



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET

DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Université de Constantine 3 - Salah Boubnider

Faculté de Médecine

Département de Pharmacie



Mémoire de fin d'études En vue de l'obtention du diplôme Du
Docteur En Pharmacie

Formulation et préparation d'une crème à base de mucus du
gastéropode Algérien *Helix aspersa* et évaluation de son
activité cicatrisante *in vivo* et de son effet irritant/anti-irritant
in ovo

Réalisé par :

- MALLEM Mohammed Riad
- MEBIROUK Ahmed Ramzi
- MEGHEZZI Amdjed Ouahib Errahmane

Encadré par :

- Dr.MEBIROUK Romeila, Faculté de Médecine, UC3.

Co-encadré par :

- Pr.NAIMI Dalila, ENSB, Constantine.

Membres de jury :

- Président du jury : Dr.ALLAG Hamoudi, Maître-assistant hospitalo-universitaire, Faculté de Médecine, UC3.
- Examineur : Dr BENABDELLAH KHODJA Amina ; Maître-assistante, hospitalo-universitaire Faculté de Médecine, UC3.



Table des matières

Liste des figures	i
Liste des tableaux	iii
Résumé	iv
Abstract	v
ملخص	vi
Introduction générale	1
Synthèse bibliographique	3
Chapitre 1 : Peau et cicatrisation	3
I. La peau	3
1. Structure et histologie de la peau	3
1.1 L'épiderme	3
1.2. Le derme.....	5
1.3. L'hypoderme.....	6
1.4. Les annexes cutanées	6
2. Fonctions de la peau	7
II. La cicatrisation	8
1. Les phases de cicatrisation	8
1.1. La phase vasculaire - l'hémostase	8
1.2. La phase inflammatoire.....	9
1.3. La phase de la prolifération et de réparation	9
1.4. La phase de remodelage et maturation	11
2. Types de cicatrisation	12
2.1. La cicatrisation par première intention	12
2.2. La cicatrisation par deuxième intention.....	13
2.3. Cicatrisation par troisième intention.....	13
2.4. Pathologies cicatricielles	14
2.4.1. La cicatrice hypertrophique.....	14
2.4.2. La cicatrice chéloïdienne	14
2.4.3. Les cicatrices atrophiques	14
Chapitre 2 : Les émulsions.....	16
1. Définition des émulsions.....	16
2. Définition d'une crème	16
3. Les différents types d'émulsions.....	16



3.1. Selon la nature des phases	16
3.2. Selon la taille des particules	17
4. Composition des émulsions	18
4.1. La phase aqueuse	18
4.2. La phase huileuse.....	19
4.3. Les émulsionnants ou émulsifiants	19
- Les surfactifs	19
4.4 Notion HLB	19
5. Instabilité des émulsions	20
6. Application topique et absorption cutanée de la crème	20
7. Les facteurs influençant l'absorption cutanée	21
7.1. Les facteurs physicochimiques de la molécule	21
7.2. Influence du véhicule.....	22
7.3. Le degré d'hydratation.....	22
7.4. L'état de la peau	22
7.5. Les conditions d'application	22
Chapitre 3 : Le gastéropode	23
<i>Helix aspersa</i>	23
1. Description et Classification	23
2. Répartitions Géographiques	23
3. Longévité	24
4. Description morphologique et anatomique de l'escargot <i>Helix aspersa</i>	24
4.1. La coquille	24
4.2. Le pied	24
4.3. La masse viscérale	25
5. Les glandes d' <i>Helix aspersa</i>	25
6. Composition biochimique du mucus de l' <i>Helix aspersa</i>	27
6.1. Allantoïne	27
6.2. Elastine	27
6.3. Collagène.....	28
6.4. Vitamines A, C et E	28
6.5. Autres	28
7. Utilisation de l'escargot <i>Helix aspersa</i> en pharmacologie	28
Partie expérimentale	30
Matériels & Méthodes.....	31
I. Matériels	30



1. Matériels biologiques.....	30
1.2. Rats de laboratoire	30
1.3. Les œufs fertiles	31
1.4. Les souches bactériennes.....	32
2. Matériels chimiques.....	32
2.1. Produit anesthésiant	32
2.2. Crème cicatrisante standard : Madécassol ® 1 %.....	32
II. Méthodes	34
1. Extraction et screening chimique du mucus <i>Helix aspersa</i>	34
1.2. Screening chimique.....	34
2. Formulation, préparation et caractérisation physico-chimique de la crème à base du mucus <i>Helix aspersa</i>	39
2.1. Formulation et préparation de la crème	39
2.1.1. Composition de la phase aqueuse	39
2.1.2. Composition de la phase huileuse	39
2.1.3. Les additifs	40
2.1.4. Préparation de l'émulsion	40
2.1.5. Conditionnement.....	40
2.2. Caractérisation physico-chimique de la crème	41
2.2.1. Détermination du sens de l'émulsion H/E ou E/H (mesure de la conductivité).....	41
2.2.2. Analyse sensorielle et observation microscopique de la crème	42
2.2.3. Détermination du pH.....	42
2.2.4. Evaluation de la stabilité physique	43
2.2.5. Evaluation de l'effet de l'air et de la lumière sur la stabilité de l'émulsion	43
2.2.6. Contrôle de la rhéologie ou détermination de la viscosité de la crème.....	44
2.2.7. Test microbien de la crème	44
3. Évaluation de l'activité cicatrisante de la crème préparé à base du mucus <i>Helix aspersa</i>	45
3.2. Création des plaies d'excision	45
3.4.1. Evaluation de la cicatrisation par planimétrie.....	46
3.4.2. Calcul du pourcentage de rétraction	47
3.4.3. Evaluation de l'aspect clinique de la cicatrice	47
3.4.4. Evaluation microscopique de la cicatrisation	47
4. Evaluation de l'effet irritant/anti-irritant <i>in ovo</i> (test HET-CAM)	48
5. Evaluation de l'activité antibactérienne de la bave et de la crème CHa	51



5.3.1.	Activité antibactérienne du mucus par la méthode des puits	51
5.3.2.	Evaluation de l'activité antibactérienne de la crème.....	52
	Résultats et discussion	53
I.	Résultats	53
1.	Dosage des biomolécules dans le mucus extrait d' <i>Helix aspersa</i>	53
1.1.	Concentration des protéines totales.....	53
1.2.	Teneur en polyphénols totaux.....	53
1.3.	Taux des flavonoïdes.....	53
1.4.	Taux des tannins condensés	53
2.	Formulation et préparation de l'émulsion à base du mucus <i>Helix aspersa</i> et caractérisation physico-chimique.....	55
2.1.	Préparation de la crème	55
2.2.	Caractéristiques physico-chimiques de la crème.....	55
2.2.1.	Détermination du sens de l'émulsion.....	55
2.2.2.	Description sensorielle de la crème.....	56
2.2.3.	Taille des particules de l'émulsion.....	57
2.2.4.	pH de la crème	57
2.2.5.	Stabilité de la crème.....	57
2.2.6.	Effet de la lumière et de l'air.....	59
2.2.7.	Evaluation de la rhéologie.....	59
2.2.8.	Teste microbien de la crème.....	60
3.	Evaluation de l'effet cicatrisant de la crème CHa <i>in vivo</i> sur des plaies d'excision.....	61
3.1.	Evolution pondérale des rats durant l'étude <i>in vivo</i>	61
3.2.	Etude de l'aspect macroscopique des plaies.....	61
3.3.	Effet de la crème sur la rétraction de la plaie.....	64
3.4.	Effet de la crème CHa sur le processus cicatriciel (étude microscopique de la plaie)	66
4.	Effet irritant ou anti-irritant de la crème CHA.....	70
5.	Effet du mucus et de la crème CHa sur la croissance des bactéries	73
II.	Discussion.....	75
	Conclusion et perspectives	82
	Références bibliographiques.....	84
	Annexes	109



Présenté par : MALLEM Mohammed Riad

MEBIROUK Ahmed Ramzi

MEGHEZZI Amdjed Ouahib errahmane

Encadré par : Dr MEBIROUK Romeila

Intitulé : Formulation et préparation d'une crème à base de mucus du gastéropode algérien *Helix aspersa* et évaluation de son activité cicatrisante *in vivo* et de son effet irritant/anti-irritant *in ovo*

Résumé

L'objectif de la présente étude était de préparer une crème à base de mucus du gastéropode terrestre Algérien *Helix aspersa*, d'évaluer son activité cicatrisante et son effet anti-irritant. Le mucus a été extrait en stimulant l'animal au niveau de son pied à l'aide d'abaisse langue. Le mucus recueilli a été centrifugé. Le surnageant a été utilisé dans la préparation de la crème. Un screening chimique a été effectué sur le mucus. Les protéines totales, les polyphénols totaux, les flavonoïdes ainsi que les tannins ont été dosés par des méthodes colorimétriques. La crème a été formulée et préparée en homogénéisant deux phases non miscibles, une phase aqueuse qui contient notre principe actif et une phase huileuse. L'émulsion obtenue a été caractérisée en déterminant son sens, ses caractères organoleptiques, sa stabilité, son pH, sa viscosité ainsi que l'homogénéité de ses particules. Un test microbiologique a été également réalisé. L'activité cicatrisante a été réalisée *in vivo* sur des plaies d'excision en appliquant la crème une fois par jour pendant 17 jours. Le pouvoir cicatrisant a été estimé par une étude macroscopique, planimétrique et microscopique. L'effet de la crème a été comparé à celui d'une crème standard et un témoin négatif. L'activité irritante/anti-irritante a été déterminée par un test HETCAM sur des œufs fertiles. L'activité antibactérienne de la crème et du mucus a été évaluée sur quelques souches bactériennes en utilisant la méthode des puits. L'analyse des résultats a révélé que le mucus contient : $(15,11 \pm 0,64)$ mg/mL de protéines, $(3,76 \pm 0,83)$ mg EAG/g d'extrait de polyphénols, $(2,14 \pm 0,43)$ μ g EQ/mg de bave de flavonoïdes et $(9,95 \pm 0,95)$ g/100 g de tissus de tanins. La caractérisation de la crème préparée a été mise en avant sa couleur blanche, son aspect lisse, sa fraîcheur et son caractère non caustique. Son pH était légèrement acide. Sous microscope, les particules de l'émulsion paraissent de taille plus ou moins homogène. Le test microbien était négatif. La crème était de type H/E, stable physiquement (sauf à la vitesse de 6000 trs/min) et thermiquement. Elle est de type fluide non newtonien et elle ne s'est pas oxydée par l'air et la lumière. L'application topique quotidienne de la crème a accéléré le processus cicatriciel et avait un effet anti-inflammatoire sur la plaie. Au niveau microscopique, la peau du lot traité par la crème avait une histologie normale. Le HETCAM a révélé que la crème n'était pas irritante. Cependant la crème n'avait aucun effet antibactérien sur les souches bactériennes testées. En conclusion, la crème CHa préparée à partir du mucus d'*Helix aspersa* aurait un pouvoir cicatrisant meilleur que la crème standard. Elle n'est pas irritante et par conséquent, elle pourra être testée en clinique sur des patients.

Mots clés : *Helix aspersa*, émulsion, crème, peau, cicatrisation, HET-CAM, effet irritant, effet non-irritant.

Année Universitaire : 2022-202