



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR 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
<b>Chapitre 1 : Peau et cicatrisation .....</b>	<b>3</b>
<b>I. La peau .....</b>	<b>3</b>
<b>1. Structure et histologie de la peau .....</b>	<b>3</b>
1.1 L'épiderme .....	3
1.2. Le derme.....	5
1.3. L'hypoderme.....	6
1.4. Les annexes cutanées .....	6
<b>2. Fonctions de la peau .....</b>	<b>7</b>
<b>II. La cicatrisation .....</b>	<b>8</b>
<b>1. Les phases de cicatrisation .....</b>	<b>8</b>
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
<b>2. Types de cicatrisation .....</b>	<b>12</b>
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
<b>Chapitre 2 : Les émulsions.....</b>	<b>16</b>
<b>1. Définition des émulsions.....</b>	<b>16</b>
<b>2. Définition d'une crème .....</b>	<b>16</b>
<b>3. Les différents types d'émulsions.....</b>	<b>16</b>



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
<b>I. Résultats .....</b>	<b>53</b>
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
<b>II. Discussion.....</b>	<b>75</b>
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±0,64) mg/mL de protéines, (3,76±0,83) mg EAG/g d'extrait de polyphénols, (2,14± 0,43) µg EQ/mg de bave de flavonoïdes et (9.95±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**