

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

جامعة 20 اوت 1955- سكيكدة

UNIVERSITE 20 AOUT 1955- SIKKDA



Faculté des Sciences

Département des Sciences de la Nature et de la Vie

Mémoire Présenté en Vue de l'Obtention du Diplôme de Master

Filière : Sciences biologiques

Spécialité : Biochimie appliquée

Intitulé :

**Étude *in vivo* de l'effet anti-inflammatoire du
venin d'abeille**

Présenté Par : Boulezaz Achouak

Majen Noussayba

Mehaigueni Racha

Atietallah Omar Ferhat

Membre de Jury :

Dr Gueddah Doria

Président

Université du 20 Août 1955 – Skikda

Dr Belambri Sahra Amel

Promoteur

Université du 20 Août 1955 – Skikda

Dr Bouhadouda Nabila

Examineur

Université du 20 Août 1955 – Skikda

Année universitaire 2023/2024

Remerciements

Nous remercions "Allah" le tout-puissant qui nous a donné la force et la patience pour mener à bien ce modeste travail.

*Nos remerciements particuliers vont à notre encadrante, **Dr. Belambri Sahra Amel**, pour sa confiance et sa patience. Merci de nous avoir honorés en acceptant de diriger ce travail. Nous lui exprimons nos sentiments de reconnaissances les plus sincères pour sa précieuse aide ses encouragements et ses conseils.*

*Nous tenons à remercier **Dr. Gueddah Doria** d'avoir accepté la présidence du jury de notre travail, qu'elle trouve ici l'expression de notre respect le plus profond.*

*A notre examinateur **Dr. Bouhadouda Nabila** qui nous a fait le plaisir d'examiner ce travail, nos hommages particuliers.*

*Nos sentiments de reconnaissance et Nos remerciements vont à toutes les personnes qui ont participé, de près ou de loin, à la réalisation de ce travail, en particulier à **M. Badis**. Nous tenons à exprimer notre profonde gratitude pour son soutien inestimable, car sa contribution a été essentielle à la réalisation de travail.*



Dédicace

Je dédie ce mémoire à toutes les personnes qui m'ont soutenu tout au long de ce parcours académique.

À mes parents, pour leur amour inconditionnel, leur soutien moral et financier, et pour avoir toujours cru en moi. Merci pour votre patience et votre encouragement.

À ma tante, ma deuxième mère, à mon grand frère Abdelmoumen et à sa femme Chaima, la plus belle belle-sœur du monde. À mes sœurs, les princesses Safia, Soundous, et la petite préférée de mon cœur, Israa.

À ma meilleure amie Asma pour son soutien moral constant et ses encouragements. À ma camarade Céline. Et je n'ai pas oublié mes amis sur Instagram, un par un. Merci pour votre amitié, vos conseils, et pour avoir été une source de motivation et de bonne humeur tout au long de cette période.

À tous ceux qui, de près ou de loin, ont contribué à l'aboutissement de ce projet. Votre aide et votre soutien ont été inestimables.

Merci à tous.

Noussayba



Dédicace

À celui dont le front est couronné de sueur et qui m'a appris que le succès ne vient qu'avec la patience et la persévérance, à la lumière qui a illuminé mon chemin, celui qui a sacrifié tout ce qu'il avait de précieux et dont j'ai tiré ma force et ma fierté en moi-même, mon cher père.

À celle qui a mis le paradis sous ses pieds et a facilité pour moi les épreuves par ses prières, à la grande personne qui a toujours souhaité que ses yeux se réjouissent de me voir en ce jour, ma chère mère.

À mon soutien indéfectible et la sécurité de mes jours, à ceux qui m'ont renforcé et qui ont été pour moi des sources de réconfort, à mes précieux frères Haithem et Raid.

À tous ceux qui ont été une aide et un soutien sur ce chemin, aux amis fidèles et aux compagnons des années, aux compagnons des moments difficiles, à vous, ma famille, je vous dédie cet accomplissement et le fruit de mon succès que j'ai toujours souhaité. Me voilà aujourd'hui ayant achevé et accompli le premier de ses fruits grâce à Allah, al hamdoulilah pour ce qu'Il m'a donné, et qu'Il m'aide où que je sois. Car celui qui a dit "je peux" l'a réalisé.

Al hamdoulilah, merci, amour et gratitude pour le début et la fin.

Racha

Dédicace

Je dédie ce travail à mes parents, mes sœurs Sirine et Wissam, ainsi qu'à mes frères pour leurs encouragements et leurs aides.

Je dédie également ce travail à toutes les personnes qui m'ont enseigné et contribué à ma formation tout au long de ma carrière.

Je dédie aussi ce travail à mes meilleures amies Roumaïssa, Ahlem, Maram et lina, en témoignage des années passées ensemble, je leur souhaite beaucoup de courage, de réussite et un brillant avenir.

Achouak

Liste des figures

- **Figure 1** : Évènements majeurs de la réponse inflammatoire.....P6
- **Figure 2** : Illustration des cellules inflammatoires.....P8
- **Figure 3** : Electro-stimulateur utilisé pour la récolte du venin d'abeille.....P16
- **Figure 4** : Photo présente un rat mâle (Albinos Wistar).....P20
- **Figure 5** : Venin d'abeille dilué.....P21
- **Figure 6** : Photos de test d'œdème de l'oreille.....P22
- **Figure 7** : Photos de test de la péritonite.....P23
- **Figure 8** : Photos de test de l'immersion de la queue.....P24
- **Figure 9** : Évolution de l'épaisseur de l'oreille suite à l'apparition de l'œdème induit par le xylène après l'utilisation du venin d'abeille en fonction du temps, les résultats sont présentés en moyenne \pm SEM pour n=6 ; ** Si $p<0.01$; * Si $p<0.05$ par rapport au contrôle + (test de student).....P27
- **Figure 10** : Effet du venin d'abeille sur le nombre de leucocytes recrutés au niveau de la cavité péritonéale après l'injection intrapéritonéale de 0.2ml de la λ -carrageenane 1%. Les rats sont traités par 200 μ L dans le dos. Les deux histogrammes représentent la moyenne (n=6) \pm SEM ; ** Si $p<0.01$; * Si $p<0.05$ (test de student).....P28
- **Figure 11** : Effet analgésique du venin d'abeille injecté au dos des rats suite au test de l'immersion de queue, les résultats sont présentés en moyenne \pm SEM pour n= 6. (***) Si $p<0,01$, (*) Si $p<0.05$ par rapport au control (+) (test de student).....P29

Liste des abréviations

- **AINS** : Anti-inflammatoires non-stéroïdiens
- **COX** : Cyclo-oxygénase
- **CRP** : Protéine C-réactive
- **IgE** : Immunoglobuline E
- **IL** : Interleukine
- **MCD** : Peptide Mast Cell Degranulation
- **MP** : Maladie de Parkinson
- **NETs** : Pièges extracellulaires neutrophiliques
- **NK** : Cellules Natural killer
- **PAF** : Facteur d'Activation des Plaquettes
- **PAMP** : Motifs moléculaires associés aux pathogènes
- **PLA2** : Phospholipase A2
- **ROS** : Espèces réactives de l'oxygène
- **SAP** : Amyloïde sérique P
- **SLA** : Sclérose latérale amyotrophique
- **TNF α** : Tumor Necrosis Factor α

Sommaire

I. Introduction.....	1
Chapitre 1 : Inflammation.....	4
1. Inflammation	5
2. Types de l'inflammation.....	5
2.1. Inflammation aigue.....	5
2.1.1. Formation du foyer inflammatoire.....	5
2.1.2. Résolution de l'inflammation.....	6
2.2. Inflammation chronique.....	7
3. Cellules impliquées dans la réaction inflammatoire.....	7
3.1. Neutrophiles.....	7
3.2. Monocytes et Macrophages.....	7
3.3. Mastocytes.....	8
3.4. Cellules natural killer et cellules dendritiques.....	8
4. Médiateurs de la réaction inflammatoire	9
4.1. Histamine.....	9
4.2. Médiateurs lipidiques de l'inflammation.....	9
4.3. Cytokines pro-inflammatoires.....	9
4.4. Chimiokines.....	10
4.5. Protéines de la phase aigüe.....	10
5. Traitement de l'inflammation.....	11
5.1. Anti-inflammatoires non-stéroïdiens	11
5.2. Anti-inflammatoire stéroïdiens.....	11
Chapitre 2 : Venin d'abeille.....	12
1. Apithérapie.....	14

2. Venin d'abeille.....	14
3. Composition.....	14
4. Propriété physico-chimique.....	15
5. Récolte du venin et système d'extraction.....	15
6. Conservation du venin d'abeille	16
a. Stockage à coute terme.....	16
b. Stockage à long terme.....	16
7. Venin d'abeille et hypersensibilité.....	17
8. Valeurs thérapeutiques du venin d'abeille.....	17
II. Matériel et méthodes.....	19
1. Matériel	20
1.1. Animaux d'étude	20
1.2. Solutions de travail	20
2. Méthodes	21
2.1. Solubilisation du venin d'abeille.....	21
2.2. Etude <i>in vivo</i> de l'activité anti inflammatoire du venin d'abeille.....	21
2.2.1.Œdème de l'oreille induit par le xylène.....	21
2.2.2 Induction de la péritonite chez les rats par la λ - carraghénane	22
2.2.3 Etude <i>in vivo</i> de l'activité analgésique.....	23
3. Etude statistique	24
III. Résultats et discussion.....	25
1. Résultats.....	26
1.1. Effet du venin d'abeille sur l'œdème de l'oreille induit par le xylène.....	26
1.2. Effet du venin d'abeille sur la péritonite induite par la λ -carraghénane.....	27
1.3. Évaluation de l'activité analgésique du venin d'abeille.....	28
2. discussion.....	30

2.1. Effet du venin d'abeille sur l'œdème de l'oreille induit par le xylène.....	30
2.2. Effet du venin d'abeille sur la péritonite induite par la λ -carraghénane	30
1.3. Effet analgésique du venin d'abeille.....	31
IV. Conclusion.....	32
V. Bibliographie.....	33

Résumé

L'objectif de cette étude était d'évaluer le pouvoir anti inflammatoire *in vivo* du venin d'abeille par administration sous cutanée de 0,8mg/kg de ce venin dans le dos des rats. Pour cela, deux modèles d'inflammation aiguë ainsi qu'un test d'analgésie ont été employés. Le test de l'œdème de l'oreille induit par le xylène a démontré que le venin d'abeille entraîne une réduction significative de l'épaisseur de l'oreille du rat qui a diminué de près de 28% ($p < 0.05$) par rapport au contrôle au bout de la première heure pour atteindre un maximum au bout de la 3^{ème} heure où l'œdème s'est vu réduire de près de 37% ($p < 0.01$). L'effet anti-inflammatoire obtenu est proche de celui produit par l'anti-inflammatoires de référence l'aspirine. De plus, l'injection intrapéritonéale de λ -carraghénane (1%) chez les rats a révélé que le venin d'abeille injecté inhibait le recrutement de neutrophiles dans la cavité péritonéale de près de 49%. Cette inhibition qui est inférieur à celle obtenue par l'acide salicylique qui de 85%. Le test d'immersion de la queue n'a pas donné des résultats significatifs avec le venin d'abeille et ce pour des purement de manipulation, où les rats sont trop agités et ne supportent pas l'immersion de leur queue dans l'eau chaude. Les résultats obtenus ainsi dans notre étude permettent d'attribuer un effet anti-inflammatoire considérable au venin d'abeille utilisé à la dose de 0,8mg/kg.

Mots clés : Venin d'abeille, Anti-inflammatoires, Pouvoir anti inflammatoire, Analgésique, Inflammation.

Abstract

The objective of this study was to evaluate the *in vivo* anti-inflammatory power of bee venom by subcutaneous administration of 0,8 mg /kg on the rats' backs. To achieve this, two models of acute inflammation along with an analgesia test were employed to evaluate the anti-inflammatory efficacy of bee venom. The xylene-induced ear edema test demonstrated that bee venom leads to a very significant reduction ($p < 0.01$) of (28%), even almost total prevention of edema. The anti-inflammatory effect obtained is significantly greater than that produced by the reference anti-inflammatory drug aspirin. Furthermore, intraperitoneal injection of λ -carrageenan (1%) in rats revealed that bee venom injected inhibited the recruitment of neutrophils in the peritoneal cavity by nearly 49%. This inhibition is lower than that obtained by salicylic acid, which is 85%. The tail immersion test did not give significant results with bee venom for purely manipulation purposes, where the rats are too agitated and cannot tolerate the immersion of their tail in hot water. The results obtained in our study make it possible to attribute a considerable anti-inflammatory effect to the bee venom used at a dose of 0.8 mg/kg.

Keywords: Bee venom, Anti-inflammatories, Anti-inflammatory power, Analgesic, Inflammation.

ملخص

كان الهدف من هذه الدراسة هو تقييم القدرة المضادة للالتهابات لسـم النحل في الجسم الحي عن طريق إعطاء 0.8 ملغم / كغم تحت الجلد على ظهور الفئران. لهذا، تم استخدام نموذجين من الالتهابات الحادة وكذلك اختبار التسكين. أظهر اختبار وذمة ($P < 0.05$) الأذن الناجم عن الزيـلين أن سم النحل تسبب في انخفاض كبير في سمك أذن الجرذ الذي انخفض بنسبة 28% تقريباً مقارنة بالتحكم بعد الساعة الأولى ليصل إلى الحد الأقصى بعد الساعة الثالثة. حيث تم تقليل الوذمة بنسبة 37% تقريباً التأثير المضاد للالتهابات الذي تم الحصول عليه قريب من التأثير الناتج عن الأسبرين المضاد للالتهابات. علاوة ($P < 0.01$) على ذلك، كشف الحقن داخل الصفاق لـ 1-كاراجينان (1%) في الفئران أن سم النحل المحقون يمنع تجنيد العدلات في التجويف البريتوني بنسبة 49% تقريباً. وهذا التثبيط أقل من ذلك الذي يحصل عليه حمض الساليسيليك وهو 85%. لم يعط اختبار عمر الذيل نتائج مهمة مع سم النحل لأعراض التلاعب البحتة، أو أن الفئران كانت مضطربة للغاية ولا يمكنها تحمل عمر ذيلها في الماء الساخن. النتائج التي تم الحصول عليها في دراستنا تجعل من الممكن أن نعزو تأثيراً مضاداً للالتهابات إلى سم النحل المستخدم بجرعة 0.8 ملغم / كغم

الكلمات المفتاحية: سم النحل. مضادات الالتهاب. مسكنات الألم. الالتهابات.

Introduction

I. Introduction

L'inflammation est une réponse biologique du système immunitaire qui peut être déclenchée par divers facteurs, notamment des agents pathogènes, des cellules endommagées et des composés toxiques. Ces facteurs peuvent induire des réponses inflammatoires aiguës ou chroniques au niveau du cœur, du pancréas, du foie, des reins, des poumons, du cerveau, du tractus intestinal et du système reproducteur, pouvant entraîner des lésions tissulaires ou des maladies (Chen et al., 2017).

La prise en charge des troubles inflammatoires implique l'utilisation de différentes classes de médicaments tels que les anti-inflammatoires stéroïdiens et les anti-inflammatoires non stéroïdiens. Ces médicaments présentent des risques de toxicité gastro-intestinale et rénale, avec une augmentation du risque au fur et à mesure que le traitement est prolongé. Le taux élevé des maladies inflammatoires ainsi que les risques d'effets secondaires des anti-inflammatoires ont créé un autre objectif de recherche scientifique. Par conséquent, le développement de nouveaux anti-inflammatoires plus puissants avec moins d'effets secondaires est nécessaire (Rahmani et al., 2016).

Depuis l'antiquité, l'homme exploitait les précieux produits apicoles élaborés par l'abeille, dont le venin d'abeille, également connu sous le nom d'apitoxine, faisait partie de leur usage à des fins médicales. La thérapie au venin d'abeille, qui applique le venin pour traiter de nombreuses maladies, remonte à l'antiquité, il y a plus de 6000 ans, dans la médecine égyptienne, grecque et chinoise (Hellner et al., 2008). Le premier travail scientifique à propos de l'apitoxine a été publié au début du 19^e siècle après une amélioration observée par le physicien autrichien Philip Terc sur ses patients rhumatismaux (Bellik, 2015).

Le venin d'abeille est une mixture complexe de substances chimiques pharmacologiquement actives. Il est largement utilisé dans la médecine traditionnelle pour traiter de multiples troubles inflammatoires, comme le rhumatisme, l'arthrite et la sclérose en plaques (AL-Ani et al., 2015).

Il existe plusieurs études ayant étudié l'effet du venin d'abeille sur le processus de l'inflammation. Cependant, l'objectif de notre travail est de tester l'existence d'un éventuel effet anti-inflammatoire et analgésique du venin d'abeille sur l'organisme. Pour ce faire, nous avons utilisé des modèles expérimentaux d'inflammation chez le rat. Ces modèles comprennent l'œdème de l'oreille induit par le xylène et la péritonite induite par la carraghénane. De plus, le test

d'immersion de la queue du rat a été employé pour déterminer le pouvoir analgésique du venin d'abeille.

Chapitre 1 : Inflammation

1. Inflammation

Le terme inflammation est tiré du mot latin « *inflammare* » (bruler). Il s'agit d'une réponse du système immunitaire à des stimuli nocifs, tels que des agents pathogènes des cellules endommagées, des composés toxiques ou une irradiation (Medzhitov, 2010) et agit en supprimant les stimuli nocifs et en initiant le processus de guérison (Ferrero-Miliani et al., 2007).

La réaction inflammatoire passe par différentes phases au cours desquelles les polynucléaires neutrophiles jouent un rôle important. Il s'agit de l'adhésion, de la diapédèse, de la migration, de l'activation des leucocytes et du remodelage tissulaire. Ces étapes clés de la réaction inflammatoire sont contrôlées par de nombreux médiateurs humoraux et cellulaires parmi lesquels on compte des cytokines, l'histamine, des endotoxines, des leucotriènes, des neuropeptides, des fractions du complément, des Facteurs de la coagulation (Henrotin et Reginster, 2001). La réaction inflammatoire est caractérisée par quatre signes « *Rubor, tumor, calore et dolore* » (rougeur et gonflement avec chaleur et douleur). Quelques siècles plus tard Galien y ajouta un cinquième signe « *functio laesa* » (perte de fonction).

L'inflammation est donc un mécanisme de défense vital pour la santé (Nathan et Ding, 2010).

2. Types de l'inflammation

L'inflammation a été classée en deux classes différentes selon la durée du processus ainsi que de divers facteurs immunitaires (Chenal et Trumel, 2022) :

2.1. Inflammation aigue

L'inflammation aiguë est une réponse du système immunitaire naturel qui assure un isolement rapide de l'agent agresseur, c'est une procédure courte qui dure de quelques minutes à quelques jours (Nathan et Ding, 2010). Elle se déroule en deux étapes principales (Kobayashi et al., 2014) à savoir :

2.1.1. Formation du foyer inflammatoire

Elle implique une succession d'évènements qui aboutissent au recrutement des cellules inflammatoires dans le tissu lésé (Figure 1) (Kindt et al., 2007):

- Une vasodilatation entraînant l'élévation de la perméabilité vasculaire, ce qui facilite l'afflux des cellules dans le foyer inflammatoire (Drummond, 2010).

- La diapédèse des cellules phagocytaires suite à l'adhérence des cellules à la paroi endothéliale des vaisseaux sanguins et leur passage entre les cellules endothéliales vers le tissu (l'extravasation) (Zlatanova, 2017).

- La migration à travers le tissu vers le site de l'invasion. Les cellules phagocytaires s'accumulent et commencent alors à phagocyter l'agent pathogène. Elles libèrent dans le foyer inflammatoire des enzymes lytiques, ce qui peut endommager les cellules avoisinantes. L'accumulation de cellules mortes ainsi que le matériel qui résulte de la digestion forme ce qu'on appelle l'exsudat (Zlatanova, 2017).

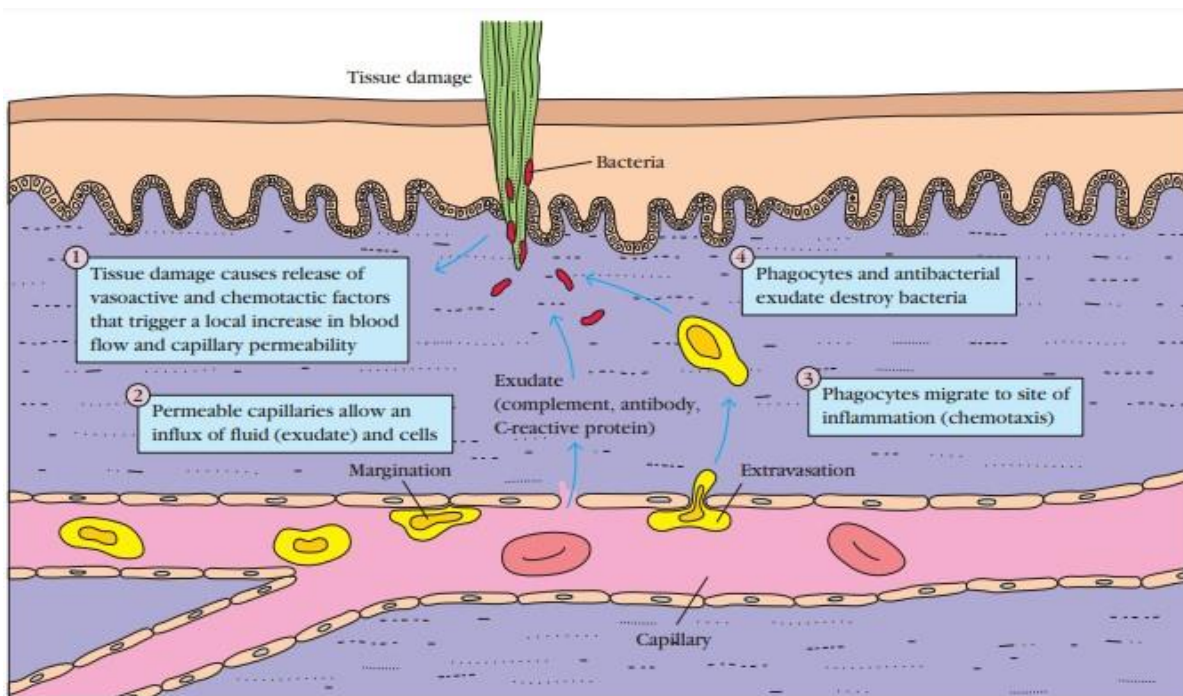


Figure 1: Évènements majeurs de la réponse inflammatoire (Kindt et al., 2007).

2.1.2. Résolution de l'inflammation

Une réponse inflammatoire réussie est suivie par une phase de résolution qui rétablit l'homéostasie. La résolution de l'inflammation aiguë est un processus actif et contrôlé par une variété de médiateurs endogènes qui comprennent des cytokines et autres médiateurs anti-inflammatoires (Clish et al., 2000 ; Serhan, 2014).

Ce processus de résolution comprend :

- la réduction ou l'arrêt de l'infiltration tissulaire par les neutrophiles et l'apoptose des neutrophiles épuisés par efferocytose.
- la contre-régulation des chimiokines et des cytokines.
- la transformation des macrophages de cellules classiquement activées en cellules activées alternativement.
- l'initiation de la guérison (Serhan et Savill, 2005).

2.2. Inflammation chronique

L'inflammation chronique est un état pathologique prolongé qui peut persister pendant plusieurs mois à plusieurs années (Parham, 2015). Elle peut être la suite d'une inflammation aiguë ou se présenter sous une forme prolongée de bas grade. Elle se caractérise par une inflammation continuellement active et une destruction tissulaire simultanée aux tentatives de réparation, souvent aboutissant à des fibroses (Palavra et al., 2015). Dans ce cas, le foyer inflammatoire est marqué par une infiltration de cellules immunitaires mononucléaires telles que les monocytes, les macrophages, les lymphocytes et les plasmocytes (Buckley et al., 2015).

3. Cellules impliquées dans la réaction inflammatoire

La réaction inflammatoire est orchestrée par plusieurs types cellulaires (Figure 2) qui interviennent à des temps différents (Berrada, 1990):

3.1. Neutrophiles

Les neutrophiles, qui représentent 70 % des leucocytes circulants dans le sang humain, ont une courte durée de vie dans la circulation et survivent jusqu'à 7-10 heures (Tak et al., 2013). Cependant, en cas d'inflammation, ils peuvent survivre jusqu'à 48 heures, voire plus.

Lors d'une agression inflammatoire, les neutrophiles migrent rapidement vers les foyers de lésion ou d'infection. Jouant souvent le rôle de premiers intervenants, elles contribuent à la défense de l'hôte par plusieurs mécanismes : phagocytose, dégranulation, production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) (Robb et al., 2016).

3.2. Monocytes et Macrophages

Les monocytes contiennent de nombreux granules qui renferment principalement des enzymes lysosomales aidant à la destruction des micro-organismes phagocytés internalisés. En l'absence d'inflammation, les monocytes sont normalement confinés dans la moelle osseuse et le

sang. Cependant, en cas d'agression inflammatoire, ils migrent rapidement vers les tissus enflammés et se différencient en macrophages phagocytaires résidents tissulaires de grande taille (Robb et al., 2016).

3.3. Mastocytes

Les mastocytes, présents dans la peau et les tissus muqueux/conjonctifs, sont censés jouer un rôle dans la cicatrisation et la réparation des tissus. Ils se concentrent préférentiellement dans les tissus muqueux/conjonctifs pour assurer une défense immunitaire innée contre les agents pathogènes (Borish et Joseph, 1992).

Les mastocytes peuvent libérer, par dégranulation, de puissants médiateurs inflammatoires tels que l'histamine, les protéases, les facteurs chimiotactiques, les cytokines et les métabolites de l'acide arachidonique (Borish et Joseph, 1992).

3.4. Cellules natural killer et cellules dendritiques

Les cellules Natural killer (NK) sont des lymphocytes cytotoxiques qui peuvent jouer un rôle à la fois bénéfique et néfaste dans l'asthme (Maladie inflammatoire chronique des voies respiratoires), la grippe et la tuberculose. Cependant, on en sait encore peu sur la manière dont les fonctions de ces cellules sont régulées dans l'environnement tissulaire spécifique de chaque maladie (Culley, 2009).

Les cellules dendritiques sont les messagers entre le système immunitaire inné et le système immunitaire adaptatif (Cellules présentatrices de l'antigène) (Robb et al., 2016).

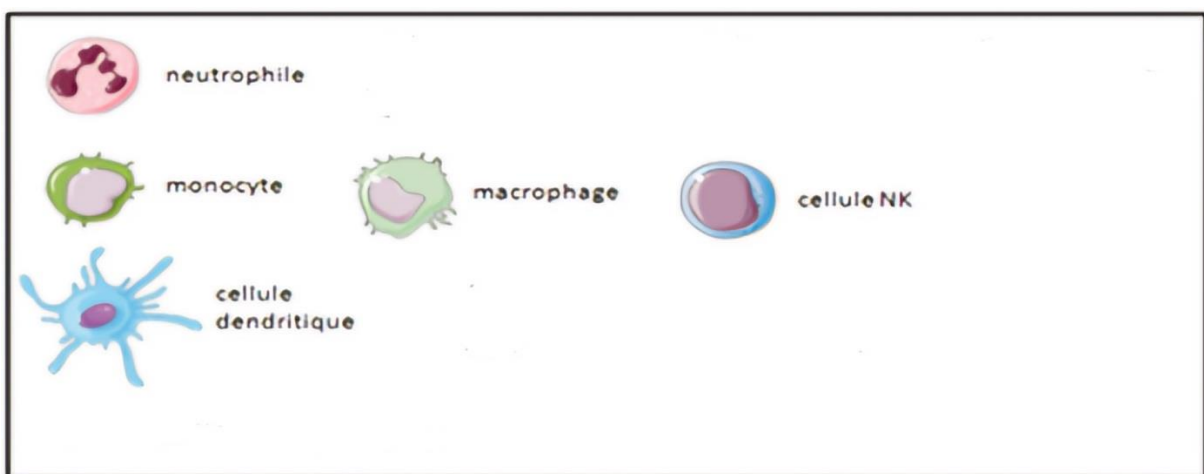


Figure 2: Illustration des cellules inflammatoires (Mayol, 2024).

4. Médiateurs de la réaction inflammatoire

Les principaux médiateurs de la réaction inflammatoire sont :

4.1. Histamine

L'histamine est une amine vasoactive, affecte l'inflammation à travers l'activation de voies intracellulaires qui induisent la production de médiateurs inflammatoires et de cytokines dans différentes cellules immunitaires (Anna Cláudia et al., 2018). Elle provoque une vasodilatation des vaisseaux et une perméabilité vasculaire accrue (Mahony et al., 2011).

4.2. Médiateurs lipidiques de l'inflammation

Lorsqu'une cellule (phagocyte ou mastocyte) détecte un signal de danger, elle active la phospholipase A2 (via la stimulation par le $TNF\alpha$). Cette enzyme transforme les acides gras de la membrane plasmique de la cellule en leucotriènes, prostaglandines et Facteur d'Activation des Plaquettes (PAF). Ces composés sont chimiotactiques pour les neutrophiles et les macrophages, et favorisent l'augmentation de la dilatation des vaisseaux sanguins et de leur perméabilité. Cela facilite ainsi l'arrivée des leucocytes sur le site de l'inflammation (Flamand, 2022).

- **Leucotriènes**

Les leucotriènes sont des médiateurs d'origine lipidiques (Back, 2019) ils sont libérés lors de réactions inflammatoires et d'hypersensibilité immédiate (Hop et al., 1984). Ces médiateurs sont de nouveaux métabolites de l'acide arachidonique (Back, 2019) produits par les leucocytes, surtout les polynucléaires neutrophiles et basophiles, et par d'autres cellules de l'inflammation (monocytes, macrophages) sous l'action de divers stimuli enzymatiques et/ou immunologiques (Boyer, 2005). Les actions des leucotriènes sont médiées par des récepteurs spécifiques et, dans certains organes, leur mécanisme d'action implique une stimulation de la formation de prostaglandines et de thromboxanes (Back, 2019).

- **Prostaglandines**

Les prostaglandines sont des lipides dérivés de l'acide arachidonique. Elles jouent un rôle clé dans la génération de la réponse inflammatoire. Leur biosynthèse est significativement augmentée dans les tissus enflammés et ils contribuent au développement des signes cardinaux de l'inflammation aiguë (Emanuela et al., 2012).

4.3. Cytokines pro-inflammatoires

Les cytokines sont des petites protéines synthétisées et libérées par leur cellule d'origine sous l'influence de stimulus variés. Au niveau de la réponse immunitaire, elles jouent un rôle

dans la communication entre les cellules immunes et l'orientation de la réponse en fonction de la nature du signal détecté (Mayol, 2024).

- **Tumor Necrosis Factor α (TNF α)**

Cette cytokine est générée par diverses cellules, notamment les macrophages, les cellules dendritiques résidentes et les mastocytes. Son rôle est de favoriser l'expression de molécules d'adhérence et la production de chimiokines par les cellules endothéliales, facilitant ainsi le recrutement des leucocytes sanguins vers la zone inflammatoire. De plus, elle stimule la production de facteurs de croissance nécessaires à la réparation des tissus endommagés (Revillard, 2001).

- **Interleukine-1**

L'interleukine-1 (IL-1) est produite par diverses cellules : les macrophages, les monocytes, les cellules dendritiques, présentes dans tous les tissus, une fois qu'elles reconnaissent les motifs moléculaires associés aux pathogènes (PAMP). Comme le TNF α , l'IL-1 stimule l'expression de molécules d'adhésion sur l'endothélium des vaisseaux sanguins, ce qui facilite le déplacement des leucocytes circulants vers les zones enflammées (Boyer, 1999).

Un de ses rôles majeurs est l'induction de la fièvre en agissant directement sur les centres de régulation de la température corporelle situés dans l'hypothalamus (Gilroy et al., 2023).

- **Interleukine-6**

L'interleukine-6 (IL-6) est produite par les phagocytes (macrophages et cellules dendritiques) et les cellules endothéliales en cas d'inflammation. Son action se traduit par l'activation locale des phagocytes et la modification de l'endothélium. Elle contribue au recrutement des monocytes sanguins vers les tissus et à la production de protéines de la phase aiguë par les hépatocytes (Menet et al., 2001).

4.4. Chimiokines

Les chimiokines sont des cytokines impliquées dans la migration cellulaire. Elles sont produites par diverses cellules en réponse à des signaux de danger, et créent ainsi un gradient qui guide la migration des leucocytes vers les zones enflammées (Chen et al., 2017).

4.5. Protéines de la phase aiguë

Elles sont produites lors de la phase aiguë de l'inflammation. Deux exemples notables sont les pentraxines, protéine C-réactive (CRP) et amyloïde sérique P (SAP). Toutes deux agissent

comme des opsonines puissantes, favorisant la phagocytose des agents pathogènes par les macrophages (Zamora et Garmy-Susini, 2022).

La CRP est rapidement synthétisée en réponse à l'IL-6, et son dosage dans le sérum est utilisé en clinique pour diagnostiquer une inflammation (Zamora et Garmy-Susini, 2022).

5. Traitement de l'inflammation

La thérapeutique anti-inflammatoire est destinée à contrôler et à éviter la transformation de la phase aigüe en phase chronique (Muster, 2005):

5.1. Anti-inflammatoires non-stéroïdiens

Les anti-inflammatoires non-stéroïdiens (AINS) regroupent un ensemble de molécules présentant des propriétés anti-inflammatoires, antipyrétiques et analgésiques, mais qui peuvent également engendrer des effets secondaires parfois graves. Leur efficacité, comme leurs principaux effets secondaires sont liés à leur mécanisme d'action principal qui est une inhibition de la cyclo-oxygénase (COX), enzyme responsable de la biosynthèse des prostaglandines et du thromboxane (Bacchi, 2012). Les AINS classiques, c'est-à-dire non sélectifs, inhibent les deux isoformes de la COX (COX-1 et COX-2), contrairement aux AINS sélectifs de la COX-2 (coxib) (Bacchi, 2012).

5.2. Anti-inflammatoire stéroïdiens

Les glucocorticoïdes ont, comme les AINS, une action inhibitrice de la synthèse des prostaglandines. Cette action s'exerce principalement sur la phospholipase A2 (PLA2), en amont du métabolisme de l'acide arachidonique par la cyclo-oxygénase. Les glucocorticoïdes ont cependant une action plus large que les AINS, action à la fois cytoplasmique et génomique, ayant pour conséquences une modulation de la transcription et de l'expression des médiateurs (bradykinine, histamine...), des cytokines (interleukine 1 et 2, TNF,...) (Rhen et Cidlowski, 2005).

Chapitre 2 : Venin d'abeille

يقول الله عز وجل في سورة النحل: "وأوحى ربك إلى النحل أن اتخذي من الجبال بيوتاً ومن الشجر ومما يعرشن (68) ثم كُلّي من كلّ الثمرات فاسلُكي سُبُلَ ربك ذللاً يخرج من بُطونها شرابٌ مختلفٌ ألوانُهُ فيه (شِفَاءٌ لِلنَّاسِ إِنَّ فِي ذلِكَ لآيَةً لِقَوْمٍ يَتَفَكَّرُونَ)69".

1. Apithérapie

L'apithérapie ou « médecine des abeilles » consiste à prévenir et traiter certaines pathologies aiguës ou chroniques par les produits biologiques issus ou extraits de l'abeille ou transformés par elle : le miel, la cire, la propolis, le pollen, la gelée royale et le venin (Dillenseger, 2019). Bien que connus et employés depuis la plus haute antiquité, l'utilisation de ces produits connaît, ces dernières années un important regain d'intrêt. Les multiples études, les nombreux articles et la commercialisation de divers produits thérapeutiques prouvent leur efficacité et leur bénéfice dans la santé de l'Homme (Dillenseger, 2019). Seule ou en association avec d'autres médicaments, l'apithérapie apparaît à la fois comme une alternative et une médecine complémentaire aux traitements (pauline, 2015).

2. Venin d'abeille

Le venin d'abeilles est d'une apitoxine (biotoxine) synthétisée et sécrétée par deux glandes (appelées lubrifiante et venimeuse) présentes dans la cavité abdominale de l'insecte. Il est composé d'un mélange complexe de plusieurs molécules biologiquement actifs incluant : des peptides, des enzymes, des amines bioactifs ainsi que des composants non peptidiques caractérisés par une variété de propriétés pharmaceutiques (Chanchao et Premratanacha, 2014).

Une fois injectée aux victimes par un dard, l'apitoxine induit une réponse immunitaire en provoquant une inflammation locale (Bae et Lee, 2016).

3. Composition

La composition du venin d'abeille est variable selon la race, l'âge et la nourriture de l'abeille. Il est constitué à 85 % d'eau, et le reste est composé par (Weickmann, 2006) :

- De la mélittine (50 % de la matière sèche) : c'est un peptide responsable en partie de la douleur liée à la piqûre.
- Des enzymes (phosphatases et hyaluronidases) (14 % de la matière sèche) : ce sont des allergènes puissants dont l'action est potentialisée par la mélittine, à l'origine de la douleur mais également des bienfaits du venin.
- Des acides aminés (11 %).
- Des glucides (1 à 2 %) : sont surtout des sucres simples.

- De l'apamine (2 %) : c'est un neurotoxique du système nerveux central, également anti-inflammatoire.
- De l'adolapine (1 %), un anti-inflammatoire et analgésique ;il induit la libération d'histamine.
- Des phospholipides, Cardiopeptide et Peptide Mast Cell Degranulation (MCD) (Cherbuliez et Domerego, 2003 ; Guy, 2014 ; Domerego et al., 2016).

4. Propriété physico-chimique

Le venin d'abeille est un liquide clair au goût amer, parfumé et piquant, d'une densité spécifique de 1,13 et d'un pH de 4,5 à 5,5 (Bhalotia et al., 2016 ; Szabat et al., 2019). Lorsque le venin d'abeille entre en contact avec l'air, il sèche et cristallise rapidement (Kolayli et Keskin, 2020). Le venin séché prend une couleur jaune clair et certaines préparations commerciales sont brunes, probablement à cause de l'oxydation de certaines protéines du venin. Il est soluble dans l'eau et insoluble dans l'alcool et le sulfate d'ammonium. Le venin d'abeille contient un certain nombre de composés très volatils, qui se perdent facilement lors de la collecte (Ali, 2012).

5. Récolte du venin et système d'extraction

La principale méthode de collecte du venin d'abeille consiste à stimuler les abeilles avec un courant électrique (Benton et al., 1963 ; Morse et al., 1964 ; Gunnison, 1966 ; Norbe et al., 1990) :

- Le venin est recueilli à l'aide d'un collecteur (Figure 3), Il s'agit d'une plaque en verre sur lequel on a tendu des fils mis sous tension avec des piles ou une batterie.
- En touchant les fils, l'abeille vide sa vésicule à venin. Après que quelques abeilles ont déchargé leur venin sur la plaque, la colonie réagit en attaquant le collecteur. Des milliers d'abeilles perdent alors leur venin. Le venin sèche sur la plaque de verre et peut être ensuite recueilli par grattage.
- Le produit obtenu est une poudre gélifiée. Il est indispensable de porter des gants pour ne pas toucher directement le venin et de porter un masque facial pour ne pas en aspirer.
- Le collecteur à venin est mis en marche pendant une heure devant la ruche et est ensuite retiré.

-Pendant et après l'usage du collecteur, la colonie d'abeilles et les autres essaims à proximité peuvent se montrer très agressifs. Il est donc judicieux de procéder dans un endroit isolé.

- L'opération ne peut se faire que quelques fois par an car la colonie risque autrement de trop s'affaiblir et, par conséquent, de produire moins de miel (Mutsaers et al., 2005).

Quand la colonie d'abeilles est forte, on peut récolter environ 1g par opération. Le venin peut être transformé dans sa forme brute ou dans une forme épurée. L'épuration doit se faire en respectant des règles strictes. Les apiculteurs peuvent aussi livrer du venin brut à des laboratoires reconnus et certifiés (Mutsaers et al., 2005).



Figure 3 : Electro-stimulateur utilisé pour la récolte du venin d'abeille (Hameurlaine, 2019).

6. Conservation du venin d'abeille

La conservation du venin d'abeille nécessite des méthodes spécifiques adaptées à la durée de stockage souhaitée (Marcia et al., 2020) :

a. Stockage à court terme:

Le venin séché ou les extraits de venin, obtenus par stimulation électrique suivis d'une remise en suspension avec de l'eau/du tampon, peuvent être conservés au réfrigérateur dans une bouteille sombre bien fermée pendant quelques semaines (Krell, 1996).

b. Stockage à long terme:

Pour prolonger la durée de conservation (plusieurs mois), le venin sec et les extraits de venin doivent également être conservés dans des flacons ambrés très bien fermés, mais congelés à -80°C (Dirk et al., 2020).

7. Venin d'abeille et hypersensibilité

De nos jours, le venin d'abeille est considéré comme un remède thérapeutique préférable à la médecine de synthèse contre de nombreuses maladies. Mais l'application du venin d'abeille provoque parfois des réactions allergiques et anaphylactiques, ces réponses allergiques sont dues à la présence, au sein du venin, de multiples allergènes protéiques dont la plupart possèdent une activité enzymatique. Les principaux allergènes du venin d'abeille (inducteurs spécifiques de l'immunoglobuline E (IgE)) sont la PLA₂, la mélittine et la hyaluronidase (Bernard et al., 2000). Chez les personnes sensibles, l'administration de 100 µg/mL du venin d'abeille au corps humain peut entraîner de graves conséquences telles qu'une paralysie des membres, des douleurs, une dyspnée, des nausées, une perte de conscience et une instabilité lymphocytaire, etc. De plus, les doses de 2,8 mg à 3,5 mg de venin d'abeille/kg de corps humain peut être mortel (Dose létale 50) pour une personne allergique (Pucca et al., 2019).

La gravité de l'application du venin d'abeille dépend principalement du poids corporel individuel, de l'âge, du nombre de piqûres, de l'immunité et de la sensibilité préalable (Pucca et al., 2019). L'effet d'une piqûre d'abeille sur le corps hôte peut être local ou systémique. La réaction locale comprend une rougeur du site de la piqûre, un gonflement et un œdème (Annala, 2000). Les réactions systémiques dépendent des effets des allergènes présents dans le venin qui peuvent développer un angio-œdème, de l'urticaire, des vomissements, du prurit et de la diarrhée chez les patients allergiques (Fitzgerald et al., 2006).

8. Valeurs thérapeutiques du venin d'abeille

La thérapie au venin d'abeille a été largement utilisée pour traiter diverses affections, notamment les maladies douloureuses et neurologiques telles que la sclérose latérale amyotrophique (SLA) et la maladie de Parkinson (MP) (Yang et al., 2010 ; Tanner et al., 2011). Le venin d'abeille possède des propriétés antidiabétiques, abaissant la glycémie et augmentant la sécrétion d'insuline (Mousavi et al., 2012). Il a également des effets endocriniens, augmentant les hormones thyroïdiennes et hypothalamiques (Shkenderov et al., 1983 ; Asafova et al., 2001). Chez des personnes non allergiques le venin d'abeille :

- Stimule l'afflux de sang dans les tissus et la perméabilité des membranes cellulaires.
- Les vaisseaux se dilatent et la tension baisse.

- Le venin d'abeille assouplit les muscles et apaise les douleurs musculaires grâce à l'acide lactique qui se répand dans les tissus.

- Le venin peut aussi diminuer ou augmenter la production d'urine (Mutsaers et al., 2005).

A faible dose, la mélittine inhibe les cytokines pro- inflammatoires comme l'IL-6, l'IL-8, le TNF- α et l'IFN- γ . Par ailleurs, il a été montré que le peptide MCD, inhibe les cyclooxygénases et la formation des prostaglandines dans la cascade de l'acide arachidonique. Cette activité explique que le venin d'abeille soit utilisé dans les pathologies inflammatoires comme l'arthrite, les dermatites, les névrites, les hépatites et la sclérose en plaque. Dans ce contexte, les thérapeutes utilisent principalement l'apithérapie (Wehbe et al., 2019).

Matériel et Méthodes

1. Matériel

1.1. Animaux d'étude

Cette recherche a été menée sur des rats mâles (Albinos Wistar) (Figure4) pesant entre 210 et 270 g, ces animaux ont été achetés auprès de l'Institut Pasteur d'Alger, Algérie. Tous les animaux ont été gardés pour s'acclimater sous les conditions de laboratoire pendant deux semaines et ont reçu régime alimentaire standard pour rongeurs et eau à volonté. Les animaux étaient au hasard sélectionnés pour différents groupes expérimentaux (6-8 animaux/groupe). Toutes les procédures ont été effectuées conformément aux lignes directrices de l'Union Européenne pour Expérimentation sur les animaux.

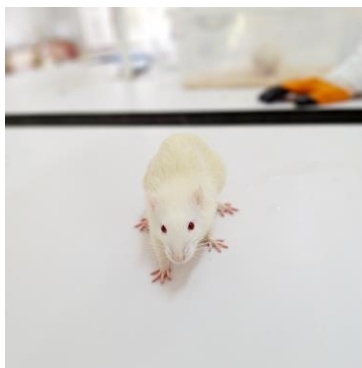


Figure 4 : Photo présente un rat mâle (Albinos Wistar).

1.2. Solutions de travail

Les solutions de travail utilisées dans cette étude sont :

- Venin d'abeille achetée auprès d'une société de production de Béjaia : dissous dans NaCl 0.9% stérile.
- Solution de xylène
- λ - carraghénane (1 %) : dissous dans NaCl 0.9% stérile.
- Solution de lavage péritonéal NaCl 0.9% stérile.
- Solution Turk préparée en mélangeant 1 ml de violet de gentiane avec 1ml d'acide acétique et le volume est complété à 100 ml avec de l'eau distillée.
- Chloroforme
- Aspirine

2. Méthodes

2.1. Solubilisation du venin d'abeille

Le venin d'abeille utilisé a été dilué (Figure 5) à une concentration de 0,8 mg/kg dans NaCl 0.9% stérile. Le dosage de venin d'abeille dilué a été sélectionné sur la base de rapports antérieurs des laboratoires (Jang-hern et al., 2001) qui ont montré qu'une dose de 0,8 mg/kg de venin d'abeille produisait l'effet anti-inflammatoire maximal sans aucun effet secondaire significatif, tel que des réactions allergiques ou des comportements nociceptifs.



Figure 5 : Venin d'abeille dilué.

2.2. Etude *in vivo* de l'activité anti inflammatoire du venin d'abeille

Dans cette recherche, nous avons étudié l'effet anti-inflammatoire du venin d'abeille à travers divers modèles expérimentaux d'inflammation induite chez le rat. Parmi ces modèles, nous avons utilisé l'œdème de l'oreille provoqué par le xylène, la péritonite induite par la λ -carraghénane et le test d'immersion de la queue.

2.2.1. Œdème de l'oreille induit par le xylène

Pour évaluer l'effet anti-inflammatoire *in vivo* du venin d'abeille, nous avons utilisé le test d'œdème d'oreille induit chez les rats par l'xylène selon le protocole de Young-Doo et ces collaborateurs (2008). Le venin d'abeille a été injecté aux rats par voie sous-cutanée une demi-heure avant l'induction de l'œdème par l'application topique de 60 μ l de xylène sur la face interne et externe de l'oreille gauche de chaque rat des trois groupes à l'aide d'une micropipette. L'épaisseur des deux oreilles est mesurée avant l'application du xylène (t0) et toutes les 60 min durant 3H (t1, t2, t3) après l'induction de l'inflammation par un pied à coulisse digital (Figure 6).

Dans cette étude, 3 Groupes de 6 rats ont été formés comme suit :

Groupe contrôle (+) : Les rats ont reçu 60 μ l de xylène et ne sont traités par aucune substance.

Groupe test : Les rats ont reçu 200 μ l du venin d'abeille par voie sous-cutanée (dans le dos), une demi-heure avant l'application du xylène.

Groupe référence : Administration orale de 1ml de l'acide salicylique (200mg/Kg) une heure avant l'application du xylène.



Figure 6 : Photos de test d'œdème de l'oreille.

2.2.2 Induction de la péritonite chez les rats par la λ - carraghénane

Pour en savoir plus sur l'effet anti-inflammatoire du venin d'abeille, nous avons mené une étude de péritonite induite par la λ - carraghénane selon la méthode décrite par Prekar et ses collaborateurs (2015) à laquelle certaines modifications ont été introduites. Nous avons injecté 0,2 ml d'une solution de λ - carraghénane (1 %) dans la cavité péritonéale des rats pour provoquer la péritonite, tandis que le venin d'abeille était administré par voie sous-cutanée (Figure 7).

Trois groupes de rats ont été constitués :

Groupe contrôle(+) : les rats ont reçu seulement l'injection de λ - carraghénane.

Groupe contrôle(-) : les rats ont reçu seulement l'injection de NaCl 0.9% stérile.

Groupe test : les rats ont reçu une injection sous-cutanée (dans le dos) de 200 μ l du venin d'abeille une demi-heure avant l'injection de λ - carraghénane.

Groupe référence : Administration orale de 1ml de l'acide salicylique (200mg/Kg) une heure avant l'induction de la péritonite.

Quatre heures après l'injection de λ -carraghénane, les rats sont sacrifiés par asphyxie au chloroforme. La cavité péritonéale est ensuite immédiatement ouverte et lavée avec 2 ml d'eau

physiologique à 0,9 %. Le liquide de lavage péritonéal est collecté à l'aide d'une micropipette et coloré avec une solution Turk avant d'être compté sur une lame de Malassez pour déterminer le nombre de neutrophiles présents (Figure 7).

Le nombre de leucocytes est calculé selon la formule suivante :

$$\mathbf{Nb = N \times F \times 1000 \times V}$$

Nb : nombre total de leucocyte.

N : nombre de leucocyte par champs de lecture.

V : volume du liquide aspiré depuis la cavité péritonéale.

F : Facteur de dilution.

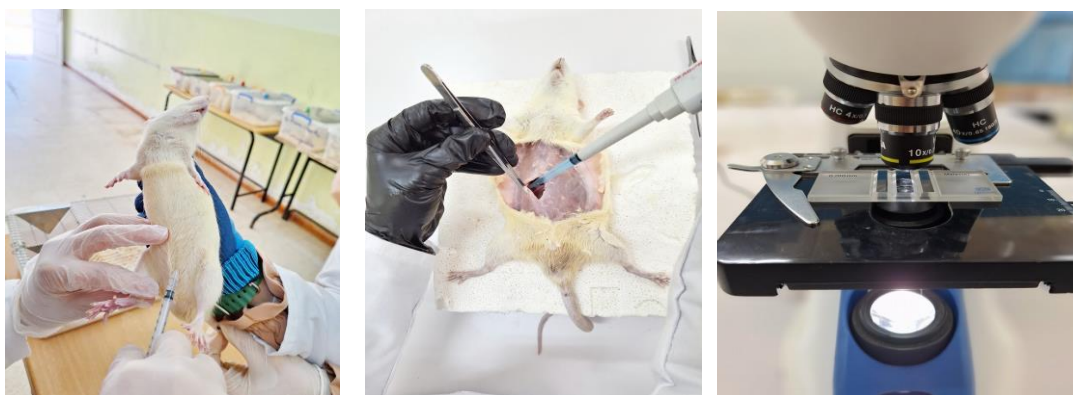


Figure 7 : Photos de test de la péritonite.

2.2.3 Etude *in vivo* de l'activité analgésique

Nous avons également mené une étude pour évaluer son effet analgésique par le test d'immersion de la queue des rats (Figure 8) selon le protocole d'Arselan et ses collaborateurs (2015). Le principe de ce test consiste à réduire par le venin d'abeille la douleur provoquée suite à l'immersion du bout de la queue des rats (environ 2cm) dans de l'eau chaude maintenue à 55°C et à mesurer le temps de réaction (temps au bout duquel le rat réagit en retirant la queue de l'eau) Après 30 min, 1h, 1h et 30min et 2h de traitement des rats.

Dans cette étude, 3 groupes de 6 rats ont été étudiés comme indiqué ci-dessous :

Groupe témoins : le temps de réaction est mesuré avant l'administration du traitement aux rats.

Groupe test : les rats reçoivent l'injection de 200 μ L du venin d'abeille par voie sous cutané (dans le dos) une demi-heure avant l'immersion.

Groupe référence : Administration orale de 1ml de l'acide salicylique (200mg/Kg) une heure avant la première immersion.

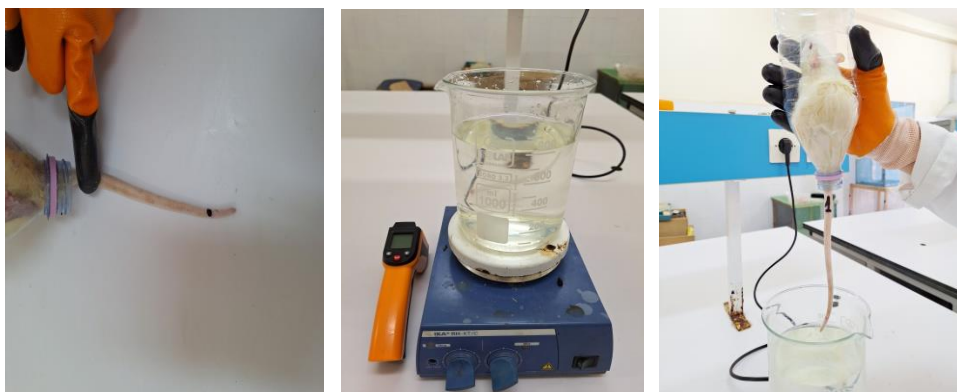


Figure 8 : Photos de test de l'immersion de la queue.

3. Etude statistique

Les résultats in vivo sont présentés sous forme de moyenne arithmétique (M) des n valeurs obtenues \pm l'écart moyen (SEM) [M \pm SEM], n=6. Le test T de Student est utilisé pour évaluer la signification des effets des différentes substances testées in vivo et les différences sont considérées significatives pour $p < 0,05$: (*), $p < 0,01$: (**).

Résultats et discussion

1. Résultats

Cette recherche visait à évaluer les propriétés anti-inflammatoires du venin d'abeille. Pour cela, nous avons testé l'activité du venin d'abeille dissous dans une solution de NaCl en utilisant deux modèles d'inflammation aiguë chez le rat : la péritonite induite par injection de carraghénane et l'œdème de l'oreille provoqué par le xylène. En outre, nous avons examiné les effets analgésiques du venin d'abeille en utilisant le test de l'immersion de la queue.

1.1. Effet du venin d'abeille sur l'œdème de l'oreille induit par le xylène

L'inflammation aiguë provoquée par le xylène se manifeste par des symptômes typiques tels que la rougeur, la chaleur, le gonflement et la douleur. Ainsi, mesurer l'œdème constitue une méthode efficace pour quantifier l'inflammation cutanée induite par le xylène. L'épaisseur de l'oreille de chaque rat est déterminée à l'aide d'un pied à coulisse digital. Les résultats du contrôle positif montrent que l'épaisseur de l'oreille avant traitement est d'environ 0,37 mm.

Suite à l'application du xylène un œdème d'oreille se développe atteignant son pic après 2 heures avec une mesure d'environ $0,68 \pm 0,05$ mm (Figure 9) par la suite le gonflement diminue progressivement pour atteindre environ $0,63 \pm 0,07$ mm après 3h (Figure 9).

Les rats traités par le venin d'abeille une demi-heure avant l'application topique de xylène dans l'oreille ont enregistré une augmentation mineure de l'épaisseur de l'oreille. En effet, l'application de venin d'abeille sur l'oreille du rat a grandement réduit le développement de l'inflammation. En fait, nous avons observé une réduction notable de l'épaisseur de l'oreille de plus de 28% ($p < 0.05$) par rapport au contrôle au bout de la première heure pour atteindre un maximum au bout de la 3ème heure où l'œdème s'est vu réduire de près de 37% ($p < 0.01$). Cet effet inhibiteur est très similaire à celui de l'aspirine, qui a empêché l'inflammation de l'œdème.

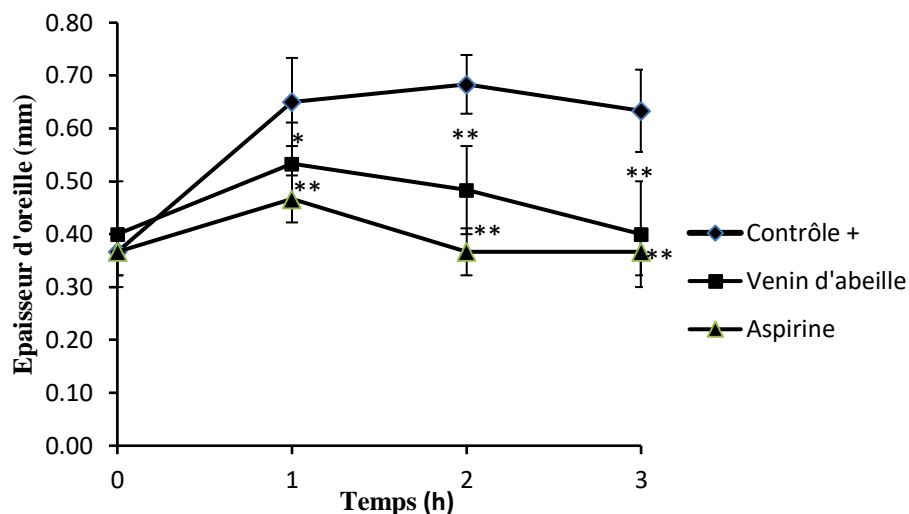


Figure 9 : Évolution de l'épaisseur de l'oreille suite à l'apparition de l'œdème induit par le xylène après l'utilisation du venin d'abeille en fonction du temps, les résultats sont présentés en moyenne \pm SEM pour $n=6$; ** Si $p<0.01$; * Si $p<0.05$ par rapport au contrôle + (test de student).

1.2. Effet du venin d'abeille sur la péritonite induite par la λ -carraghénane

La péritonite induite par l'injection de la λ -carraghénane chez les rats est utilisée dans cette étude comme modèle d'inflammation aiguë afin d'évaluer l'efficacité anti-inflammatoire du venin d'abeille. Le nombre de leucocytes dans la cavité péritonéale est mesuré quatre heures après l'induction de la péritonite.

Dans le groupe contrôle négatif, où les rats ont reçu une injection intra-péritonéale de NaCl 0,9 % stérile, le nombre de leucocytes était faible, ne dépassant pas $4,17 \times 10^6 \pm 1,17$ neutrophiles (Figure 10). En revanche, dans le groupe contrôle positif, les rats ont montré une augmentation significative des neutrophiles, représentant environ $89,8 \times 10^6$ neutrophiles (Figure 10).

L'injection du venin d'abeille entraîne une diminution très importante ($p<0,01$) de la péritonite chez les rats, qui ont montré près de 46×10^6 neutrophiles/rat dans leurs cavités péritonéales, soit une inhibition de près 49% (Figure 10).

L'aspirine, l'anti-inflammatoire de référence a donné un effet un peu plus important avec un nombre de neutrophiles recrutés dans la cavité péritonéale de près de $13,2 \times 10^6$ neutrophiles/rat) avec une inhibition de la péritonite de près de 85%.

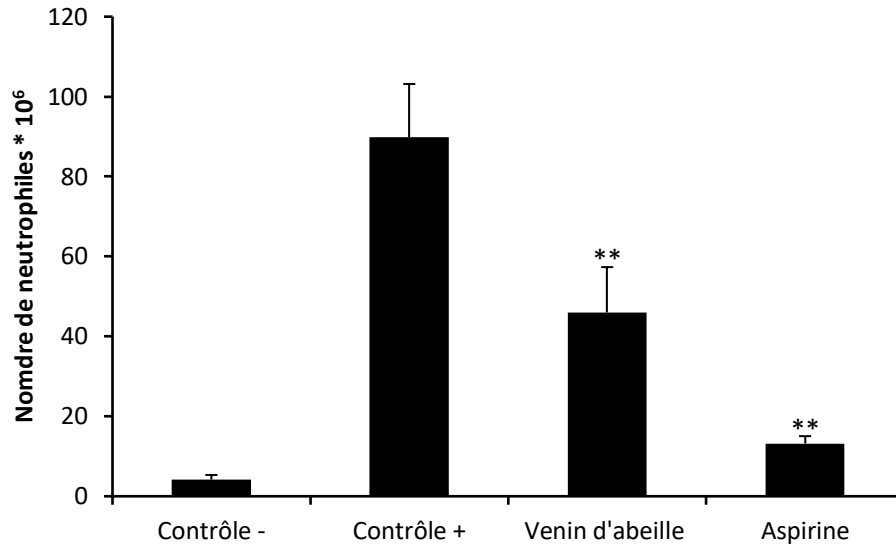


Figure 10 : Effet du venin d'abeille sur le nombre de leucocytes recrutés au niveau de la cavité péritonéale après l'injection intrapéritonéale de 0.2ml de la λ -carrageenane 1%. Les rats sont traités par 200 μ L dans le dos. Les deux histogrammes représentent la moyenne (n=6) \pm SEM ; ** Si $p < 0.01$; * Si $p < 0.05$ (test de student).

1.3. Évaluation de l'activité analgésique du venin d'abeille

Pour évaluer l'effet analgésique du venin d'abeille, nous avons réalisé cette fois un test d'immersion de la queue. Lorsqu'on plonge la queue des rats dans de l'eau chaude, ils réagissent par un retrait brusque. On mesure pour chaque rat le délai avant l'apparition de ce réflexe.

Les résultats apportés par ce test n'ont pas été concluants (figure 11). En effet, le venin d'abeille et l'anti-inflammatoire de référence n'ont donné aucun résultat significatif concernant le temps de réaction des rats au contact de l'eau chaude. Les conditions de réalisation seraient probablement à l'origine de ces résultats.

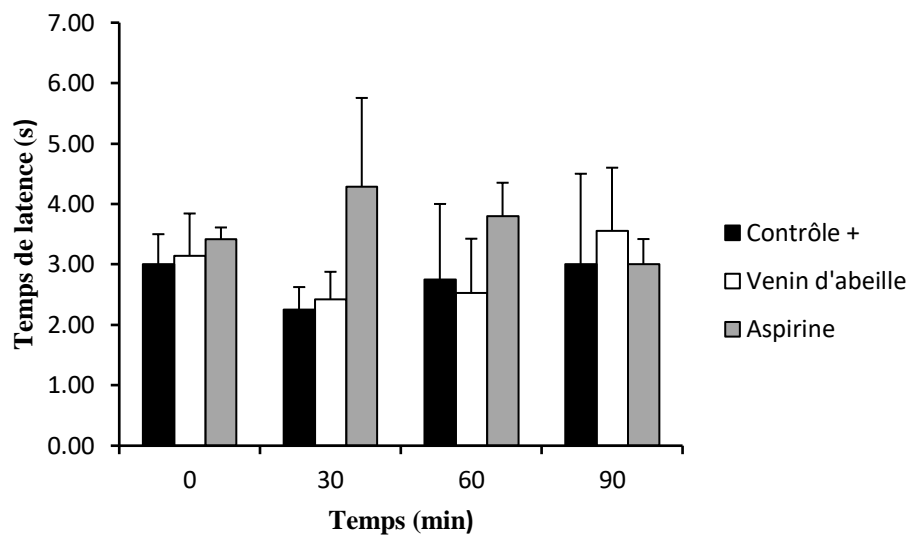


Figure 11 : Effet analgésique du venin d’abeille injecté au dos des rats suite au test de l’immersion de queue, les résultats sont présentés en moyenne \pm SEM pour $n=6$. (**) Si $p<0,01$, (*) Si $p<0,05$ par rapport au control (+) (test de student).

2. discussion

Notre recherche s'est focalisée sur l'examen des propriétés anti-inflammatoires et analgésiques du venin d'abeille. Pour mener cette étude, nous avons utilisé divers modèles expérimentaux *in vivo* d'inflammation, incluant le test de l'œdème de l'oreille induit par le xylène, la péritonite provoquée par la carraghénane et le test d'immersion de la queue.

2.1. Effet du venin d'abeille sur l'œdème de l'oreille induit par le xylène

L'inflammation aiguë se manifeste par des symptômes typiques tels que la rougeur, la chaleur, le gonflement et la douleur. L'œdème de l'oreille provoqué par le xylène présente ces mêmes caractéristiques. Après application de xylène, l'oreille des rats devient rouge et commence à gonfler. La mesure de cet œdème est donc un excellent moyen de quantifier l'inflammation cutanée. Cette méthode est largement utilisée pour étudier le processus inflammatoire.

L'application topique de xylène induit une inflammation cutanée au niveau des oreilles de souris (Lu et al., 2006) en provoquant une irritation instantanée de l'oreille, ce qui entraîne une accumulation de liquide et un œdème caractéristique de la réponse inflammatoire aiguë (Okol et al., 2006). Le xylène pourrait augmenter la perméabilité capillaire et l'infiltration des leucocytes (Akram Eïdi et al., 2015). L'activité anti-inflammatoire du venin d'abeille administré par injection sous cutanée dans le dos peut être attribuée à son composant principal la méllitine (Abdelwahab Khalil et Al., 2021). Lorsqu'elle est administrée à des doses élevées, la méllitine provoque des douleurs locales et une inflammation. Cependant, de faibles doses de ce composé peuvent induire de larges effets anti-inflammatoires (Rim Wehbe et al., 2019). En fait la méllitine agit en inhibant les cytokines inflammatoires comme l'interleukine-6 (IL-6), l'IL-8, le facteur de nécrose tumorale α (TNF- α). De plus, elle diminue les voies de signalisation qui activent les cytokines inflammatoires (Rim Wehbe et al., 2019). L'effet de la méllitine pourrait expliquer la diminution de l'œdème d'oreille chez les rats de manière remarquable

En se basant sur les résultats de notre étude, il est possible de tirer la conclusion que le venin d'abeille contient des composés qui possèdent un puissant effet anti-inflammatoire.

2.2. Effet du venin d'abeille sur la péritonite induite par la λ -carraghénane

La péritonite induite par l'injection de la λ -carraghénane chez les rats a été utilisée comme modèle d'inflammation aiguë pour évaluer les effets anti-inflammatoires du venin d'abeille. Effectivement, la λ -carraghénane est un polysaccharide soufré qui implique de nombreux

médiateurs qui déclenche la réaction inflammatoire. La PLA2 contribue à la production de ces médiateurs en libérant l'acide arachidonique, qui servent de précurseurs inflammatoires, dont l'histamine, la prostaglandine, les leucotriènes et la bradykinine (Hartman et al., 1991), Contribuant ainsi à la migration des neutrophiles vers le site de l'inflammation. Ils agissent en augmentant la perméabilité des vaisseaux sanguins et en favorisant la chimiotaxie, ce qui permet aux neutrophiles de se déplacer vers la zone infectée. La migration des neutrophiles est ainsi un signe caractéristique de l'inflammation. (Woolf et Costigan, 1999)

Nos résultats montrent que le venin d'abeille présente une activité anti-inflammatoire qui persiste tout au long de la durée du test (4 heures). La présence de mélittine (l'un des principaux composants du venin d'abeille) pourrait expliquer cela, car ils pourraient avoir une activité inhibitrice sur la PLA2, en amont du métabolisme de l'acide arachidonique par la cyclo-oxygénase. Une interruption de la cascade des médiateurs de l'inflammation se produit alors, ce qui diminue le recrutement des leucocytes au niveau du site inflammatoire. Cela pourrait expliquer la réduction de la quantité de leucocytes collectés dans la cavité péritonéale des rats traités par le venin d'abeille par rapport au contrôle positif.

1.3. Effet analgésique du venin d'abeille

Le test de l'immersion de la queue du rat dans de l'eau chaude n'a pas donné de résultats significatifs dans nos conditions expérimentales. Cela pourrait être attribué au stress des rats, les rendant agités et provoquant le retrait immédiat de leur queue dès son immersion dans l'eau chaude. Ce même résultat a été observé avec l'anti-inflammatoire de référence, malgré l'utilisation d'un dispositif spécial pour maintenir les rats en position stable et ne libérer leur queue qu'au moment de l'immersion. Il est nécessaire de revoir et d'ajuster les conditions expérimentales afin de les rendre favorables à la réalisation de ce test.

IV. Conclusion

Ce travail vise à évaluer les propriétés anti-inflammatoires du venin d'abeille. Pour ce faire nous avons mise en place deux modèles d'inflammation expérimentale chez le rat : la péritonite induite par la λ -carraghénane et l'œdème de l'oreille provoqué par le xylène. De plus, nous avons mené un test d'immersion de la queue pour examiner l'effet analgésique du venin d'abeille.

Les résultats obtenus au terme de cette étude mettent en évidence l'efficacité remarquable du venin d'abeille en tant qu'agent anti-inflammatoire. En effet, le test de l'œdème de l'oreille induit par le xylène a démontré que le venin d'abeille est pourvu d'un puissant effet anti-inflammatoire avec une inhibition presque totale de l'œdème. Cette activité est comparable à celle de l'aspirine qui est un anti-inflammatoire de référence.

En outre, la péritonite induite chez le rat carraghénane a montré que l'injection du venin d'abeille réduit de moitié le recrutement des neutrophiles dans la cavité péritonéale. Cependant, cette efficacité est nettement inférieure à celle de l'aspirine. Cet effet limité du venin d'abeille par rapport à l'anti-inflammatoire de référence s'explique par sa capacité à provoquer une inflammation locale.

Par ailleurs, le test de l'immersion de la queue indique que le venin d'abeille produit un effet analgésique significatif qui se manifeste progressivement avec le temps, devenant particulièrement notable après 1 heure et 30 minutes d'injection. L'effet analgésique commence légèrement mais augmente progressivement, surpassant les résultats obtenus précédemment et indiquant une amélioration notable par rapport au contrôle positif.

Ces études fournissent des perspectives importantes pour approfondir la recherche sur les effets et les mécanismes pharmacologiques du venin d'abeille ce qui pourrait devenir une alternative efficace aux anti-inflammatoires classiques, voire même dans le traitement de maladies pour lesquelles il est actuellement difficile de trouver des solutions.

Bibliographie

1. Ahmed O, F. H. (2017). Le venin d'abeille et l'hespéridine atténuent efficacement l'arthrite complète induite par l'adjuvant de Freund via l'immunomodulation et l'amélioration du système de défense antioxydant.
2. al, A. E. (2015). Antinociceptive and anti-inflammatory effects of the aerial parts of *Artemisia dracunculus* in mice.
3. Al, A. K. (2021). Bee Venom: From Venom to Drug.
4. Al, C. O. (2006). Anti-inflammatory activity of hexane leaf extract of *Aspilia africana* C.D. Adams.
5. Al, H. M. (2006). Anti-inflammatory effect of *Houttuynia cordata* injection.
6. AL-Ani, I. Z., Zimmermann, S., R. (2015). Pharmacological synergism of bee venom and melittin with antibiotics and plant.
7. Anna Cláudia Calvielli Castelo Branco, F. S. (2018). Rôle de l'histamine dans la modulation de la réponse immunitaire et de l'inflammation.
8. Annila, I. (2000). Bee venom allergy .
9. Avril, G. (2014). *La santé naturelle avec l'apithérapie : Miel, propolis, pollen, gelée royale*.
10. Bacchi S, P. P. (2012). Clinical pharmacology of non-steroidal anti-inflammatory drugs.
11. Back, M. (2019). Les leucotriènes : des cibles thérapeutiques potentielles dans le traitement des maladies cardiovasculaires. Leucotriènes : cibles thérapeutiques potentielles dans les maladies cardiovasculaires.
12. Benton, A. W. (1963). *Venom collection from honey bees*. science (New York, NY).
13. Bernard Maillère, S. P. (2000). Peptides et protéines aptes à désensibiliser les sujets allergiques au venin d'abeille et compositions les contenant.
14. Berrada, A. (1990). Interactions cellulaires et métastases : Rôle des glycoconjugués membranaires et modulation par certains médiateurs de la réaction inflammatoire.
15. Bhalotia S., K. N. (2016). Honey bee venom and its composition: Focusing on different apis species.
16. Borish L, J. B. (1992). Inflammation and the allergic response.
17. Boyer, J. (2005). Les leucotriènes Aspects biochimiques, mode de production et activité biologique : Perspectives d'avenir. Les leucotriènes. Caractéristiques biochimiques, mécanisme de production et activité biologique : perspectives d'avenir.

18. Boyer.A. (1999). *Caractérisation de cellules dérivées de monocytes : macrophages et cellules dendritiques à des fins thérapeutiques.*
19. Brian Cuzzo, S. L. (2023). *Physiology,leukotrienes.*
20. Buckley, C. B. (2015). *Stromal Cells in Chronic Inflammation and Tertiary Lymphoid Organ Formation.*
21. C., S. (2014). *Pro-resolving lipid mediators are leads for resolution physiology.*
22. Carpena M, N.-E. B.-L.-G. (2020). Carpena M, Nuñez-Estevez B, Sor Bee Venom : une revue actualisée de ses molécules bioactives et de ses applications en matière de santé.
23. Chanchao, P. P. (2014). *Review of the anti-cancer activities of bee products.*
24. Cherbuliez, T. D. (2003). *L'apithérapie - Médecine des abeilles.*
25. Clish C.B, S. C. (2000). *Novel functional sets of lipid-derived mediators with antiinflammatory actions generated from omega-3 fatty acids via cyclooxygenase2-nosteroidal antiinflammatory drugs and transcellular processing.*
26. Cornara L., B. M. (2017). . *Cor Propriétés thérapeutiques des composés bioactifs de différents produits apicoles. Devant. Pharmacol.*
27. Culley, F. (2009). *Natural killer cells in infection and inflammation of the lung. Immunology.*
28. D.Drummond, P. (2010). *L'inflammation contribue à la vasodilatation réflexe axonale évoquée par l'ionophorèse d'un agoniste des récepteurs adrénergiques alpha-1.*
29. Dillenseger, H. (2019). *Les bactériocines : en alternative aux traitements antibiotiques.*
30. Dirk C, M. R. (2020). *Méthodes standard pour la recherche sur le venin d'Apis mellifera.*
31. Domerego, R. I. (2016). *Guide pratique de la médecine des abeilles : miel, pollen, propolis, gelée royale...au quotidien.*
32. Emanuela Ricciotti, G. A. (2012). *Prostaglandins and inflammation .*
33. Enders, P. (2017). *Une introduction à l'apithérapie: Quand Rien d'autre n'aide: Essayez la Puissance de l'Abeille.*
34. Ferrero-Miliani L, N. O. (2007). 2. *Chronic inflammation: importance of NOD2 and NALP3 in interleukin-1 β generation. Clin Exp Immunol.*
35. Flamand, N. (2022). *Biosynthèse de médiateurs lipidiques dérivés des lipoxygénases par les leucocytes : importance dans l'inflammation.*
36. Francois, J. (2021). *dynamic immune inflammation prcision medicins.the good and the bad inflammation.*
37. GILROY, M. B. (2023). *Lipid Mediators in Inflammation.*

38. Gnemmi, V. (s.d.). Pathologie générale ; Réaction inflammatoire – Inflammations.
39. Gunnison, A. F. (1966). An improved method for collecting the liquid fraction of bee venom .
40. H, L. G. (2016). Anti inflammatory applications of melittin, a major component of bee venom: detailed mecanisme of action and adverse effects. *Molecules*.
41. Hameurlaine, H. (2019). Propriétés biologiques du venin d’abeille.
42. Hartman, D. T. (1991). Comparison of antiinflammatory and antiallergic drugs in the melittin- and D49 PLA2-induced mouse paw edema models.
43. Hassan SA, A. R. (2021). Effet thérapeutique potentiel du venin d'abeille sur l'hépatotoxicité induite par le cisplatine.
44. Hellner M., W. D. (2008). Apitherapy:usage and experience in German beekeepers.
45. Henrotin Yvesm, R. J.-Y. (juin 2001). Les médiateurs biochimiques de l'inflammation.
46. Hop, P. S. (1984). *Leucotriènes*.
47. Hyun Ji Lee, Y. S. (2020). HyunRegulation of the Viscoelastic Properties of Hyaluronate–Alginate Hybrid Hydrogel as an Injectable for Chondrocyte Delivery.
48. Jang-hern lee, Y.-B. K.-j.-C. (2001). Bee venom pretreatment has both an antinociceptive and anti-inflammatory effect on carrageenan-induced inflammation.
49. K.T. Fitzgerald, A. F. (2006). Hymenoptera stings.
50. Kindt, T. G. (2007). *In Kuby Immunology*.
51. Kobayashi H., H. Y. (2014). Pathogenèse de l'endométriose : le rôle de l'infection initiale et de l'inflammation stérile ultérieure.
52. Kolayli S., K. M. (2020). Natural bee products and their apitherapeutic applications.
53. Krell, R. (1996). Venom In: Value-added products from beekeeping. *Food and Agriculture Organisation of the United Nation Rome*.
54. Linlin Chen, H. D. (2017). Inflammatory responses and inflammation-associated diseases in organs.
55. M Abbal, L. A. (s.d.). REACTION INFLAMMATOIRE : ASPECTS BIOLOGIQUES ET CLINIQUES. CONDUITE A TENIR.
56. M.A.M, A. (2012). Studies on bee venom and its medical uses.
57. Mahony L.O., A. M. (2011). Régulation de la réponse immunitaire et de l'inflammation par l'histamine et les récepteurs de l'histamine. *Journal d'allergie et d'immunologie clinique*.

58. Marcia Regina, D. C. (2020). Standard methods for *Apis mellifera* venom research. *Journal of apiculture reaserch* .
59. Marieke Mutsaers, H. v. (2005). *Produits de l'apiculture*.
60. Marieke Mutsaers, H. v. (2005). *Prouduit de l'apiculture* .
61. Mayol, K. (2024). «Les médiateurs de l'inflammation.» plateforme acces.institut francais de l'education.
62. Mayol, K. (2024). Les mediateurs de l'iflammation.
63. Menet E, P. C. (2001). Synthèse de l'interleukine-6 (IL-6) et expression de la gp130 par le péricarde humain.
64. Morse, R. A. (1964). Mass collection of bee venom. Gleaning bee culture.
65. Muster, D. (2005). Médicaments de l'inflammationAnti-inflammatoires. *EMC - Stomatologie*.
66. N Asafova, B. O.–Y. (2001). Physiologically active bee products .
67. Nathan C, D. A. (2010). Nonresolving inflammation. *Cell*.
68. Nathan C, D. A. (2010). Nonresolving inflammation. *Cell*.
69. Norbe, A. A. (1990). Innovations: Adevice to provoke venom release from honey bees .
70. Oršolić.N. (2012). Venin d'abeille dans le traitement du cancer. Métastase du cancer *Rev*.
71. P, L. (2007). Inflammatory mechanisms: the molecular basis of inflammation and disease.
72. Palavra, F. R. (2015). *Biomarkers of Cardiometabolic Risk, Inflammation and Disease*.
73. Parham, P. (2015). The immune system. 4th ed. .
74. pauline, J. (2015). Abeille et santé : de l'apithérapie à l'allergie.
75. Pucca.M.B, F. C. (2019). Bee Updated: Current Knowledge on Bee Venom and Bee Envenoming Therapy.
76. R, M. (2010). Inflammation 2010: new adventures of an old flame. *Cell* .
77. Rahmani S., B. N. (2016). *Evaluation de l'activité antiinflammatoire d'extraits Aqueux de feuilles limoniastrum feei (plumbaginacea)*.
78. Revillard, J.-P. (2001). *immunologie. 4e*. De boeck superieur.
79. Rhen T, C. J. (2005). Antiinflammatory action of glucocorticoids--new mechanisms for old drugs.
80. Rim Wehbe, e. A. (2019). Bee Venom: Overview of Main Compounds and Bioactivities for Therapeutic Interests.

81. Robb.C. T, K. H. (2016). Key mechanisms governing resolution of lung inflammation.
82. S Shkenderov, I. P.–Z. (1983). The bee products, in Bulgarian.
83. Serhan CN, S. J. (2005). Resolution of inflammation : the beginning programs the end. *Nat Immunol*.
84. Seyyedeh Mahbubeh Mousavi, S. I. (2012). Effet du venin d’abeille iranienne (*Apis mellifera*) sur la glycémie et l’insuline chez les rats diabétiques.
85. Szabat P., P. J. (2019). Apitherapy—The medical use of bee products.
86. T, L. (2009). The Nuclear Factor NF- κ B Pathway in Inflammation. *CSH Perspect Biol*.
87. Tak T, T. K. (2013). What’s your age again? Determination of human neutrophil half-lives revisited.
88. Tanner C.M., K. F. (2011). *Rotenone, paraquat, and Parkinson’s disease. Environ. Health Perspect.*
89. Théo Chenal, C. T. (2022). Inflammation chronique : l’exploration par la biologie médicale.
90. Wehbe R., F. J. (2019). Bee Venom: Overview of Main Compounds and Bioactivities for Therapeutic Interests.
91. Weickmann, D. (2006). Composition pour traiter des melanomes et des impuretes de la peau, et cosmetique de soin cutane.
92. Woolf, C. a. (1999). Transcriptional and post-translational plasticity and the generation of inflammatory pain.
93. Y, B. (2015). Bee Venom: Its Potential Use in Alternative Medicine.
94. Yang EJ, J. J. (2010). Le venin d’abeille atténue les événements neuroinflammatoires et prolonge la survie dans les modèles de sclérose latérale amyotrophique. *J. Neuroinflammation*.
95. Zamora Audrey, B. G.-S. (2022). Caractérisation des mécanismes de dérégulation de la résolution de l’inflammation au cours du lymphoedème secondaire : restauration par approche.
96. Zlatanova, I. (2017). *Macrophages, inflammation et réparation cardiaque*.