est une technique qui consiste à éliminer les tissus nécrotiques d'une plaie par l'application de pansements humidifiés par une solution de NaCl 0,9% qu'on laisse sécher (technique « wet-to-dry ») ou grâce à l'hydrothérapie.

Cette technique présente l'inconvénient de rendre le retrait des pansements douloureux, ce qui n'est pas le cas en présence de miel.

L'existence d'une forte interaction entre les molécules de sucres et les molécules d'eau ne laisse que très peu de molécules d'eau disponibles pour la survie des microorganismes (Molan, 1992).

Cette fraction libre de l'eau est quantifiée par l' $a_w$  qui n'est autre que l'activité de l'eau. L' $a_w$ , qui correspond au rapport entre la pression de vapeur d'eau d'un produit humide divisée par la pression de vapeur de l'eau pure à la même température, estime la fraction d'eau libre d'un produit disponible par exemple pour le développement de micro-organismes. L' $a_w$  est comprise entre 0,562 et 0,62 dans le miel ce qui signifie que la fraction libre de l'eau présente dans le miel est relativement faible (Metral, 2014).

Concernant les bactéries, la plupart des souches nécessitent une  $a_w$  supérieure à 0,659 pour se développer, d'où le fait que la croissance bactérienne soit bloquée (Metral, 2014). Lorsque le miel est appliqué localement sur la plaie, les bactéries n'ont alors plus suffisamment accès à l'eau pour croître (effet bactériostatique), et subissent inexorablement une déshydratation susceptible de mener à leur mort (effet bactéricide).

Cependant, certaines bactéries comme *Staphylococcus aureus* sont dites osmotolérantes. Cela signifie qu'elles peuvent croître dans des milieux où l' $a_w$  est relativement basse. La croissance de cette bactérie n'est inhibée que pour un  $a_w$  inférieur à 0,86 ce qui correspond à des concentrations de miel standard de 29%. Malgré ce constat, *Staphylococcus aureus* n'en reste pas moins une des bactéries les plus sensibles à l'activité antibactérienne du miel, ce qui confirme que d'autres facteurs sont impliqués.

La forte teneur en eau de certains miels favorise le développement des levures ce qui provoque une altération du miel du fait de la fermentation des sucres en acides.

En revanche, l'activité hydrique du miel mûr est trop basse pour permettre la croissance des levures (Molan, 1992).

Les champignons, quant à eux semblent beaucoup plus tolérants aux  $a_w$  basses, ce qui laisse sous-entendre qu'il existe des éléments autres que l'osmolarité à l'origine de l'activité antifongique.



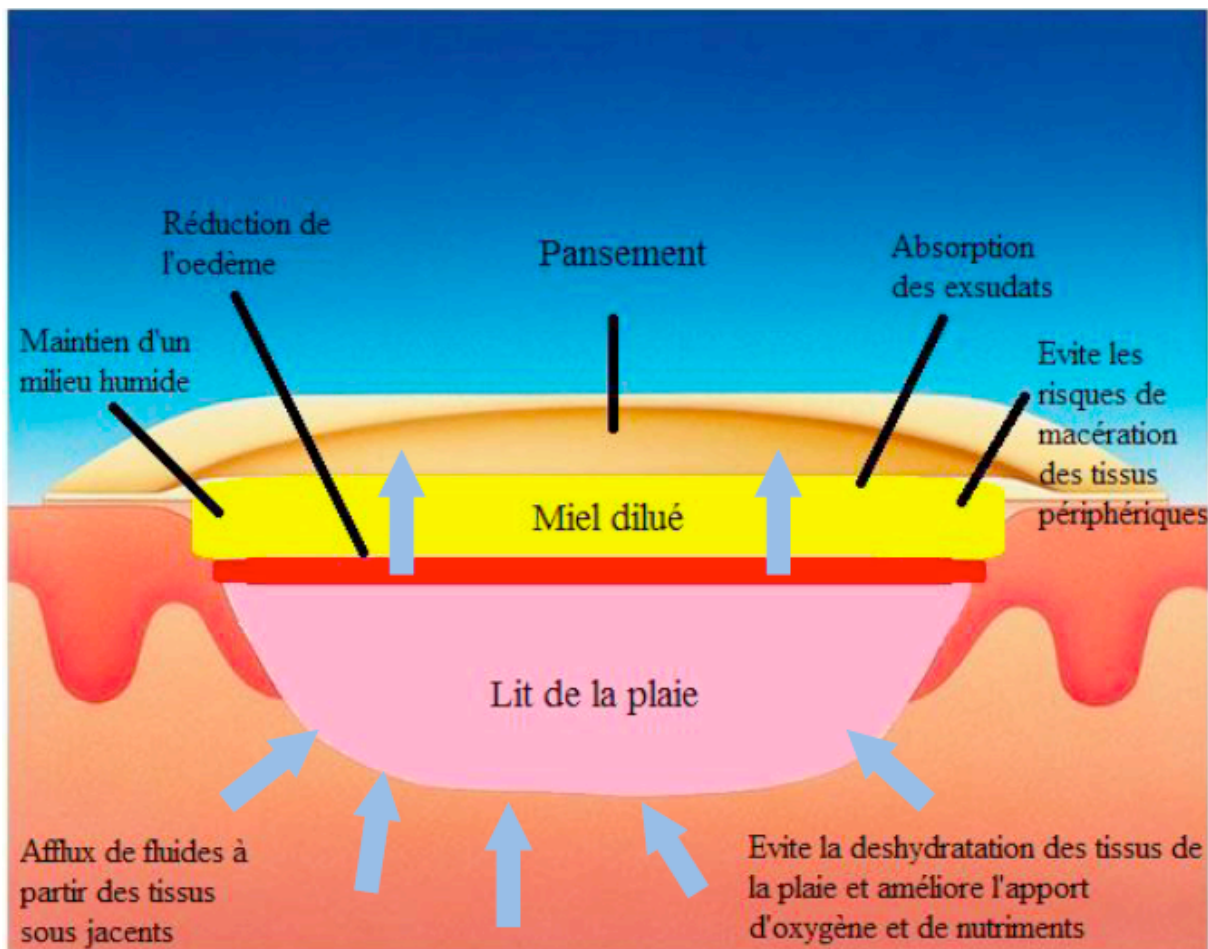


Figure 27: Représentation schématique des effets de l'osmolarité du miel  
(Tomczak, 2010)

## - L'acidité

Le miel est un produit relativement acide dont le pH se situe entre 3,2 et 4,5 (Molan, 1992 et Oryan et *al.*, 2016).

Ce pH bas s'explique par la présence d'acides et plus précisément de l'acide gluconique émanant de l'action enzymatique de la glucose oxydase sur le glucose. Ce pH est généralement suffisant pour inhiber la croissance de la plupart des bactéries pathogènes, celles-ci se développant principalement au sein d'un pH compris entre 4,5 et 9 (Metral, 2014). Le milieu acide du miel empêche la croissance de certaines bactéries communément retrouvées dans les plaies parmi lesquelles on retrouve *Escherichia coli* dont la croissance n'est possible qu'à partir d'un pH supérieur à 4,3, à partir d'un pH supérieur à 4 pour celle de *Salmonella sp.*, supérieur à 4,4 pour celles de *Pseudomonas aeruginosa* et supérieur à 4,5 pour celle de *Streptococcus pyogenes*. Certaines études ont cependant montré qu'il n'existait pas de corrélation entre le pH du miel et son activité antibactérienne (Molan, 1992).

La dilution du miel par la présence d'exsudats augmenterait le pH et diminuerait de ce fait son impact sur l'activité bactérienne lorsqu'il est utilisé par voie locale (Metral, 2014).

Les avis sur le sujet ne sont cependant pas unanimes. En effet, Molan rapporte que quand le miel est utilisé comme pansement au niveau d'une plaie ou d'un ulcère, il se pourrait que les bactéries soient au contact d'un miel bien moins dilué et qu'à ce moment-là, l'acidité du pH puisse jouer un rôle antibactérien important.

#### - Les facteurs non-peroxydes

Le peroxyde d'hydrogène a longtemps été considéré comme seul agent antiseptique du miel. De ce fait, le terme « inhibine » lui a souvent été attribué indifféremment du terme « peroxyde d'hydrogène ». La persistance d'une activité antibactérienne dans des miels exposés à la chaleur, à la lumière ou dans lesquels avait été ajoutée de la catalase de façon importante, a fait émerger la notion de facteurs « non-peroxydes » par opposition à l'activité antibactérienne liée au peroxyde d'hydrogène. Ces constatations convergent donc vers l'existence d'éléments antibactériens autres que le peroxyde d'hydrogène.

#### ❖ Défensines

Les défensines sont des peptides antimicrobiens qui agissent sur l'intégrité et la perméabilité de la membrane cytoplasmique des organismes pathogènes.

Elles existent sous deux formes : la défensine 1 et la défensine 2.

La défensine 1 possède trois isoformes : une des isoformes est présente dans l'hémolymphe des abeilles tandis que les deux autres sont retrouvées dans la gelée royale ce qui leur a valu le nom de royalisine. Ces isoformes sont issues d'un même gène polymorphe mais elles diffèrent d'un ou deux acides aminés. La défensine 1 est synthétisée par les glandes hypopharyngiennes et mandibulaires des abeilles (Couquet et *al.*, 2013). Sa présence dans le miel pourrait s'expliquer par le processus de régurgitation mis en œuvre par les abeilles lors de la fabrication du miel (McLoone et *al.*, 2015). La défensine 1 serait active contre les moisissures, les levures, les protozoaires, les acariens, les virus, les bactéries Gram + et quelques espèces de bactéries Gram -.

En ce qui concerne la défensine 2, des hypothèses suggéreraient qu'il s'agit d'un peptide antibactérien inductible participant à l'activité antimicrobienne du miel (Oryan et *al.*, 2016).

Ces défensines sont semblables à celles retrouvées dans notre organisme ; elles participent à la réponse immunitaire.





## ❖ Méthylglyoxal

Le méthylglyoxal (MGO) est un composé antimicrobien capable d'interagir avec l'ADN. Chez les bactéries Gram +, il régule l'expression des gènes impliqués dans la stabilité de la paroi cellulaire (Oryan et *al.*, 2016).

Particulièrement abondant dans le miel de manuka, c'est le professeur Henle qui a identifié le MGO comme étant le composé actif de ce miel (Atrott et Henle, 2009).

Le miel de manuka est un produit issu du butinage par les abeilles de buissons de manuka (*Leptospermum scoparium*) appartenant à la famille des Myrtacées, particulièrement présents en Nouvelle-Zélande et en Australie. Ce miel contient des taux de MGO nettement supérieurs à ceux des autres miels d'où son activité antibactérienne particulièrement « non peroxydasique » (Metral, 2014).

Afin d'en quantifier les propriétés antibactériennes, un indice, le « unique manuka factor », UMF, a même été créé.

Le MGO est issu de la transformation du dihydroxyacétone (provenant du nectar des fleurs de manuka) à 37°C. Cependant, le MGO ne semble pas être le seul composé responsable de l'activité non peroxydasique du miel. En effet, Jenkins et *al.* (2011) ont comparé l'activité de miels artificiels enrichis en MGO à celle du miel de manuka sur les SARM ; l'activité non peroxydasique reste supérieure dans le miel de manuka (Metral, 2014).

Afin d'illustrer l'efficacité du miel de manuka dans la lutte contre les SARM, on peut par exemple citer le cas auquel les médecins allemands de l'université de Bonn ont été confrontés il y a quelques années. Un SARM a été mis en évidence chez un enfant cancéreux âgé de 12 ans, au niveau du drain qu'il possédait à l'abdomen. Rapidement isolé du reste des patients afin de ne pas provoquer d'infection nosocomiale, l'enfant a été traité avec des antiseptiques locaux pendant 12 jours sans succès. C'est alors que les médecins ont décidé de se tourner vers l'utilisation du miel de manuka, réputé pour son action contre les SARM. Le verdict fût sans appel puisque 2 jours plus tard la plaie était nettoyée de toute trace de bactérie, permettant alors la reprise de la chimiothérapie initialement suspendue (Simon et *al.*, 2009).

## ❖ Composés aromatiques

Certaines molécules aromatiques (flavonoïdes, composés phénoliques) de la plante peuvent se retrouver dans le miel et contribuer à son activité antibactérienne.



On peut, par exemple, citer la pinocembrine, flavonoïde majeur retrouvé dans la propolis qui a été identifiée comme agent antibactérien. Cependant, les quantités retrouvées dans le miel restent modestes et pourraient ne participer que pour 1 voire 2% à l'activité antibactérienne non-péroxydasique (Molan, 1992).

Encore mal caractérisées, de nombreuses autres substances pourraient participer à l'activité non-péroxydasique. Parmi elles, on peut notamment citer le méthyl syringate, un composé phénolique, ou encore le lysozyme, une enzyme bactériostatique produite par l'abeille.

### ❖ Autres substances

Indirectement, de nombreuses substances pourraient avoir un rôle important à jouer dans les propriétés antibactériennes attribuées au miel.

Au contact d'une plaie infectée, le miel serait capable de stimuler la production d'anticorps par différents mécanismes, activant ainsi la réponse immunitaire dans le but de lutter contre l'infection. Il permettrait notamment la sécrétion de cytokines (TNF $\alpha$ , l'IL-1 ou encore l'IL-6) par les monocytes, pourrait également augmenter l'immunité humorale en augmentant le taux de monoxyde d'azote, ou stimulerait la production d'anticorps en réduisant la concentration plasmatique de prostaglandines (Oryan et *al.*, 2016).

## 1.5.2 Activité anti-inflammatoire

Comme nous l'avons évoqué précédemment, le processus de cicatrisation requiert une phase inflammatoire brève et modérée. Elle peut devenir délétère si elle est excessive ou qu'elle se prolonge dans le temps, entravant alors le phénomène de réparation cutanée en induisant le plus souvent la mise en place d'une plaie chronique.

Le contrôle de l'inflammation est donc indispensable à la bonne guérison cutanée et réduit significativement par ailleurs, le risque de cicatrisation hypertrophique (Metral, 2014 et Oryan et *al.*, 2016).

L'effet anti-inflammatoire du miel pourrait notamment s'expliquer par sa capacité à réduire les concentrations plasmatiques de prostaglandines, médiatrices de l'inflammation.

Il a également été démontré que le miel, et plus précisément certains composés phénoliques qu'il renferme, luttait contre l'inflammation en inhibant le facteur de transcription nucléaire NF- $\kappa$ B (Hussein et *al.*, 2013) (Kassim et *al.*, 2010).

Le facteur NF- $\kappa$ B, en activant la transcription de gènes à l'origine de molécules pro-inflammatoires comme le TNF $\alpha$ , l'IL-1 ou encore la COX-2 (Weill et Batteux, 2003), contribue au maintien de l'inflammation.

En régulant négativement le facteur NF- $\kappa$ B, les composés phénoliques du miel permettent donc une activité anti-inflammatoire (figure 28) (Kassim et *al.*, 2010).

En 2016, Nooh et Nour-Eldien ont remarqué que le miel réduisait l'activité des cyclooxygénases, la concentration des prostaglandines E2, du thromboxane B2 et de médiateurs de l'inflammation (figure 28).

Ces constatations semblent en accord avec celles de Kassim et *al.*, 2010 par un effet de cascade (figure 28).

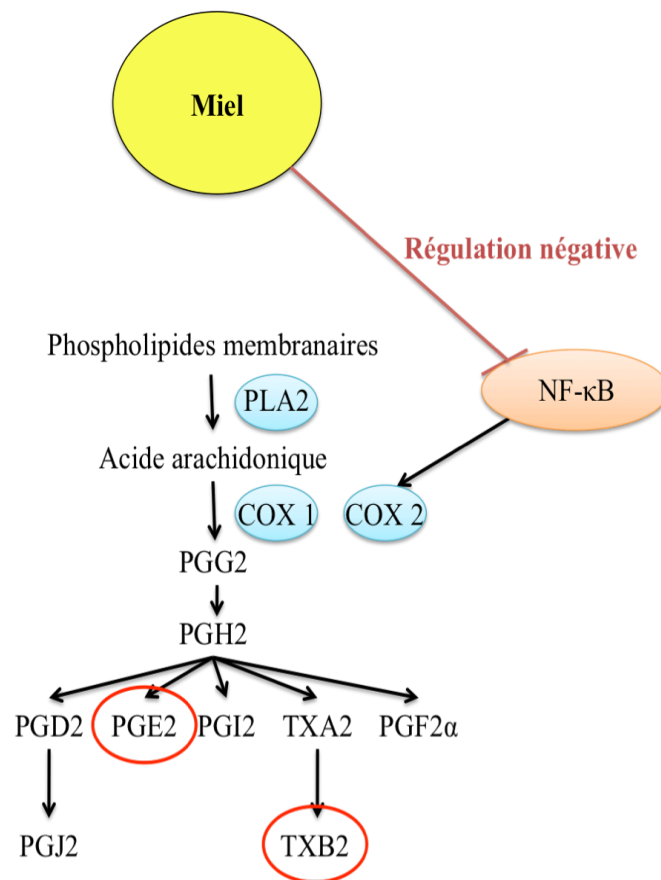


Figure 28: Effet anti-inflammatoire du miel

(COX = cyclooxygénase, PLA2 = phospholipase A2, PG = prostaglandine, TX = thromboxane)

### 1.5.3 Détersion des plaies par le miel

Le miel favorise le débridement rapide des plaies grâce à son pouvoir osmotique. En potentialisant le drainage de la plaie, le miel attire les fluides contenus en profondeur (Metral, 2014). Cela provoque alors un afflux de liquides dans le lit de la plaie favorisant ainsi la mise en place d'un environnement humide, favorable à la cicatrisation, et riche en protéases, favorisant ainsi la détersion. Selon Molan, l'action détersive du miel pourrait en grande partie s'expliquer par la conversion du plasminogène en plasmine qu'il génère (Metral, 2014). Oryan et *al.* ajoutent que le miel serait capable d'empêcher la production de l'inhibiteur de l'activateur du plasminogène, le « plasminogen activator inhibitor » (PAI) par les macrophages. Ces deux hypothèses convergent toutes les deux vers l'augmentation du taux de plasmine. Comme nous l'avons vu précédemment, la plasmine est capable d'attaquer la fibrine. Ainsi, la forte concentration en plasmine permet la décomposition de la fibrine du lit de la plaie et contribue ainsi à sa détersion. Encore une fois, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> joue ici aussi un rôle précieux. En effet, au contact des tissus et du sang, il se décompose en eau et en oxygène, entraînant alors une « microeffervescence » et un nettoyage mécanique de la plaie, renforçant alors le processus de détersion (Couquet et *al.*, 2013).

### 1.5.4 Action désodorisante du miel

Si les plaies infectées recouvertes par des pansements conventionnels peuvent parfois présenter une odeur nauséabonde, ce n'est pas le cas avec le miel. L'émanation d'odeurs désagréables représente un réel inconfort pour le patient comme pour le personnel soignant, pouvant parfois même aboutir à l'isolation sociale du patient ; son impact ne doit pas être minimisé.

L'odeur désagréable des plaies infectées est générée par les bactéries.

En effet, les bactéries présentes au sein de la plaie infectée consomment des protéines pour obtenir l'énergie nécessaire à leurs besoins. La dégradation de ces protéines dégage des composés soufrés et aminés responsables des mauvaises odeurs. En présence de glucose, les bactéries délaissent les protéines au profit des sucres, leur source d'énergie préférentielle (Molan, 2012). En consommant les sucres, les bactéries produisent de l'acide lactique, en remplacement des composants malodorants (Metral, 2014).

### 1.5.5 Stimulation de la croissance cellulaire et activité immunomodulatrice

Le miel stimule de façon significative la croissance cellulaire. Ce fait a pu facilement être vérifié cliniquement tant la guérison des plaies était accélérée par l'utilisation de pansements au miel. Ce phénomène s'explique par l'intervention de nombreux éléments.



### ❖ L'angiogenèse

Cette étape primordiale dans le processus de guérison cutanée est stimulée par le miel. Parmi les éléments influents, on retrouve notamment  $H_2O_2$  ainsi que le NO, tous deux capables de stimuler l'angiogenèse en agissant sur le facteur de croissance de l'endothélium vasculaire aussi connu sous le nom de « vascular endothelial growth factor » (VEGF) (Oryan et *al.*, 2016).

### ❖ Réépithélialisation

Le miel contribue à la régénération de l'épiderme.

En effet, cette substance nutritive source de glucose et d'énergie, fournirait un environnement capable de favoriser la migration des cellules épithéliales à la surface de la peau.

Les traces de sels minéraux et d'oligoéléments (comme le Zn, Fe, Cu, Co, Mn, Mg) contenus dans le miel, seraient capables de promouvoir la prolifération des kératinocytes en modulant l'expression de certaines intégrines qui sont des récepteurs impliqués dans l'adhésion cellulaire (Oryan et *al.*, 2016).

### ❖ Formation du tissu de granulation

Le pH du miel pourrait aider à fournir des conditions optimales pour l'activité des fibroblastes qui nécessitent un milieu légèrement acide.

Cette acidité est également intéressante puisqu'elle permet d'augmenter la libération d'oxygène par l'hémoglobine dans les capillaires et d'inactiver certaines enzymes digestives dans la plaie. En effet, ces enzymes protéolytiques seraient capables de détruire les facteurs de croissance (qui sont des protéines), certains éléments de la MEC dont la fibronectine, des éléments indispensables à l'activation des fibroblastes et à leur migration (Simon, 2009). Ces enzymes, n'agissant qu'à pH neutre, seraient alors rendues inactives par l'adjonction de miel abaissant le pH (Molan, 2012).

En plus de ses propriétés antiseptiques et de sa capacité à promouvoir l'angiogenèse,  $H_2O_2$  pourrait également agir comme un messenger intra et intercellulaire capable d'améliorer la croissance et de stimuler l'expression de gènes de croissance importants dans la guérison cutanée (Lusby et *al.*, 2002).

L'activité immunomodulatrice du miel a été mise en évidence en 2003 par Tonks et son équipe.



Comme nous l'avons évoqué précédemment, le miel augmenterait de façon significative la libération par les monocytes de TNF $\alpha$ , d'IL-1 et d'IL-6, des cytokines nécessaires au bon déroulement de la cicatrisation.

Le TNF $\alpha$  stimule l'angiogenèse, la prolifération des fibroblastes ainsi que la synthèse de prostaglandines et de collagénase par les fibroblastes.

L'IL-6 favorise la mitose des kératinocytes et agit en synergie avec le TNF $\alpha$ . En effet, il a été constaté que le TNF $\alpha$  était capable d'induire la production d'IL-6 par les kératinocytes.

Enfin, l'IL-1 ainsi que le TNF $\alpha$  stimulent la libération de facteurs de croissance et plus particulièrement du PDGF et du TGF $\beta$  qui exercent un chimiotactisme sur les monocytes et les fibroblastes (Tonks et *al.*, 2003).

Les propriétés immunomodulatrices du miel pourraient s'expliquer par l'action synergique de lipopolysaccharides, d'un composé de 5,8 kDa, de glycoprotéines présentes dans la gelée royale, d'un composé de 261 kDa et de méthylglyoxal (Tomczak, 2010).

### 1.5.6 Activité anti-oxydante

L'activité anti-oxydante du miel est due à la présence de nombreux composants parmi lesquels on retrouve les flavonoïdes, les acides phénoliques, la vitamine C, la vitamine E, *etc.* Il a été mis en évidence qu'une forte corrélation existait entre l'activité anti-oxydante et la teneur en acides phénoliques (Oryan et *al.*, 2016).

Le miel, de par son importante teneur en anti-oxydants, serait capable de protéger les tissus de la plaie des radicaux libres oxygénés produits par H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Outre les radicaux libres oxygénés produits par H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, on retrouve également une source de production de radicaux libres au sein des macrophages. En effet, c'est grâce à cette production de radicaux libres que les macrophages sont capables de tuer et de digérer leur proie.

### 1.5.7 Activité analgésique

Il semblerait que le miel soit capable de soulager les douleurs.

De nombreuses études ont montré que le miel possédait des effets analgésiques (Alvarez-Suarez et *al.*, 2013) (Gunduz et *al.*, 2014) (Zakaria et *al.*, 2015).

En effet, plusieurs composés présents dans le miel seraient capables de participer à l'effet anti-nociceptif. Cela pourrait découler des propriétés anti-inflammatoires et immunomodulatrices du miel mais également de la présence de certains composés dans le miel comme les acides phénoliques ou les flavonoïdes (Zakaria et *al.*, 2015).



Bien que le mécanisme précis à l'origine de l'effet analgésique ne soit pas entièrement élucidé aujourd'hui, il semblerait que différents récepteurs du système nerveux autonome soient impliqués (Owoyele et *al.*, 2013).

Comme nous l'avons évoqué ci-dessus le miel agit à différents niveaux et son mode d'action peut être résumé dans la figure 29.

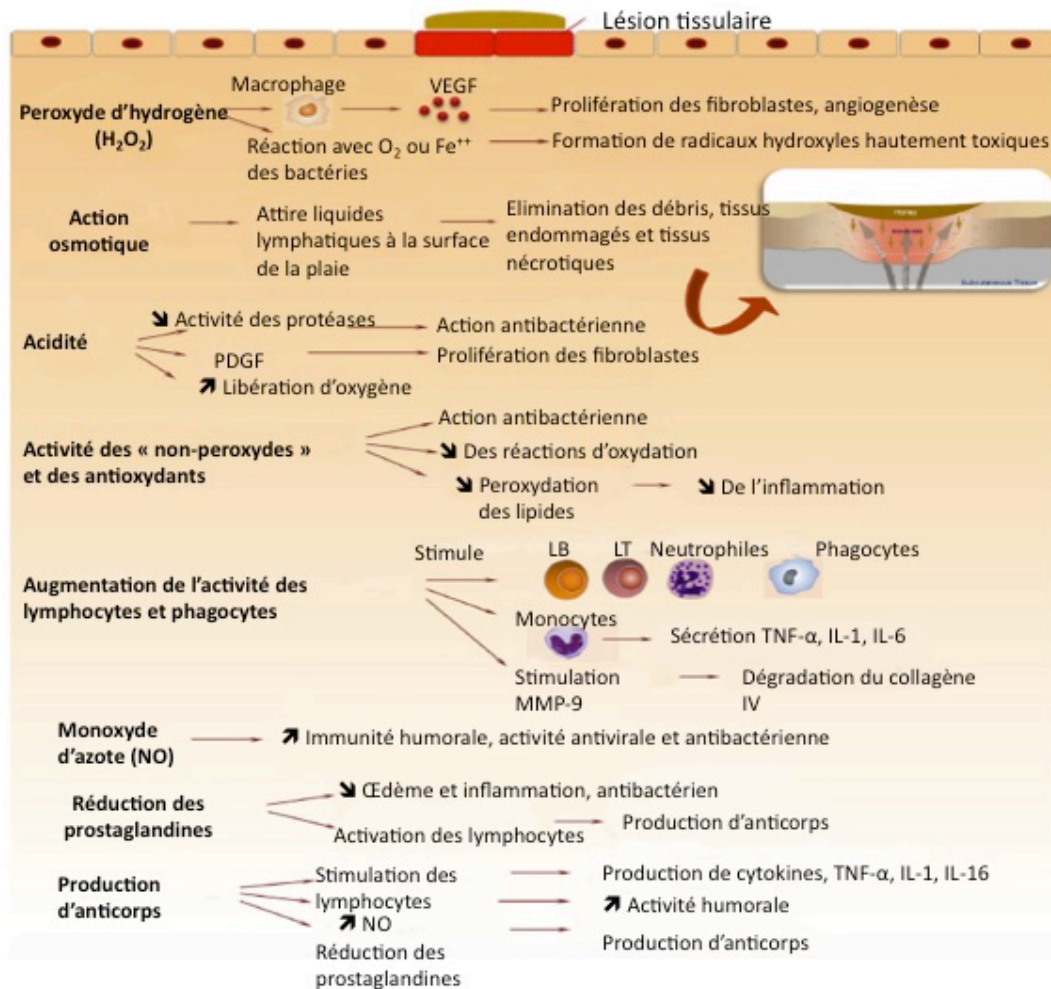


Figure 29: Résumé des différentes cibles d'action du miel

(Adapté de « Biological properties and therapeutic activities of honey in wound healing : a narrative review and meta-analysis », Oryan et *al.*, 2016)

## 1.6 Indications

De nombreuses plaies peuvent être traitées par le miel.

Représentant une alternative intéressante aux traitements conventionnels, le miel est une option thérapeutique qui peut s'avérer très profitable.

Il peut notamment être utilisé pour traiter :

- des plaies aiguës : dermabrasions, gelures, engelures, brûlures, lacérations dermiques ;
- des plaies chroniques : ulcères de jambes, escarres, maux perforants plantaires ;
- des plaies spécifiques rencontrées en chirurgie cardiaque, thoracique et vasculaire.

Nombreuses sont les études qui rapportent les effets bénéfiques des pansements au miel (Baritaud et *al.*, 2013).

Parmi elles, on peut notamment citer l'étude Cochrane publiée en 2013 qui avait pour objectif de déterminer la capacité du miel à accélérer la guérison des plaies aiguës et chroniques. Cette revue systématique publiée une première fois en 2008 par Jull et son équipe puis mise à jour en 2013 a regroupé les résultats de 25 essais cliniques (2987 participants).

Il s'est avéré que pour les plaies aiguës (et plus particulièrement les brûlures de second degré), le miel pouvait réduire le temps de guérison par rapport à l'application d'un pansement classique. La différence moyenne pondérée calculée selon un intervalle de confiance à 95% s'est établie à - 4,68 jours.

Cela signifie que l'application de miel a permis une guérison cutanée plus rapide, obtenue en moyenne 4,68 jours plus tôt qu'avec un pansement classique. Si ces résultats semblent significatifs dans le cas de plaies aiguës, en revanche les résultats obtenus dans le cas de plaies chroniques sont bien plus modérés (Jull et *al.*, 2013).

Le miel pourrait donc s'avérer être intéressant dans la prise en charge de plaies aiguës, moins pour celle des plaies chroniques.

## **1.7 Application clinique : exemple du protocole de soins utilisé au CHU de Limoges**

Durant les nombreuses années qu'il a consacré à l'étude du miel, le professeur Bernard Descottes s'est nourri de ses différentes expériences pour mettre au point un protocole de soins en collaboration avec l'équipe infirmière du service.

### **1.7.1 Accord du patient**

Afin de procéder aux soins impliquant l'utilisation de miel, l'accord du patient est indispensable.

Cet accord fait suite à une information rigoureuse du patient sur la cicatrisation par le miel, et doit faire l'objet d'un consentement écrit.

Une fois la feuille d'autorisation signée par le patient ou sa famille, si ce dernier ne peut le faire, les soins peuvent débuter.





## 1.7.2 Approvisionnement des services par la pharmacie centrale

Au début de son activité de cicatrisation par le miel, le CHU de Limoges était approvisionné par trois apiculteurs, qui fournissaient respectivement deux miels de thym et un miel de châtaigner. Le miel de châtaigner a rapidement été écarté du fait de sa contamination microbienne importante.

Ainsi, pendant des années, c'est le miel de thym d'un apiculteur du sud de la France situé dans l'Aude qui a été utilisé dans le traitement des plaies. L'utilisation du miel de thym était liée à une recherche faite sur les pouvoirs anti-bactériens des miels, dans la thèse de pharmacie de N. Guyon.

Cependant, lors d'une année particulièrement pluvieuse, le miel de thym s'est avéré particulièrement riche en levures du fait de la baisse du taux de déshydratation du miel. Inutilisable dans le domaine médical, le CHU de Limoges a dû se tourner vers une autre alternative: le miel de lavande.

Le miel de lavande contient 4 à 5 fois moins de champignons que le miel de thym et il a aujourd'hui remplacé le miel de thym au CHU de Limoges.

Le miel de lavande est acheminé au CHU de Limoges dans des pots en verre d'un kilogramme.

Sur chaque pot de miel, 5 à 6 grammes sont prélevés afin de réaliser une étude bactériologique et fongique. Une fois les résultats certifiés, le miel est conditionné en pots opaques de 60 grammes sur lesquels figurent le numéro de lot, l'appellation du miel et la date limite d'utilisation (DLU), qui est d'un an.

Les pots de miel ainsi étiquetés sont conservés dans la partie basse des réfrigérateurs de la pharmacie centrale de l'hôpital.

La distribution des pots de miel par la pharmacie centrale est fonction du besoin des services, dont les commandes se font par l'intermédiaire du cahier de pharmacie.

Lors de son utilisation, le pot de miel est identifié au nom du patient et mentionne la date d'ouverture ; après ouverture, le miel pourra être conservé un mois hors du réfrigérateur.

S'il y a quelques années de cela, le miel brut d'apiculteur était le seul à être utilisé dans la cicatrisation des plaies au CHU de Limoges, la popularisation du miel a conduit aujourd'hui à l'émergence de nombreuses spécialités pharmaceutiques, considérées comme de véritables dispositifs médicaux (DM) (voir plus bas). À l'inverse du miel brut d'apiculteur, ces DM sont stériles.

Ainsi, dans une moindre mesure, le miel MELECTIS® issu de l'entreprise Méli pharm basée à Limoges, est également utilisé au CHU de Limoges.



Ce DM, dont la stérilité est obtenue à la suite d'un rayonnement gamma, est issu d'un assemblage de miels monofloraux sélectionnés selon leurs propriétés.

Le choix d'utiliser le miel d'apiculteur ou le DM MELECTIS® est service-dépendant.

Le service de chirurgie viscérale ainsi que celui de chirurgie thoracique et cardiovasculaire (C.T.C.V.) préfèrent utiliser du miel d'apiculteur qui leur semble plus efficace.

Comme mentionné plus haut, la diminution présumée d'efficacité des DM pourrait être due à la stérilisation gamma, bien que cela reste hypothétique aujourd'hui.

### **1.7.3 Technique de pansement**

Dans un premier temps il est primordial d'évaluer le stade de cicatrisation de la plaie, le protocole de soins fluctuant en fonction de la plaie.

#### **1.7.3.1 Stade de détersion**

La plaie d'aspect jaunâtre voire blanchâtre, possédant ou non des zones de nécrose, est nettoyée au sérum physiologique.

Ce nettoyage est ensuite renforcé par un brossage superficiel effectué à l'aide d'une brosse stérile à poils souples. Une irrigation au sérum physiologique permettra par la suite d'évaluer l'efficacité du soin.

Une fois ces étapes effectuées, la plaie est alors prête à recevoir le miel. Ce dernier est déversé directement dans la plaie ou bien peut être appliqué sur la plaie par l'intermédiaire d'une compresse.

Pour terminer, une compresse stérile sèche maintenue en place grâce à un morceau de bande non-tissée adhésive hypoallergénique multi-extensible vient recouvrir la plaie.

En cas de plaie très exsudative, la compresse pourra être remplacée par un pansement absorbant.

Le pansement est changé tous les jours, voire, exceptionnellement, de façon quotidienne si la plaie est très exsudative (Descottes, 2009).

#### **1.7.3.2 Stade de bourgeonnement**

La plaie, dépourvue de fibrine, prend un aspect rouge et saigne facilement.

Seule une irrigation douce de sérum physiologique précède l'application du miel.



Comme précédemment, une compresse sèche accompagnée d'un morceau de bande non-tissée adhésive hypoallergénique multi-extensible vient recouvrir l'ensemble.

### 1.7.3.3 Stade d'épithélialisation

La plaie à l'aspect rosé cicatrise progressivement à partir des berges.

La plaie est rincée au sérum physiologique.

Du miel est appliqué si besoin et la plaie peut être laissée sans protection à l'air libre.

L'utilisation de pansements au miel a fait l'objet de nombreuses études.

Si le miel ne peut pas être considéré comme un antiseptique en tant que tel, les avantages par rapport à l'utilisation de pansements conventionnels sont nombreux.

En effet, certains traitements conventionnels ont montré quelques limites du fait de leurs passages dans la circulation systémique. Parmi eux, on peut évidemment citer le cas de l'utilisation d'alcool chez l'enfant, mais également de la povidone iodée. Cette dernière, dont l'activité antiseptique est entravée par les interactions avec le contenu protéique de l'exsudat, n'est pas dénuée d'effets indésirables. Ainsi, certains cas de troubles thyroïdiens ont été recensés dans la population pédiatrique du fait de l'absorption systémique de l'iode. Le miel ne présente aucun de ces soucis compte tenu de l'absence de passage systémique ; c'est la raison pour laquelle le miel peut être utilisé dans le traitement des plaies chez les diabétiques sans craindre une augmentation du taux de glucose dans le sang. Cependant, il est recommandé d'effectuer une surveillance médicale si les lésions à traiter sont trop étendues (Kirby et *al.*, 2009) (Candeias et Cardoso, 2011).

#### Avantages des pansements au miel :

- Faciles à utiliser par le patient comme pour son entourage ;
- Conformes aux croyances culturelles de chacun (contrairement aux larves et aux sangsues évoquées précédemment) ;
- Retrait aisé, sans douleur, sans abîmer le tissu de granulation en formation ;
- Coût économique réduit :
  - o 3 kilogrammes de miel ont le même prix qu'un litre de povidone iodée.
  - o Diminution du temps d'hospitalisation et du recours aux greffes et aux amputations.

(Moghazy et *al.*, 2010)



## 1.8 Dispositifs médicaux à base de miel disponibles en France

Les DM à base de miel disponibles sur le marché français sont nombreux.

Disponibles au sein des officines, ces DM stérilisés par l'intermédiaire de rayons gamma, ne sont pas pris en charge par l'assurance maladie.

Parmi les plus vendus, on retrouve notamment :

- les produits MELECTIS<sup>®</sup> distribués par le laboratoire Méli pharm (MELECTIS<sup>®</sup> gel cicatrisant antibactérien, MELECTIS D<sup>®</sup>, MELECTIS G<sup>®</sup>, MELECTIS baume protecteur<sup>®</sup>, MELECTIS liniment oléocalcaire protecteur<sup>®</sup>).

Ces produits renferment un assemblage de miels monofloraux dont la composition exacte n'est pas communiquée.

- les produits REVAMIL<sup>®</sup> distribués par le laboratoire Mélibiotech (REVAMIL monodose<sup>®</sup>, REVAMIL miel médical<sup>®</sup>, REVAMIL pansements<sup>®</sup>, REVAMIL baume<sup>®</sup>).

Le miel utilisé dans ces produits est issu de ruches situées dans des serres aux Pays-Bas. Cela présente l'avantage de pouvoir sélectionner les fleurs butinées et d'ainsi réduire les variations de composition d'une production à l'autre.

Ce système de production contrôlé assure l'obtention d'un miel reproductible (van Eijk et Groenhart, 2006).

- les produits Medihoney<sup>®</sup> distribués par le laboratoire Derma Sciences (MEDIHONEY gel<sup>®</sup>, MEDIHONEY miel médical antibactérien<sup>®</sup>, MEDIHONEY gel sheet<sup>®</sup>, pansement Apinate MEDIHONEY<sup>®</sup>, pansement tulle MEDIHONEY<sup>®</sup>, pansement MEDIHONEY HCS (hydrogel colloïdal sheet)<sup>®</sup>, mèches Apinate MEDIHONEY<sup>®</sup>). Le miel utilisé dans les produits MEDIHONEY est du miel de Manuka.

## 1.9 Effets indésirables et contre-indications

### 1.9.1 Effets indésirables

À ce jour, peu d'effets indésirables ont été recensés avec le miel.

Si le miel est dans de nombreux cas décrit comme apaisant et non irritant (Tomczak, 2010), de nombreuses études rapportent cependant des douleurs à type de picotements voire des sensations de brûlures chez environ 5% des patients (Simon, 2009), mais celles-ci s'atténueraient 30 minutes à 1 heure après la pose (Bangroo, 2005).



Ces sensations désagréables pourraient s'expliquer par la forte osmolarité du miel ou encore par son pH acide. Pour surmonter cet effet indésirable, il est possible d'utiliser des antalgiques (Bangroo, 2005). Certains auteurs préconiseraient même de contourner ce problème en utilisant une crème anesthésiante stérile sur la surface de la plaie. Si, au premier abord l'idée semble ingénieuse, il s'avère que les anesthésiques locaux provoquent une vasoconstriction conduisant alors à une moins bonne perfusion de la plaie.

Deux cas de réactions atopiques ont également été recensés chez des patients ayant un terrain prédisposant (Simon, 2009).

Bien que très peu de cas soient rapportés, le miel serait également susceptible de provoquer des cas d'hyperbourgeonnement de la plaie. Afin de palier à cela, il est recommandé de cesser pendant quelques jours l'application de miel sur la plaie et d'utiliser des dermocorticoïdes jusqu'à l'épidermisation de la plaie (Lechaux, 2013) (Melibiotech).

Enfin, on peut également évoquer la faible probabilité que certains miels contiennent des spores de *Clostridium botulinum* responsable du botulisme. Pour éviter ce risque, effectuer une stérilisation grâce à une irradiation gamma permet d'inactiver les spores de ce pathogène (Simon, 2009).

### 1.9.2 Contre-indications

Le miel ne doit pas être utilisé chez les rares personnes qui y montreraient une hypersensibilité voire des réactions allergiques. Outre cette contre-indication, l'utilisation de miel ne connaît aucune restriction d'âge et il peut être appliqué aussi bien sur la peau infectée que sur les muqueuses (MELECTIS, 2016).



## 2 Chitine et chitosane

---

### 2.1 Historique

La chitine a été isolée pour la première fois à partir de la paroi cellulaire d'un champignon en 1811 par le chimiste français Henri Braconnot. Il appela ce composé « fungine ».

Douze ans plus tard, Auguste Odier extrait un résidu insoluble similaire à partir de l'exosquelette d'arthropode et le nomme chitine, du grec « chiton » signifiant « tunique ou enveloppe », par analogie avec la coque protectrice des arthropodes (Crini et al., 2009).

En 1859, Charles Rouget produit une chitine modifiée obtenue par traitement avec de la potasse à chaud : le chitosane (ou chitosan).

Si la découverte revient incontestablement à Charles Rouget, c'est au chimiste allemand Félix Hoppe-Seyler que l'on doit le nom de chitosane.

Tombés dans l'oubli, la chitine et le chitosane ne refont surface qu'à partir des années 1970. Croulant sous les déchets des conserveries de crustacés, certains gouvernements décident de valoriser ces déchets en lançant des programmes de recherches.

Les diverses découvertes ont suscité un regain d'intérêt pour ces biopolymères, dotés d'importantes propriétés pertinentes dans de nombreux domaines.

### 2.2 Présentation

La chitine est le polysaccharide naturel le plus abondant après la cellulose.

Ce biopolymère présent au niveau de l'exosquelette de certains invertébrés comme les crustacés, les mollusques et les insectes, est également retrouvé dans la paroi cellulaire de champignons et d'algues. La chitine joue un rôle architectural essentiel chez ces organismes en assurant le soutien de leurs téguments.

Fortement hydrophobe (Dutta et al., 2004), insoluble dans l'eau ainsi que dans la plupart des solvants organiques, la chitine est peu utilisée dans le domaine biomédical en tant que telle du fait de la difficulté de sa mise en solution.

Son principal dérivé, le chitosane, obtenu par désacétylation partielle en milieu basique l'est beaucoup plus (figure 30). En effet, contrairement à la chitine, le chitosane est soluble en milieu aqueux acide grâce à la protonation de ses fonctions amines (Crini et al., 2009).

De plus, il est intéressant de noter que la chitine et le chitosane, grâce à la présence des groupements hydroxyle et amine, peuvent être modifiés de façon à obtenir des systèmes amphiphiles (Crini et al., 2009).

Les systèmes amphiphiles, qui possèdent à la fois un groupement hydrophile et un groupement hydrophobe, s'organisent en structures définies en milieu aqueux.

Cette propriété, dans le cadre de la prise en charge des plaies, permet notamment l'élaboration d'hydrogels, aux vertus humidifiantes et absorbantes.

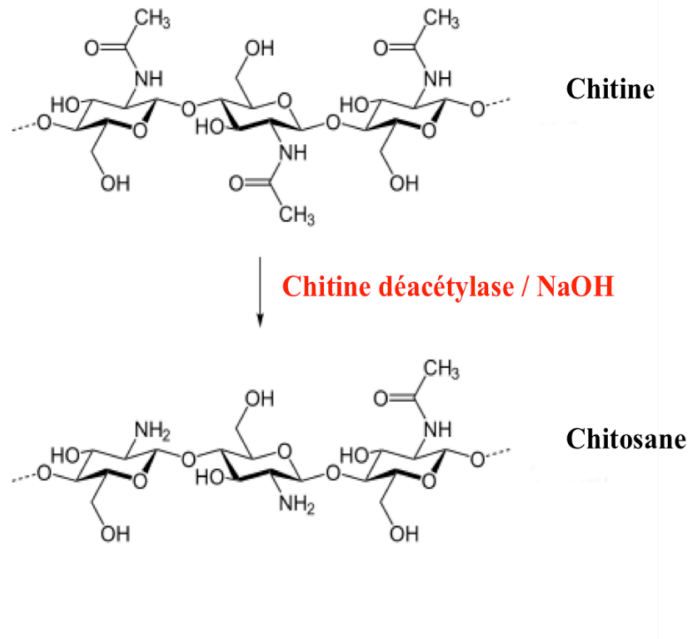


Figure 30 : Synthèse du chitosane à partir de la chitine

*Le chitosane est produit par désacétylation partielle de la chitine par réaction enzymatique (chitine désacétylase) ou chimique (NaOH).*

(Extrait du mémoire « contribution au développement d'un pansement à base de chitosane pour le traitement des plaies chroniques », Tchemtchoua Tateu, 2012)

La nomenclature officielle ne permettant pas de différencier la chitine du chitosane, la frontière entre les deux est définie par le degré d'acétylation (DA).

Le DA correspond à la quantité de groupements acétylés résiduels après la N-désacétylation opérée lors de la préparation du chitosane.

Si le DA est supérieur à 50%, on qualifie le composé de chitine, et au contraire, s'il est inférieur à 50%, on parle de chitosane (Crini et al., 2009).

Les structures de la chitine, du chitosane et de la cellulose sont très proches (figure 31). La seule différence réside dans la nature du groupement C2 sur le cycle glucosidique, qui est un acétamide pour la chitine, une amine pour le chitosane et un hydroxyle pour la cellulose.



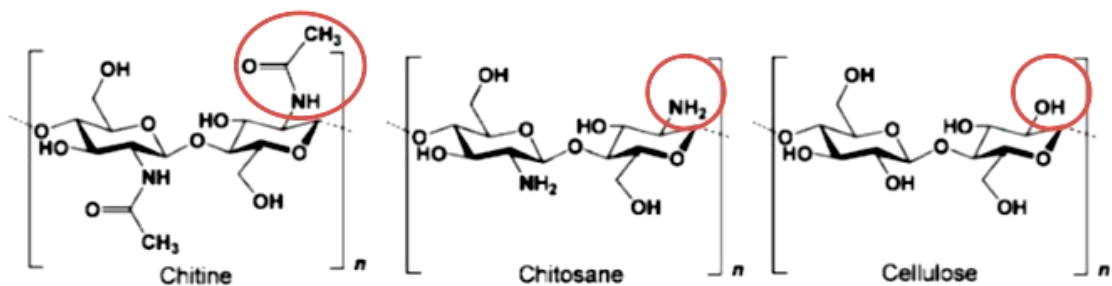


Figure 31: Structure de la chitine, du chitosane et de la cellulose  
 (<http://www.societechimiquedefrance.fr/chitine-et-chitosane>)

La présence de groupements hydroxyles et amines confère au chitosane sa forte réactivité, rendant ce matériau versatile et facile à modifier (Crini et *al.*, 2009).

Il peut être appliqué sous de nombreuses formes comme des gels, des membranes, des nanofibres, des nanofibrilles, des billes, des microparticules, des nanoparticules, des matrices ou encore des éponges (Shakeel et Saiqa, 2016).

Le chitosane se distingue par son caractère polycationique contrairement aux autres polysaccharides et polymères naturels, en général anioniques (Crini et *al.*, 2009). L'abondance des charges positives du chitosane s'explique par la transformation de ses motifs  $\text{NH}_2$  en motifs  $\text{NH}_3^+$  en milieu acide.

### 2.3 Préparation de la chitine et du chitosane

Comme évoqué précédemment, la chitine et le chitosane peuvent être obtenus à partir de matériaux d'origine animale ou de biomasses fongiques.

Le coût plus important et la difficulté à séparer la chitine du reste des glucanes présents dans la paroi des champignons, amènent généralement à favoriser les sources d'origine animale pour la préparation de la chitine et du chitosane (Crini et *al.*, 2009).

L'extraction de la chitine est obtenue après plusieurs étapes (figure 32) (Crini et *al.*, 2009).

Tout d'abord, les carapaces de crustacés et de mollusques récoltées sont broyées.

**Étape 1** : Un traitement par hydroxyde de sodium, NaOH, est opéré afin d'extraire les protéines ainsi que certains colorants naturels.



**Étape 2** : Une fois cette première étape terminée, il faut procéder à la déminéralisation qui consiste à extraire par dissolution le carbonate de calcium présent dans la carapace, grâce à l'ajout d'acide chlorhydrique, HCl.

À la suite de ces deux étapes et après séchage est obtenu un résidu : la chitine brute.

**Étape 3** : Une décoloration peut s'avérer nécessaire afin d'éliminer les pigments encore présents. Des agents oxydants, tels que le permanganate de potassium,  $\text{KMnO}_4$ , l'hypochlorite de sodium, NaOCl ou encore le peroxyde d'hydrogène,  $\text{H}_2\text{O}_2$ , peuvent être utilisés.

**Étape 4** : Une fois la chitine extraite et décolorée, il suffit de procéder à une désacétylation afin d'obtenir le chitosane. Celle-ci peut être effectuée en milieu basique, à l'aide de NaOH ou par voie enzymatique, à l'aide de chitinases.

Le chitosane obtenu à la suite de ces différentes étapes se présente sous la forme d'une poudre blanche inodore, sans saveur, pratiquement insoluble dans l'eau et les solvants organiques (Sauvage, 2015).

Les différentes étapes influencent grandement la qualité du produit obtenu.

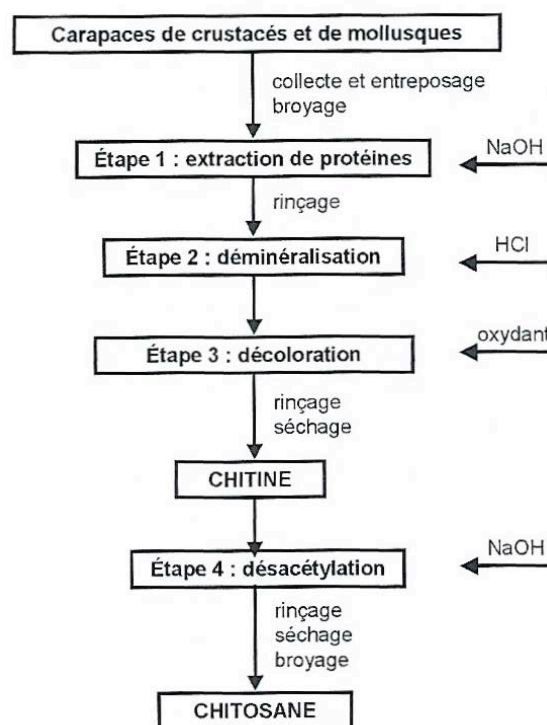


Figure 32: Méthode de production de la chitine et du chitosane d'après Onsoyen et Skaugrud

(Crini et al., 2009)



## 2.4 Propriétés

Les polymères ont aujourd'hui un rôle majeur à jouer dans le domaine biomédical.

Les avancées technologiques ont permis d'exploiter au mieux les propriétés offertes par les polymères dont la chitine et le chitosane font partie. Nombreuses et variées, seules les propriétés ayant un intérêt dans la cicatrisation des plaies seront abordées ci-dessous.

### ♦ **Propriétés physiques et chimiques** (Crini et al., 2009) (Shakeel et Saiqa, 2016) :

- **Structure D-glucosamine** : la structure similaire du chitosane avec les GAGs fait de lui un matériau attractif dans la cicatrisation des plaies.
- **Caractère polycationique** : à un pH < 6, le chitosane réagit facilement avec des molécules chargées négativement comme les protéines ou les polysaccharides anioniques, les acides gras et les phospholipides.

Il peut également sélectivement chélater des ions métalliques comme le fer, le cadmium, le magnésium ou le cuivre.

Nous reviendrons par la suite sur cette capacité à interagir avec les molécules anioniques ainsi que certains ions métalliques ; elle présente un rôle clé dans la cicatrisation des plaies.

- **Propriétés d'encapsulation** : le chitosane a la capacité d'encapsuler les principes actifs ; ils pourront être libérés progressivement et de façon contrôlée une fois la cible physiologique atteinte. Cette aptitude des chitosanes, fondamentale, sera développée ci-dessous.

### ♦ **Propriétés biologiques** (Dutta et al., 2004) (Crini et al., 2009) (Kean et Thanou, 2010) (Patrulea et al., 2015) (Shakeel et Saiqa, 2016) :

- **Biodégradable** : le chitosane est métabolisé par un certain nombre d'enzymes humaines comme le lysozyme, le rendant ainsi biodégradable. Naturellement dégradés par les enzymes du corps humain, les films de chitosane n'ont pas besoin d'être retirés. Cette avancée majeure permet de préserver les tissus de tout dommage provoqué par le retrait de pansements.
- **Non-toxique** : le chitosane est aujourd'hui largement reconnu pour son absence de toxicité. De nombreuses études se sont multipliées à ce sujet. Par exemple, Patrulea et al., décrivaient en 2015 qu'*in vivo*, l'application de chitosane sur des lapins et des cochons d'Inde n'a pas montré d'effets toxiques et n'a provoqué aucune irritation locale.



Aux États-Unis, l'agence autorisant la commercialisation des médicaments, la « Food and Drug Administration » (FDA), a autorisé l'utilisation du chitosane dans les pansements. Cependant, il est à souligner que les modifications du chitosane rendraient ses dérivés plus ou moins toxiques ; une étude de toxicité n'est donc pas à négliger.

- Bio-compatible : la présence de chitosane dans l'organisme entraîne peu de réactions inflammatoires et peu de phénomènes de rejet.
- Bioactif : il possède des activités antimicrobienne et antifongique qui seront développées par la suite.
- Absorption : les propriétés de rétention d'eau du chitosane permettent le maintien d'un milieu humide, favorable à la cicatrisation.

Outre ces propriétés, le chitosane possède également un caractère anti-thrombogénique et hémostatique, profitable à la cicatrisation cutanée.

## 2.5 Polymères utilisés dans la guérison des plaies

La difficulté de la mise en solution de la chitine représente un véritable frein pour son utilisation dans le domaine médical. Cependant, elle présente l'avantage de posséder de nombreux groupements réactifs ce qui rend facile la modification de sa structure. Ainsi, une large famille de dérivés de la chitine peut être produite après des modifications chimiques. Son dérivé le plus simple, le chitosane, est lui aussi peu utilisé en tant que tel, sa solubilité se limitant à quelques solutions acides diluées comme nous l'avons vu précédemment (Crini et *al.*, 2009).

Néanmoins, de nombreux chitosanes modifiés sont utilisés dans la cicatrisation des plaies. Ils possèdent des propriétés plus intéressantes que le chitosane pur et font d'ailleurs l'objet de nombreuses investigations.

La modification chimique du chitosane se définit comme étant « une chimie de fonctionnalisation relativement simple qui ne change ni le squelette des chaînes macromoléculaires ni les nombreuses propriétés du chitosane » (Crini et *al.*, 2009).

En ce qui concerne la cicatrisation des plaies, les modifications chimiques peuvent permettre par exemple d'accroître la solubilité, les propriétés anti-bactériennes, l'absorption des liquides sans affecter la biocompatibilité ou la biodégradabilité.

Différentes méthodes existent afin de procéder à la confection de dérivés du chitosane.

La principale méthode utilisée reste le greffage par copolymérisation. Cela permet de lier des dérivés fonctionnels, nommés greffons, sur le squelette du chitosane.

Parmi les dérivés très utilisés dans la cicatrisation des plaies on peut citer le triméthyl-chitosan (TMC), le N,N-carboxyméthyl chitosane (CMC) ou encore le O-carboxyméthyl-N,N,N-triméthyl chitosane (CMTMC) (Patrulea et *al.*, 2015).

Comme nous l'avons mentionné dans la partie précédente, le chitosane a des propriétés d'encapsulation. Cette aptitude du chitosane peut être mise au service de la guérison des plaies.

En effet, de nombreux facteurs de croissance présentent un intérêt dans la guérison des plaies : l'EGF, le TGF $\beta$ , le PDGF, le VEGF comme nous l'avons vu précédemment, mais également le « basic fibroblast growth factor » (bFGF) ou le « fibroblast growth factor-2 » (FGF-2) (Patrulea et *al.*, 2015). Les hydrogels sont particulièrement adaptés au transport et à la libération de ces molécules thérapeutiques (Crini et *al.*, 2009).

Alemdaroğlu et *al.* (2006) se sont intéressés à l'encapsulation et ont développé un gel de chitosane capable de libérer localement de l'EGF. Appliqué quotidiennement pendant 14 jours sur la peau de rats brûlés au second degré, le gel a permis une cicatrisation plus rapide que chez les rats traités avec un gel de chitosane sans facteur de croissance (Patrulea et *al.*, 2015).

Judith et *al.* (2010) ont quant à eux évalué les effets de l'ajout de PDGF au sein d'un gel de collagène-chitosane sur les plaies de rats. Les résultats *in vivo* ont montré que l'ajout de PDGF avait permis l'augmentation de la migration et de la prolifération des fibroblastes (Patrulea et *al.*, 2015).

## 2.6 Mode d'action

Si le mode d'action précis du chitosane et de ses dérivés est toujours débattu, il semblerait cependant qu'ils agissent dans toutes les étapes de la guérison des plaies.

### ■ Action antibactérienne

Dans le cadre de la guérison d'une plaie, comme nous l'avons déjà évoqué, la présence de bactéries au sein de cette dernière peut retarder la cicatrisation.



Le chitosane est un agent antimicrobien potentiel du fait de sa nature cationique. Il est capable d'inhiber de nombreuses variétés de bactéries, de champignons ou encore de virus. Concernant les bactéries, il semblerait cependant que son activité antimicrobienne soit plus importante sur les bactéries Gram + que sur les bactéries Gram – (Rabea et *al.*, 2003) (Zhou et *al.*, 2016) (Dai et *al.*, 2011). Cependant, certains auteurs sont plus mitigés, comme Chung et *al.*, concernant cette hypothèse. En effet, leurs travaux de recherche les ont conduit à conclure que les bactéries Gram – étaient plus hydrophiles que les bactéries Gram +, ce qui les rendrait alors plus sensibles au chitosane (Chung et *al.*, 2004).

Décrit dans les études comme étant tantôt bactéricide tantôt bactériostatique, il semblerait cependant que le chitosane soit aujourd'hui plutôt reconnu pour être bactériostatique (Harmouch, 2014).

L'activité antibactérienne du chitosane pourrait s'expliquer par sa capacité à interagir avec la membrane externe des bactéries. En effet, une interaction serait susceptible d'avoir lieu entre les charges positives du chitosane, liées à sa nature polycationique, et les composés anioniques chargés négativement à la surface de la bactérie. Cette interaction tendrait à augmenter la perméabilité de la membrane bactérienne et provoquerait la fuite des composants intracellulaires (Rabea et *al.*, 2003) (Zhou et *al.*, 2016).

Le chitosane pourrait également fixer certains ions métalliques, les rendant ainsi indisponibles pour les bactéries ou les membranes des cellules, contribuant ainsi à l'inhibition de la croissance bactérienne (Crini et *al.*, 2009) (Rabea et *al.*, 2003).

Certains facteurs, comme le DA, le poids moléculaire ou le pH, seraient capables d'influencer l'activité antibactérienne.

Concernant le DA, certaines études suggèrent que plus il est bas et plus l'activité antimicrobienne est importante.

Dans le cas du pH, plus il est bas et plus les interactions ioniques sont importantes.

La protonation des fonctions amines provoque une cascade de réactions chimiques conduisant alors à l'hydrolyse des peptidoglycanes présents dans la membrane des bactéries (Goy et *al.*, 2016).

## ■ **Action sur la phase vasculaire et inflammatoire**

Le chitosane entre en action dès la première phase du processus de guérison des plaies.

Grâce à ses propriétés hémostatiques, il aide à la formation de caillots sanguins. Des études ont montré qu'il existait une interaction du chitosane avec les globules rouges, ce qui pourrait provoquer l'activation de la cascade de coagulation intrinsèque (Muzzarelli, 2009).

Son action sur la phase inflammatoire implique quant à elle, les cytokines, les macrophages et les polymorphonucléaires neutrophiles (PMN).

♦ **Effet du chitosane sur les cytokines** (Chou et *al.*, 2003) (Jayakumar et *al.*, 2011) (Shakeel et Saiqa, 2016)

Le chitosane serait capable de réguler la sécrétion de certains médiateurs inflammatoires.

Il semblerait qu'il soit capable d'exercer son action anti-inflammatoire en inhibant la PGE<sub>2</sub> et l'expression de la COX-2 mais également en modulant la production de certaines cytokines. En effet, certains auteurs rapportent que le chitosane est capable d'inhiber le TFN- $\alpha$  et l'IL-1 $\beta$ , des cytokines pro-inflammatoires.

Le chitosane serait également capable d'augmenter l'expression de l'IL-10, une cytokine anti-inflammatoire, renforçant alors son activité anti-inflammatoire.

Appliqué comme agent topique sur les plaies ouvertes, son activité anti-inflammatoire ferait également de lui un excellent antalgique (Shakeel et Saiqa, 2016).

♦ **Effet du chitosane sur les macrophages** (Ueno et *al.*, 2001) (Muzzarelli, 2009)

Comme nous l'avons vu précédemment (figure 28 et 29), le chitosane est composé d'unités glucosamine (GlcN) et N-acétyl-glucosamine (GlcNAc).

Il semblerait que les macrophages expriment des récepteurs pour les glycoprotéines GlcNAc. En se fixant aux récepteurs des macrophages, le chitosane pourrait induire leur activation. Ainsi, cela permettrait la libération de différents médiateurs biologiques, comme des facteurs de croissance, utiles à la production de la MEC, mais favoriserait également la phagocytose des corps étrangers.

En médecine vétérinaire, il a été constaté que le chitosane améliorerait la phagocytose, la production d'IL-1, de TGF $\beta$ 1 et de PDGF. Ces résultats soulignent l'implication du chitosane dans la réponse inflammatoire du corps aux infections (IL-1 et TGF $\beta$ 1) ainsi que dans l'angiogenèse (PDGF).



♦ **Effet du chitosane sur les PMN** (Ueno et *al.*, 2001) (Muzzarelli, 2009) (Patrulea et *al.*, 2015)

Il semblerait que le chitosane soit capable d'accélérer la migration des PMN vers la plaie.

Le chitosane augmenterait la production d'ostéopontine (OPN). Cette protéine d'adhérence du tissu osseux exprimée notamment dans les macrophages, intervient dans le recrutement local des leucocytes.

Des études suggèrent que l'OPN pourrait être synthétisée par les PMN migrants et jouerait alors un rôle significatif dans la guérison des plaies.

Le chitosane serait également capable d'activer la voie du complément, provoquant alors l'activation des PMN. Le chitosane serait donc capable d'améliorer les fonctions des PMN en augmentant l'activité du complément.

### ■ **Action sur la phase de réparation tissulaire**

Le chitosane agit sur cette phase en stimulant la formation d'un tissu de granulation adéquat accompagné d'une angiogenèse et du dépôt de fibres de collagène (Muzzarelli, 2009).

#### ♦ **Effet du chitosane sur l'angiogenèse**

Bien que ce sujet soit assez peu documenté, il semblerait que le chitosane soit capable d'augmenter l'angiogenèse. Cela pourrait s'expliquer par l'implication d'intégrines, de cytokines et de facteurs de croissance.

♦ **Effet du chitosane sur les fibroblastes** (Ueno et *al.*, 2001) (Muzzarelli, 2009) (Crini et *al.*, 2009)

Le chitosane pourrait stimuler la prolifération des fibroblastes ainsi que la production de MEC, directement ou indirectement.

Ueno et *al.*, se sont intéressés aux effets du chitosane sur la prolifération des fibroblastes de souris (L929) *in vitro*. Leurs observations ont permis de conclure que, *in vitro*, la présence de chitosane ne provoque pas la prolifération des fibroblastes, ni la production de MEC.



Cela suggère donc que, *in vivo*, le chitosane n'agit pas directement sur la production de MEC et sur la prolifération des fibroblastes ; le chitosane agit par l'intermédiaire de facteurs de croissance comme le TGFβ1 et le PDGF.

Certains auteurs suggèrent que le chitosane a un rôle à jouer dans la contraction des plaies ainsi que dans la réépithélialisation (Jayakumar et al., 2011).

## 2.7 Applications cliniques

Comme nous l'avons abordé précédemment, la chitine est peu utilisée en tant que telle dans la guérison des plaies. Le chitosane, et plus particulièrement certains de ses dérivés, présentent quant à eux un intérêt notable dans ce domaine d'application.

Comme nous l'avons vu précédemment également, il existe de nombreux dérivés des fibres de chitosane, souvent plus efficaces que le chitosane lui-même dans la cicatrisation des plaies.

Si les dérivés du chitosane utilisés sont aujourd'hui innombrables et les études les concernant multiples, seuls les résultats de certaines d'entre elles seront rapportés de façon non exhaustive dans cette partie.

En 2011, Dai et al., ont étudié l'efficacité d'un pansement à base d'acétate de chitosane, HemCon®, sur des souris brûlées au troisième degré dont les plaies étaient infectées par des bactéries bioluminescentes : *Pseudomonas aeruginosa* et *Pseudomonas mirabilis*.

Les souris ont été réparties dans trois groupes : le premier groupe n'a reçu aucun traitement, le deuxième groupe a été traité par des pansements à l'argent et le troisième groupe par le pansement HemCon®. L'étude s'est étendue sur trois jours.

Concernant les brûlures infectées par *Pseudomonas aeruginosa*, les résultats de l'étude sont recensés dans le tableau 6.

Une multiplication croissante des bactéries a logiquement été constatée au cours des trois jours dans le groupe n'ayant reçu aucun traitement.

Les pansements à l'argent ont, quant à eux, permis une diminution temporaire de la charge bactérienne. Cependant, les limites du pouvoir antibactérien de l'argent ont rapidement été atteintes, révélées par une augmentation du signal lumineux témoignant d'une multiplication bactérienne.

Au contraire, les pansements HemCon® ont rapidement permis l'éradication des bactéries dans la plaie.

Des résultats similaires ont été obtenus pour les infections à *Pseudomonas mirabilis*.



Les résultats de cette étude amènent donc à penser que les pansements à base d'acétate de chitosane permettent un contrôle de la croissance bactérienne dans les brûlures et préviennent l'apparition d'infections systémiques.

Souris	Groupe 1 (n = 15)	Groupe 2 (n = 11)	Groupe 3 (n = 15)
Traitement reçu	/	Pansement à l'argent	Pansement d'acétate de chitosane : HemCon®
Evolution de la charge bactérienne	Jour 0-Jour 3 : augmentation	Jour 1 : diminution Jour 2-Jour 3 : augmentation	Jour 1-Jour 3 : diminution
Taux de survie	13,3%	27,3%	73,3%

Tableau 6 : Résultats de l'étude menée sur des souris infectées par *Pseudomonas aeruginosa*

Récemment, Zhou et *al.* (2016) se sont intéressés à l'utilisation de fibres triméthyl-chitosane (TMC) dans la cicatrisation des plaies.

Le TMC est un dérivé du chitosane obtenu par un processus de quaternisation. Les fibres d'ammonium quaternaire de chitosane ont l'avantage de conserver les propriétés du chitosane évoquées précédemment, tout en améliorant l'activité antimicrobienne ainsi que la capacité d'absorption des liquides.

Zhou et *al.* (2016) ont mené une étude sur les plaies de six rats mâles en comparant l'utilisation de fibres de chitosane à celle de fibres de TMC pendant douze jours.

Après une anesthésie, les chercheurs ont incisé le dos des rats sur une surface de 1,5 x 1,5cm. La plaie de la moitié des rats a été recouverte par des fibres de TMC, tandis que dans le groupe contrôle, les plaies ont été recouvertes de façon stérile par des fibres de chitosane.

Sans équivoque, les résultats de l'étude rapportent que la cicatrisation est améliorée avec les fibres de TMC (figure 31).

La contraction de la plaie a été plus rapide avec les fibres de TMC qu'avec les fibres de chitosane.

En effet, au bout de six jours, la taille de la plaie était réduite de 58% dans le groupe traité par les fibres de TMC contre 30% dans le groupe de contrôle.

De plus, les plaies plus humides et plus nettes, montraient moins de signes d'inflammation et d'infection dans le groupe traité par les fibres de TMC.

D'un point de vue histologique, la formation d'épithélium a été significativement augmentée, une néovascularisation s'est mise en place et un tissu de granulation riche en fibroblastes est apparu dans ce groupe.

Cette étude met en exergue le potentiel des fibres de TMC.

En améliorant l'activité antibactérienne, la contraction des plaies et la réépithélialisation (tout en restant non-toxiques), les fibres de TMC pourraient potentiellement être intégrées aux pansements dans les années à venir.

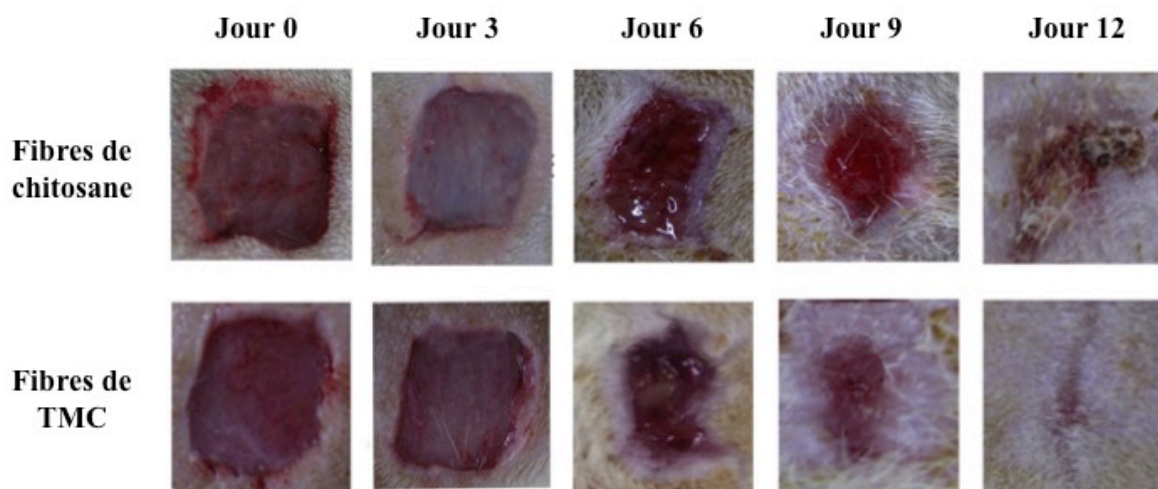


Figure 33: Cicatrisation au jour 0, 3, 6, 9 et 12 après un traitement par fibres de chitosane et fibres de TMC

(Adapté de Zhou et *al.*, 2016)

Bien que peu nombreuses, des études humaines ont également été réalisées.

Stone et *al.*, ont mené une étude sur 20 patients pendant sept mois, cherchant à comparer les bénéfices obtenus par l'application de pansements à base de chitosane à ceux constatés par l'application de pansements plus conventionnels.

La moitié des patients a reçu des pansements à base d'alginate (Kaltostat®) ou possédant une interface siliconée (Mepitel®), constituant ainsi le groupe de contrôle, tandis que les autres ont reçu des pansements à base de chitosane.

Cette étude a permis d'abord de constater que le retrait des pansements à base de chitosane était moins douloureux pour les patients que celui de Mepitel® ou Kaltostat®.



De plus, au onzième jour, le derme des patients traités par chitosane s'est montré plus riche en GAG, en capillaires et en terminaisons nerveuses que celui du groupe de contrôle.

Si ces résultats semblent encourageants, une autre étude menée sur 35 patients brûlés a montré un temps de guérison équivalent entre les pansements au chitosane et le Kaltostat® (Patrulea et al., 2015).

## 2.8 Effets indésirables et contre-indications

Les effets indésirables du chitosane par voie cutanée sont peu documentés.

Toutefois, on peut énumérer quelques situations dans lesquelles la prudence est de mise :

- En cas d'allergie aux crustacés : il convient d'éviter l'application de chitosane du fait de son origine (Sauvage, 2015).
- En cas de prise d'anticoagulants : le chitosane présentant des propriétés anti-thrombogéniques, une vigilance s'impose bien que le passage systémique du chitosane soit peu important lors d'une application locale.

Chez le rat, on rapporte une dose létale cutanée à des doses supérieures à 25 000 mg/kg.



## Conclusion

---

Aujourd'hui le recours à ces thérapies alternatives reste encore modéré.

Les sangsues, les larves et le miel ont du mal à occuper une place de choix dans l'arsenal thérapeutique des médecins. Souvent utilisé en dernier recours après l'échec de traitements conventionnels « l'animal médicament » a pourtant fait ses preuves.

Malgré tout, il suscite des réticences et s'éloigne de l'idée préétablie que l'on se fait d'un produit destiné à être utilisé à des fins thérapeutiques.

De plus, l'hirudothérapie, la larvothérapie et l'apithérapie se heurtent à des difficultés non négligeables que sont l'approvisionnement, la conservation, la reproductibilité ou encore l'acceptation du traitement aussi bien du côté des patients que des soignants.

Compte tenu de la possibilité de l'intégrer aux pansements de manière imperceptible, le chitosane ne rencontre pas les difficultés citées ci-dessus et se distingue des autres thérapies. Face à ses congénères, le chitosane présente l'avantage de pouvoir prendre plusieurs formes. La forme hydrogel s'avère particulièrement intéressante en raison du fait qu'elle n'a pas besoin d'être remplacée au cours de la cicatrisation contrairement aux pansements traditionnels, ce qui implique un risque infectieux, des douleurs, ainsi qu'une altération du tissu en formation (Dupasquier, 2011).

Si l'animal peut être assimilé à un médicament, il peut également être thérapeute comme c'est le cas en zoothérapie. Cette méthode, basée sur les liens naturels que l'Homme a tissé avec l'animal depuis les temps les plus anciens, « s'exerce sous forme individuelle ou en petit groupe à l'aide d'un animal familier, consciencieusement sélectionné et éduqué, sous la responsabilité d'un professionnel qualifié auprès de personnes chez qui l'on cherche à éveiller des réactions visant à maintenir ou à améliorer son potentiel cognitif, physique, psychosocial ou affectif » (Institut français de zoothérapie, 2017). Si la zoothérapie ne bénéficie pas aujourd'hui d'une reconnaissance du corps médical et scientifique, elle n'en est pas moins dénuée d'intérêts. On peut par exemple citer la delphinothérapie, mise à profit dans l'autisme, qui repose sur des mécanismes d'interaction non-verbale entre l'Homme et le dauphin. En effet, le dauphin serait capable d'une part de percevoir les émotions humaines et d'autre part l'émission d'ultrasons serait susceptible d'augmenter la synchronicité entre les deux hémisphères du cerveau (Gaunet, 2003).

Face à l'intérêt croissant du public pour les remèdes plus « naturels », les thérapies impliquant le monde animal pourraient s'avérer intéressantes. Si la nature regorge de remèdes (mais également de redoutables poisons !) dont nous avons aujourd'hui pris connaissance, elle nous réserve encore bien des surprises.

Et comme le disait si bien Léonard de Vinci « Va prendre tes leçons dans la nature, c'est là qu'est notre futur ! ».

## Références bibliographiques

---

AERTS et *al.*

*Soins de plaies*

Bruxelles, Belgique : De Boeck, 2003. p. 18.

AGACHE P., MAIBACH H.I.

*Physiologie de la peau et explorations fonctionnelles cutanées.*

Cachan : Ed. médicales internationales, 2000. 706 p.

ALVAREZ-SUAREZ J.M et *al.*

Honey as a source of dietary antioxidants : structures, bioavailability and evidence of protective effects against human chronic diseases.

*Current medicinal chemistry*, 2013, vol.20, n°5, p.621-638.

ASCENZI P. et *al.*

Proteinase inhibitors from the European medicinal leech *Hirudo medicinalis* : structural, functional and biomedical aspects.

*Molecular Aspects of Medicine*, vol.16, 1995. p.215-313.

ATALA A. et *al.*

*Principles of regenerative medicine.*

Amsterdam, Pays-Bas, 2011.

ATROTT J. et HENLE T.

Methylglyoxal in Manuka Honey – Correlation with antibacterial properties.

*Czech journal of food sciences*, 2009, vol.27, p.163-165.

BANGROO A.K et *al.*

Honey dressing in pediatric burns

*Journal of indian association of pediatric surgeons* vol.10, 2005, p.172-175.

BARITAUD S. et *al.*,

Les principales plaies susceptibles d'être traitées par le miel

*Actualités pharmaceutiques*, 2013, n°531, p.32-35.



BATES P.

*External parasites of small ruminants : a practical guide to their prevention and control.*

Royaume-Uni : CABI, 2012, p.85-87.

BATTU V., BRISCHOUX S.

Les plaies : définitions et étiologie.

*Actualités pharmaceutiques*, 2012, n°518, p. 14-19.

BEXFIELD A. et al.

Amino acid derivatives from *Lucilia sericata* excretions/secretions may contribute to the beneficial effects of maggots therapy via increased angiogenesis.

*British journal of dermatology*, 2010, vol.162, p.554-562.

BOGDANOV S., BLUMER P.

Propriétés antibiotiques naturelles du miel.

*Revue suisse d'apiculture*, vol.98, n°3, p.107-114.

CANDEIAS N., CARDOSO M.

Management of diabetic foot ulceration with honey.

*Wounds UK*, 2011, vol.7, n°3, p.84-86.

CARTIER E., COMBEMALE P.

Utilisation des larves de *Lucilia sericata* pour la détersion des plaies chroniques.

*Lettres à la rédaction*, 2008, p.685-688.

CAZANDER G. et al.

Maggot excretions and secretions reduce complement activation.

*Abstracts/immunobiology 217*, 2012, p.1184.

CAZANDER G. et al.

Multiple actions of *Lucilia sericata* larvae in hard-to-heal wounds.

*Bioessays 35 WILEY Periodicals*, 2013.



CHORUS LIMOGES.

Des sangsues pour soigner.

*Chorus Limoges*, 2013, n°103. p.13.

CHOU T.C et *al.*

Chitosan inhibits prostaglandin E2 formation and cyclooxygenase-2 induction in lipopolysaccharide-treated RAW 264.7 macrophages.

*Biochemical and biophysical research communications*, 2003, vol.308, p.403-407.

COLLÈGE DES ENSEIGNANTS EN DERMATOLOGIE DE FRANCE, SOCIÉTÉ FRANÇAISE DE DERMATOLOGIE ET DE PATHOLOGIE SEXUELLEMENT TRANSMISSIBLE, ASSOCIATION DES DERMATOLOGISTES FRANCOPHONES.

Comprendre la peau.

*Annales de dermatologie et de vénéréologie*, Paris: Masson, 2005, vol.132. p. 8S5-8S65.

COUQUET Y. et *al.*

Les propriétés antibactériennes et cicatrisantes du miel.

*Actualités pharmaceutiques*, 2013, n°531, p.22-25.

CRINI G. et *al.*

*Chitine et chitosane, du biopolymère à l'application.*

Presses universitaires de Franche-Comté, 2009, 306 p.

DAI T. et *al.*

Chitosan preparations for wounds and burns : antimicrobial and wound-healing effects.

*Expert review of anti-infective therapy*, 2011, vol.9, n°7, p.857-879.

DESCOTTES B.

Cicatrisation par le miel, l'expérience de 25 années.

*Phytothérapie*, 2009, vol.7, n°2, p.112-116.

DESMOULIERE A. et *al.*

Apoptosis mediates the decrease in cellularity during the transition between granulation tissue and scar.

*American Journal of Pathology*, 1995, vol.146. 12 p.



DESMOULIERE A. et *al.*

Les propriétés antibactériennes et cicatrisantes du miel.

*Actualités pharmaceutiques*, 2013, n°531, p.22-25.

DUPASQUIER F.

Hydrogels physiques de chitosane pour la régénération *in vivo* du tissu cutané après brûlures du troisième degré.

Thèse de doctorat. Lyon : Université Claude Bernard - Lyon I, 2011, 222 p.

DUTTA P.K et *al.*

Chitin and chitosan : Chemistry, properties and applications.

*Journal of scientific and industrial research*, vol.63, 2004, p.20-31.

ELOUARD J.M.

*Diptères : caractères généraux, clés systématiques et familles peu importantes.*

Paris : Orstom, 1981, p.553-567.

GALL Y.

*Acide hyaluronique : structure, métabolisme et implication dans la cicatrisation.*

Masson, 2010, 10 p.

GOY R.C et *al.*

Evaluation of the antimicrobial activity of chitosan and its quaternized derivative on *E.coli* and *S.aureus* growth.

*Revista brasileira de farmacognosia*, 2016, vol.26, p.122-127.

GROSJEAN J. et *al.*

*Bactériologie et virologie pratique.*

Bruxelles, Belgique : De Boeck, 2011, 2ème édition révisée. p.163-165.

GUNDUZ A. et *al.*

Analgesic effects of mad honey (grayanotoxin) in mice models of acute pain and painful diabetic neuropathy.

*Human and experimental toxicology*, 2014, vol.33, n°2, p.130-135.





HARRIS et al.

*Lucilia sericata* Chymotrypsin disrupts protein adhesin-mediated staphylococcal biofilm formation.

*Applied and environmental microbiology*, vol.79, n°4, 2013. p.1393-1395.

HENRY M.M, THOMPSON J.N.

*Chirurgie clinique: technique et pratique*.

Bruxelles, Belgique : De Boeck, 2004. 737 p.

HILDEBRAND J.P, LEMKE S.

Small bite, large impact-saliva and salivary molecules in the medicinal leech, *Hirudo medicinalis*.

*Naturwissenschaften*, 2011. p. 995-1008.

HOBSON R.P.

On an enzyme from blow-fly larvae [*Lucilia sericata*] which digests collagen in alkaline solution.

*Biochemical journal*, 1931, vol. 25, n°5, p.1458-1463.

JAYAKUMAR R. et al.

Biomaterial based on chitin and chitosan in wound dressing applications.

*Biotechnology advances*, 2011, vol.29, p.322-337.

JENKINS R. et al.

Manuka honey inhibits cell division in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*.

*Journal of antimicrobial chemotherapy*, 2011, vol.66, n°11, p.2536-2542.

JULL AB et al.

Honey as topical treatment for wounds.

*The Cochrane database of systematic reviews*, 2013.

KAEHLER SCHWEIZER D.

*Thérapie par les sangsues*.

St-Julien-en-Genevois : Editions Jouvence, 2008, 130 p.



KEAN T. et THANOU M.

Biodegradation, biodistribution and toxicity of chitosan.

*Advanced drug delivery reviews*, vol.62, 2010, p.3-11.

KHELIFA E. et *al.*

Pseudolymphome sur morsure de sangsues.

*Annales de Dermatologie et de Vénéréologie*. Paris : Masson, 2011, vol. 138, n° 12S.  
p.A227-A228.

KIERSZENBAUM A.L.

*Histologie et biologie cellulaire: une introduction à l'anatomie pathologique*.

Bruxelles, Belgique : De Boeck, 2006. p.157-158.

KIRBY P. et *al.*

Do honey-impregnated dressings affect glycaemic control ?

*The diabetic foot journal*, 2009, vol.12, n°4, p.177-180.

LEDECQ M.

*Manuel de chirurgie humanitaire*.

Paris : Médecine sciences publications Lavoisier, 2013. p. 88-89.

LI J. et *al.*

Pathophysiology of acute wound healing.

*Clinics in Dermatology*, 2007, vol.25, 10 p.

LODGE A. et *al.*

Maggots 'n' chips : a novel approach to the treatment of diabetic ulcers.

*The British journal of community nursing*, vol.11, n°12, 2007. p. 23-26.

LUSBY PE et *al.*

Honey : a potent agent for wound healing ?

*Journal of WOCN*, 2002, p.295-300.



MAEDA TM et al.

Increase in skin perfusion pressure after maggot debridement therapy for critical limb ischaemia.

*Clinical and experimental dermatology*, 2014, vol.39, p.911-914.

MAGALON G., VANWIJCK R.

*Guide des plaies : du pansement à la chirurgie.*

John Libbey Eurotext Ed. 2003, p.110.

MAQUART F.X, MONBOISSE J.C.

Extracellular matrix and wound healing.

*Pathologie Biologie*, 2014, vol.62, p. 91-95.

MARTINI M.C.

*Introduction à la dermatopharmacie et à la cosmétologie.*

Londres ; Paris ; New York : Ed. Tec & Doc ; Cachan : Ed. Médicales internationales, 2003, 401 p.

MCLOONE P. et al.

Honey : A realistic antimicrobial for disorders of the skin.

*Journal of Microbiology, Immunology and Infection*, vol.49, 2016, p.161-167.

MEAUME S, DEREURE O, TEOT L.

*Plaies et cicatrisations.*

Paris : Masson, 2005, 456 p.

MELISSOPOULOS A, LEVACHER C.

*La peau: structure et physiologie.*

2<sup>e</sup> édition. Paris : Ed. Tec & Doc: Lavoisier, 2012, 272 p.

METRAL O.

*Le miel dans votre pharmacie.*

France : Baroch Editions, 2014, 168 p.



MOGHAZY et al.

The clinical cost effectiveness of bee honey dressing in the treatment of diabetic foot ulcers.

*Diabetes research and clinical practice*, vol.89, 2010, p.276-281.

MOLAN P.C

The antibacterial activity of honey : 1. The nature of the antibacterial activity.

*Bee world* (73), 1992.

MOLAN P.C

*Why honey works well in healing wounds.*

2012.

MUZZARELLI R.

Chitins and chitosans for the repair of wounded skin, nerve, cartilage and bone.

*Carbohydrate polymers*, 2009, vol.76, p.167-182.

NIGAM Y.

Advances in myiasis treatment.

*Health care : current reviews*, 2016, vol.4.

NOOH H., NOUR-ELDIEN N.

The dual anti-inflammatory and antioxidant activities of natural honey promote cell proliferation and neural regeneration in a rat model of colitis.

*Acta histochemica*, 2016, vol. 118, p.588-595.

ORYAN A. et al.

Biological properties and therapeutic activities of honey in wound healing : a narrative review and meta-analysis.

*Journal of Tissue Viability*, 2016, vol.25, p.98-118.

OWOYELE B.V et al.

Analgesic and anti-inflammatory effects of honey : the involvement of autonomic receptors.

*Metabolic brain disease*, 2014, vol.29, p.167-173.



PAPANAS N, MALTEZOS E.

Becaplermin gel in the treatment of diabetic neuropathic foot ulcers.

*Journal of clinical interventions in aging*, 2008, vol.3, p.233-240.

PARNES A, LAGAN M.K

Larval therapy in wound management : a review.

*International journal of clinical practice*, 2007, p.488-493.

RABEA E.I et al.

Chitosan as antimicrobial agent : applications and mode of action.

*Biomacromolecules*, 2003, vol.4, n°6, p.1457-1465.

RIEDE F. et al.

Medicinal leeches for the treatment of venous congestion and hematoma after plastic reconstructive surgery.

*Journal of the German Society of Dermatology*, 2010, p. 881-888.

RIGAL M.L.

*Miel et gelée royale: utilisations thérapeutiques dans le domaine cutané et applications en cosmétologie.*

Thèse de doctorat en pharmacie. Limoges : Université de Limoges, 2012. 160 p.

ROULET L.

Hirudothérapie : les sangsues n'ont pas fini de faire parler d'elles.

*Actualités pharmaceutiques*, 2010, n°23, p.19-21.

PATRULEA V. et al.

Chitosan as a starting material for wound healing applications.

*European journal of pharmaceutics and biopharmaceutics*, 2015, vol.97, p.417-426.

PRITCHARD T.C, ALLOWAY K.D.

*Neurosciences médicales: les bases neuroanatomiques et neurophysiologiques.*

Bruxelles, Belgique : De Boeck, 2002, p.250-259.



RIEDE F. et al.

*Journal of the German Society of Dermatology.*

Medicinal leeches for the treatment of venous congestion and hematoma after plastic reconstructive surgery, 2010, vol.8, p.881-888.

SAUVAGE M.

Le chitosan.

*Le moniteur des pharmacies*, 2015, n°3082, cahier 1.

SCHMITT D., INSERM.

*Biologie de la peau humaine.*

Paris : Ed. INSERM, 1997, 326 p.

SENET P. et al.

*Physiologie de la cicatrisation cutanée.*

EMC (Encyclopédie Médico-Chirurgicale), 2000, 50-040-A-10.

SHAKEEL A. et SAIQA I.

Chitosan based scaffolds and their applications in wound healing.

*Achievements in the life sciences*, 2016, vol.10, p.27-37.

SIMON A. et al.

Medical honey for wound care – still the latest resort ?

*Evidence bases complementary and alternative medicine*, 2009, vol.6, n°2, p.165-173.

SINGH A.P.

Medicinal leech therapy (hirudotherapy) : a brief overview.

*Complementary Therapies in Clinical Practice*, 2010, vol.16, p.213-215.

TCHEMTCHOVA TATEU V.

*Contribution au développement d'un pansement à base de chitosane pour le traitement des plaies chroniques.*

Mémoire en vue de l'obtention du grade de docteur en sciences biomédicales et pharmaceutiques. Belgique: Université de Liège, 2012, 123 p.



THOMAS S.

Cost of managing chronic wounds in the U.K., with particular emphasis on maggot debridement therapy.

*Journal of wound care*, 2006, vol.15, p.465-469.

TOMCZAK C.

*Utilisation du miel dans le traitement des plaies: revue bibliographique.*

Thèse d'exercice. Lyon : École nationale vétérinaire de Lyon, 2010, 187 p.

TONKS A.J.

Honey stimulates inflammatory cytokine production from monocytes.

*Cytokine* 21, 2003, p.242-247.

TOUZET-ROUMAZEILLE S. et al.

Prise en charge chirurgicale des morsures animales chez l'enfant.

*Annales de chirurgie plastique esthétique*, 2016, 8 p.

TURKMEN A. et al.

Therapeutic applications of the larvae for wound debridement.

*British association of plastic, reconstructive and aesthetic surgeons*, 2010, vol.63, 184-188 p.

UENO et al.

Topical formulations and wound healing applications of chitosan.

*Advanced drug delivery reviews*, 2001, vol.52, p.105-115.

VAN EIJK W. et GROENHART O.

Sweet after acid. Revamil honey gel, a successful remedy for wounds.

*Woundcare consultant society news*, 2006.

WANG S.Y et al.

Maggot excretions/secretions induces human microvascular endothelial cell migration through AKT1.

*Molecular biology reports*, 2010, vol.37, p.2719-25.



WEILL B. et BATTEUX F.

*Immunopathologie et réactions inflammatoires.*

Ed. De Boeck supérieur, 2003, p.33.

WHITAKER I.S et al.

By what mechanism do leeches help to salvage ischaemic tissues ?

*British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 2005, vol.43, p.155-160.

WHITAKER I.S et al.

*Hirudo medicinalis* and the plastic surgeon.

*The British Association of Plastic Surgeons*, 2004, vol. 57, p.348-353.

WITTE M.B, BARBUL A.

General principles of wound healing.

*Surgical clinics of North America*, 1997, Vol. 77, n°3, 509-522 p.

YOUNG A, McNAUGHT C.E.

The physiology of wound healing.

*Surgery*, 2011, vol. 29, n°10, 475-478 p.

ZAKARIA NH et al.

Analgesic effect of honey bioactive compounds and its role in reducing morphine tolerance.

*Journal of applied pharmaceutical science*, 2015, vol.5, n°11, p.146-150.

ZHOU Z. et al.

Biomaterials based on N,N,N-trimethyl chitosan fibers in wound dressing applications.

*International journal of biological macromolecules*, vol.89, 2016, p.471-476.

ZIFFREN SE et al.

The secretion of collagenase by maggots and its implication.

*Annals of surgery*, 1953, vol.146, n°6, 932-934 p.





## Références webographiques

---

ABADJIAN A.G. *Cicatrisation*. 2012. [en ligne]. Disponible sur : [http://www.epathologies.com/acad/p\\_g/Cicat%201210.pdf](http://www.epathologies.com/acad/p_g/Cicat%201210.pdf) (consulté le 26 août 2015)

ANONYME. [en ligne]. Disponible sur : <http://www.step3.fr> (consulté le 2 mai 2016)

ANONYME. [en ligne]. Disponible sur : <http://www.brulure.fr> (consulté le 22 septembre 2016)

ANONYME. [en ligne]. Disponible sur : <https://sciencesheembeek.wordpress.com> (consulté le 22 avril 2017)

APITHERAPIE FRANCOPHONE [en ligne]. Disponible sur : <http://apitherapiefrancophone.com> (consulté le 8 septembre 2016)

AYADI L. La congestion. [en ligne]. Disponible sur : [http://www.dematice.org/ressources/DCEM1/anatomie\\_pathologique/D1\\_anap\\_003/co/document.pdf](http://www.dematice.org/ressources/DCEM1/anatomie_pathologique/D1_anap_003/co/document.pdf) (consulté le 10 septembre 2015)

CAMBUS J.P. *Physiologie de l'hémostase*. 2002. [en ligne]. Disponible sur : [http://www.medecine.ups-tlse.fr/pcem2/cardio\\_vasc/telechargement/Physiologie\\_de\\_l\\_hemostase.pdf](http://www.medecine.ups-tlse.fr/pcem2/cardio_vasc/telechargement/Physiologie_de_l_hemostase.pdf) (consulté le 28 août 2015)

CASTEDE J.C. *Détersion des plaies*. [en ligne]. Disponible sur : <http://www.e-plastic.fr/pdf/plaies/detersionplaies.pdf> (consulté le 27 avril 2016)

CATALA M., ANDRE J.M., KATSANIS G., [et al.]. *Histologie : organes, systèmes et appareils*. Faculté de médecine Pierre & Marie Curie, Service d'histologie embryologie, 2007. [en ligne]. Disponible sur : <http://www.chups.jussieu.fr/polys/histo/histoP2/peau.html> (consulté le 5 juillet 2015)

CENTRE DE SANTE ET DE SERVICES SOCIAUX DE LA VIEILLE CAPITALE. *Programme de soins des plaies*. [en ligne]. Disponible sur : <http://www.csssvc.qc.ca/telechargement.php?id=788> (consulté le 2 septembre 2015)

CHIRURGIENS PLASTICIENS INFO. *Cicatrisation*. [en ligne]. Disponible sur : <http://www.chirurgiens-plasticiens.info/lexique/cicatrisation.php> (consulté le 31 août 2015)



COLLÈGE DES ENSEIGNANTS EN DERMATOLOGIE DE FRANCE, SOCIÉTÉ FRANÇAISE DE DERMATOLOGIE ET DE PATHOLOGIE SEXUELLEMENT TRANSMISSIBLE et ASSOCIATION DES DERMATOLOGISTES FRANCOPHONES. Comprendre la peau. *Annales de dermatologie et de vénéréologie*. [en ligne]. Paris : Masson, 2005. Disponible sur : <http://www.sfdermato.org/media/pdf/formation-en-dpc/formation/14-cicatrisation-cutanee.pdf> (consulté le 21 juillet 2015)

COLLEGE DES ENSEIGNANTS EN DERMATOLOGIE DE FRANCE. Cicatrisation cutanée. [en ligne]. Disponible sur : [http://lyon-sud.univ-lyon1.fr/servlet/com.univ.collaboratif.util.LectureFichiergw?ID\\_FICHER=1320397711524](http://lyon-sud.univ-lyon1.fr/servlet/com.univ.collaboratif.util.LectureFichiergw?ID_FICHER=1320397711524) (consulté le 26 août 2015)

CREAPHARMA : *Engelure*. [en ligne]. Disponible sur : <http://www.creapharma.ch/engelure.htm> (consulté le 22 septembre 2016)

DEMARCHEZ M. La microcirculation *cutanée*. 2011. [en ligne]. Disponible sur : <http://biologiedelapeau.fr/spip.php?article29> (consulté le 5 juillet 2015)

DEREURE O. *Dynamique de la cicatrisation normale*. [en ligne]. Disponible sur : [http://www.med.univ-montp1.fr/enseignement/Formation\\_Continue/Soirees/FMC\\_280110\\_PEC\\_plaies\\_chroniques\\_dynamique\\_cicatrisation\\_normale.pdf](http://www.med.univ-montp1.fr/enseignement/Formation_Continue/Soirees/FMC_280110_PEC_plaies_chroniques_dynamique_cicatrisation_normale.pdf) (consulté le 26 août 2015)

DISTRIMED. *Que faire face à des gelures ?* [en ligne]. Disponible sur : [http://www.distrimed.com/conseils/page\\_gelures.php](http://www.distrimed.com/conseils/page_gelures.php) (consulté le 22 septembre 2016)

DUBERTRET L. *Peau, Encyclopaedia Universalis* [en ligne]. Disponible sur : <http://www.universalis-edu.com/encyclopedie/peau/> (consulté le 8 juillet 2015)

FERRAQ Y. *Développement d'un modèle de cicatrisation épidermique après une désépidermisation laser*. Thèse électronique. Toulouse : Université Paul Sabatier, Toulouse 3, 2008. [en ligne]. Disponible à l'adresse : [http://thesesups-utlse.fr/139/1/Ferrag\\_Younes.pdf](http://thesesups-utlse.fr/139/1/Ferrag_Younes.pdf) (consulté le 21 août 2015)

FONDATION DES BRÛLÉS. [en ligne]. Disponible sur : <http://www.brulures.be> (consulté le 22 septembre 2016)

LE TOUZE A, ROBERT M. *La cicatrisation et la cicatrice*. [en ligne]. Disponible sur : <https://www.chu-brest.fr/documents/10156/82673/PLAIES-CICATRISATION.pdf> (consulté le 8 juillet 2015)



GAGNON V. *Étude des interactions entre les nerfs sensoriels et les follicules pileux dans un modèle in vitro de peau reconstruite par génie tissulaire*. Thèse électronique. Université Laval. [en ligne]. Disponible sur : <http://theses.ulaval.ca/archimede/fichiers/22895/ch01.html#d0e508> (consulté le 5 juillet 2015)

GAUNET F. *La thérapie assistée par les dauphins : une pratique alternative de soutien à l'interaction*. 2003. [en ligne]. Disponible sur : <https://communicationorganisation.revues.org> (consulté le 4 mai 2017)

GEORGEL A. *Pénétration transcutanée des substances actives: application en dermocosmétologie*. Thèse électronique. Nancy: Université de Nancy I. UFR Sciences pharmaceutiques et biologiques, 2008. [en ligne]. Disponible à l'adresse : [http://docnum.univ-lorraine.fr/public/SCDPHA\\_T\\_2008\\_GEORGEL\\_AMANDINE.pdf](http://docnum.univ-lorraine.fr/public/SCDPHA_T_2008_GEORGEL_AMANDINE.pdf) (consulté le 8 juillet 2015)

HARMOUCH C. *Évaluation de l'adhésion et de la différenciation endothéliale de cellules souches mésenchymateuses issues de la gelée de Wharton du cordon ombilical humain sur des supports fonctionnalisés du type chitosane/hyaluronane*. Thèse électronique. Université de Lorraine, 2014. [en ligne]. Disponible sur : [http://docnum.univ-lorraine.fr/public/DDOC\\_T\\_2014\\_0001\\_HARMOUCH.pdf](http://docnum.univ-lorraine.fr/public/DDOC_T_2014_0001_HARMOUCH.pdf) (consulté le 15 septembre 2016)

HAUTE AUTORITE DE SANTE. *Les pansements, indications et utilisations recommandées*. 2011. [en ligne]. Disponible sur : [http://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/2009-01/pansements\\_synthese\\_rapport.pdf](http://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/2009-01/pansements_synthese_rapport.pdf) (consulté le 2 septembre 2015)

HUSSEIN S.Z et al. Gelam honey attenuates carrageenan-induced rat paw inflammation via NF- $\kappa$ B pathway. *Public Library of science*, 2013. [en ligne]. Disponible sur : <http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0072365> (consulté le 20 décembre 2016)

INSTITUT FRANÇAIS DE ZOOTHERAPIE. *Zoothérapie ou médiation par l'animal*. [en ligne]. Disponible sur : <http://www.institutfrançaisdezoothérapie.com> (consulté le 2 mai 2017)

KÖNIG C. *La mouche, présente dans le monde depuis 250 millions d'années*. [en ligne]. Disponible sur : <http://www.futura-sciences.com/magazines/nature/infos/dossiers/d/zoologie-mouche-presente-monde-depuis-250-677/page/3/> (consulté le 21 avril 2016)



LABAT-ROBERT J, LADISLAS R. *Matrice intercellulaire ou extracellulaire*, *Encyclopaedia Universalis*. [en ligne]. Disponible sur : <http://www.universalis-edu.com/encyclopedie/matrice-intercellulaire-matrice-extracellulaire/> (consulté le 4 juillet 2015)

LABORATOIRE L'OREAL. [en ligne]. Disponible sur : <http://www.skin-science.fr> (consulté le 14 août 2015)

LAFOURCADE D. *Prise en charge de la brûlure cutanée thermique : parcours-type du centre de traitement des brûlés jusqu'à celui de rééducation*. Thèse électronique. Université de Bordeaux. [en ligne]. Disponible sur : <http://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01258461/document> (consulté le 22 septembre 2016)

LA ROCHE-POSAY. [en ligne]. Disponible sur : <http://www.laroche-posay.fr/article/protection-solaire/a869.aspx> (consulté le 15 septembre 2016)

LECHAUX D. *Le miel et la cicatrisation des plaies*, 2013. [en ligne]. Disponible sur : <https://www.abcd-chirurgie.fr/mediastore/fckEditor/file/TAP.pdf> (consulté le 15 septembre 2016)

LEGIFRANCE. [en ligne]. Disponible sur : <https://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000000785228&categorieLien=id> (consulté le 16 avril 2016)

LINGER et al. *Towards next generation maggot debridement therapy: transgenic *Lucilia sericata* larvae that produce and secrete a human growth factor*, 2016 [en ligne]. Disponible sur : <http://bmcbiotechnol.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12896-016-0263-z> (consulté le 25 avril 2016)

MANARANCHE R. *Annélides*, *Encyclopædia Universalis* [en ligne]. Disponible sur : <http://www.universalis-edu.com/encyclopedie/annelides/> (consulté le 9 septembre 2015)

MAZOYER A. *Index de pression systolique*, 2013. [en ligne]. Disponible sur : <http://medecine.alexis-mazoyer.com/documents/formations/IPS%20formation.pdf> (consulté le 20 décembre 2016)

MELIPHARM. [en ligne]. Disponible sur : <http://www.melipharm.com> (consulté le 8 septembre 2016)



NICOLAS J.F et al. *Pathologie acquise de la jonction dermo-épidermique*. Médecine/sciences, 1993, vol. 9, n°4. p. 376-379. [en ligne]. Disponible sur : [http://www.ipubli.inserm.fr/bitstream/handle/10608/2930/1993\\_4\\_376.pdf?sequence=1](http://www.ipubli.inserm.fr/bitstream/handle/10608/2930/1993_4_376.pdf?sequence=1) (consulté le 20 août 2015)

OPTELALOVA et al. *Maggot therapy for wound débridement : a randomized multicenter trial*. Jama dermatology, vol.148, n°4. [en ligne]. Disponible sur : <http://archderm.jamanetwork.com> (consulté le 5 mai 2016)

ORGANISATION MONDIALE DE LA SANTE. *L'OMS publie une liste de bactéries contre lesquelles il est urgent d'avoir de nouveaux antibiotiques*. [en ligne]. Disponible sur : <http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2017/bacteria-antibiotics-needed/fr/> (consulté le 22 avril 2017)

ORGANISATION MONDIALE DE LA SANTE. *Les effets connus des UV sur la santé*. [en ligne]. Disponible sur : <http://www.who.int/uv/faq/uvhealthfac/fr/> (consulté le 30 août 2015)

PONS-GUIRAUD A. *Microbiote cutané et santé de la peau*. 2012. [en ligne]. Disponible sur : <http://www.dermocosmetologie.fr/wp-content/uploads/2012/07/120626-Lettre-16-online.pdf> (consulté le 30 août 2015)

SOCIETE CHIMIQUE DE FRANCE. *Chitine et chitosane*. [en ligne]. Disponible sur : <http://www.societechimiquedefrance.fr/chitine-et-chitosane> (consulté le 4 septembre 2016)

REVOL M, SERVANT J.M. *Les greffes cutanées*. 2006. [en ligne]. Disponible sur : [http://www.cicatrisation.info/livre/module\\_2/revol\\_greffe.pdf](http://www.cicatrisation.info/livre/module_2/revol_greffe.pdf) (consulté le 2 septembre 2015)

RICARIMPEX. *Sangsues médicinales, biologie*. [en ligne]. Disponible sur : <http://sangsue-medicinale.com/les-sangsues/biologie> (consulté le 9 septembre 2015)

RYCAJAL. *Le système tégumentaire*. [en ligne]. Disponible sur : <http://www.neur-one.fr/PHYSIO3.pdf> (consulté le 29 août 2015)

SCHMITT D. *La cellule de Langerhans en 2004*. [en ligne]. Disponible sur : <http://www.recherche-pierre-fabre.com/include/images/keratin/9.pdf> (consulté le 16 août 2015)



SCHVED J.F. *Physiologie de l'hémostase*. 2007. [en ligne]. Disponible sur : [http://www.med.univ-montp1.fr/enseignement/cycle\\_1/PCEM2/mod-base/MB7\\_Bio\\_Med/Ressources\\_locales/HEMATO/H3\\_Hemostase-v2.pdf](http://www.med.univ-montp1.fr/enseignement/cycle_1/PCEM2/mod-base/MB7_Bio_Med/Ressources_locales/HEMATO/H3_Hemostase-v2.pdf) (consulté le 20 août 2015)

SOCIÉTÉ FRANÇAISE ET FRANCOPHONE DES PLAIES ET CICATRISATIONS. [en ligne]. Disponible sur : <http://www.sffpc.org> (consulté le 22 septembre 2016)

SOMMET A. *La thermorégulation*. 2013. [en ligne]. Disponible sur : <http://biologiedelapeau.fr/spip.php?article75> (consulté le 29 août 2015)

TEOT L. *Plaies, pansements et douleurs de soins*. [en ligne]. Disponible sur : [http://www.cnrd.fr/IMG/pdf/2007\\_Teot.pdf](http://www.cnrd.fr/IMG/pdf/2007_Teot.pdf) (consulté le 2 septembre 2015)

TOUSSAINT P. *Lavothérapie*. [en ligne]. Disponible sur : <http://www.cicatrisation.info> (consulté le 21 avril 2016)

WANG et al. *Role of cytokines in epidermal Langerhans cell migration*. [en ligne]. Disponible sur : <http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.326.6808&rep=rep1&type=pdf> (consulté le 31 août 2015)




## Annexes

---

Annexe 1. Utilisation thérapeutique des sangsues .....	168
--	-----



## Annexe 1. Utilisation thérapeutique des sangsues

	<b>Note d'information aux services Utilisation thérapeutique des sangsues</b>	PUI DS1 P DIS 001
		Date d'application : Février 2014
		Page 1 sur 1

### DELIVRANCE

A la pharmacie, les sangsues (*Hirudino Medicinalis*) sont conservées dans une eau minérale à 4°C, nettoyées régulièrement et maintenues à l'abri de la lumière.

Avant leur délivrance aux services, une ampoule de gentamicine 10 mg/ml est versée dans l'eau pour minimiser le risque infectieux (*Aeromonas Hydrophila*) ; elles sont livrées dans un bocal en verre propre fermé par un couvercle troué afin de laisser passer l'air. Ce bocal est à maintenir à la verticale pour éviter toute fuite d'eau durant le transport.

Une **étiquette** mentionnant la quantité de sangsues délivrées, leur numéro de lot, la date, le nom du patient et le numéro d'UF est remise en même temps que le pot et **doit être conservée dans le dossier patient**.

### POSE

Dans le service, les sangsues peuvent être gardées dans leur bocal, à température ambiante pendant la durée du traitement (en moyenne 2 ou 3 jours), le froid ne favorisant pas la succion. **Elles doivent être manipulées avec précaution, le port de gants étant obligatoire.**

La zone d'application doit être désinfectée à l'aide d'un antiseptique puis soigneusement rincée à l'eau claire: les sangsues sont très sensibles à l'odeur et ne s'accrochent pas sur une peau présentant des traces de savon ou autres parfums.

Lorsque la sangsue est posée sur la zone à traiter, elle va alors se fixer en appliquant sa ventouse, et perce la peau à l'aide de ses mâchoires. Ensuite, elle aspire du sang tout en injectant sa salive qui contient plusieurs molécules anticoagulantes et protéolytiques (hirudine, caline, apyrase, collagénase, hyaluronidase...).

Pour favoriser la prise, il est possible de faire au préalable une petite scarification à l'endroit où elle doit s'accrocher pour l'appâter. La morsure est quasi indolore sur le moment puis la sensation se rapproche de celle d'une piqûre de moustique.

La présence permanente d'un membre de l'équipe soignante au chevet du malade reste la meilleure des préventions contre la migration des sangsues, en particulier au niveau des voies aérodigestives.

Après une période de succion de 10 à 30 minutes en moyenne, facilement repérable par d'importants mouvements péristaltiques, la sangsue repue se détache d'elle-même.



Il ne faut pas essayer de décrocher la sangsue avant la fin de son repas car cela déclencherait une régurgitation causant une contamination de la plaie par des micro-organismes digestifs.

La plaie que la sangsue laisse peut saigner durant quelques heures. Ce phénomène normal fait partie du traitement et peut être augmenté ou réduit en fonction de l'effet thérapeutique recherché et de la sensibilité individuelle. Pour stopper l'hémorragie, il est possible d'utiliser de l'eau oxygénée.

**Après utilisation, la sangsue, étant à usage unique, doit être plongée dans un bain d'acétone puis mise dans un container DASRI pour élimination.**

Les principales contre-indications à la pose sont :

- Troubles de la coagulation ou prise d'anticoagulants
- Anémie sévère
- Hypotension

Précaution d'emploi :

- Pas de pose à proximité de gros vaisseaux





## Serment de Galien

---

Je jure en présence de mes Maîtres de la Faculté et de mes condisciples :

- d'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement ;
- d'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement ;
- de ne jamais oublier ma responsabilité, mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine, de respecter le secret professionnel.

En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser les actes criminels.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères, si j'y manque.





## « Animaux médicaments » et leurs dérivés : application dans la reconstruction tissulaire

---

La peau est un organe indispensable à la vie. Frontière entre un monde intérieur invisible, silencieux et un monde extérieur visible, bruyant, la peau est parfois le siège de blessures. Les plaies représentent un problème majeur de santé publique et nécessitent d'être prises en charge. A l'heure où les thérapeutiques conventionnelles se heurtent à l'émergence de bactéries multi-résistantes, "l'animal médicament" a-t-il sa place ?

De tout temps l'animal a été utilisé par l'Homme pour soulager ses maux. Le regain d'intérêt de ces dernières années pour ces thérapies alternatives est-il justifié ?

La sangsue participe aujourd'hui avec succès à la revascularisation de greffons. Les larves de *Lucilia sericata* assurent la détertion des plaies. Le miel et le chitosane sont utilisés comme agents cicatrisants dans la gestion des plaies aiguës et chroniques.

Quels sont leurs mécanismes d'action ? Leurs bénéfices thérapeutiques ? Leurs contre-indications et leurs limites ? Autant de questions auxquelles nous essayerons d'apporter des réponses grâce aux données de la littérature.

---

**Mots-clés :** animal médicament, plaies, cicatrisation, sangsue, hirudothérapie, *Lucilia sericata*, larvothérapie, miel, apithérapie, chitosane.

## « Animals drugs » and their derivatives : application in tissue reconstruction

---

The skin is an indispensable organ for life. Barrier between in an invisible, silent inner world and a visible, noisy, outer world, the skin is sometimes the seat of wounds. Wounds represent a major public health problem and need to be addressed. At time when conventional therapeutics are coming up against the emergence of multi-resistant bacteria, does the "animals drugs" have its place?

The animal world has always been used by Man to relieve his illness.

Is this renewed interest of these last years for these alternative therapies justified? Today, the leech successfully participates in the tissue revascularization of grafts. The larvae of *Lucilia sericata* ensure the debridement of the wounds. Honey and chitosan are used as healing agents in the management of acute and chronic wounds. What are their mechanism of action? Their therapeutic benefits? Their contraindications and their limitations? These are all questions we will try to answer thanks to the data of the literature.

---

**Keywords :** animals drugs, wounds, cicatrisation, leech, hirudotherapy, *Lucilia sericata*, maggot therapy, honey, apitherapy, chitosan.

