République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université de MÉDÉA

Faculté des Sciences et de la Technologie

Mémoire de Magister

Spécialité : Génie des Procédés

Option : Génie des Procédés Pharmaceutiques

Thème

Formulation d'une Crème à Usage Médicinal à Base de la Bave d'Escargot

Présenté par : Mr: Brahim Feraoun

Devant le jury d'examen:

H. KHALAF.	**PR**	**Univ-Blida**	**Président**
M. ANOUN.	**MCA**	**Univ-Médea**	**Examinateur**
M. KREA	**MCA**	**Univ-Médéa**	**Rapporteur**
N. MOULAI-MOSTEFA	**PR**	**Univ-Médéa**	**Co-Rapporteur**
M. NEDJIOUI	**MCB**	**Univ-Médéa**	**Invité**

Année universitaire 2009/2010

REMERCIEMENTS

Ce travail a été réalisé au niveau de la filiale de groupe SAIDAL de MEDEA, plus le Laboratoire de recherche Procédés de Traitement et Recyclage des rejets de l'université de MEDEA et au niveau de laboratoire anatomo-pathologie de l'hôpital Mohamed Boudiaf de MEDEA

Je tiens à remercier en premier lieu **ALLAH** le Tout Puissant de m'avoir donné courage et santé pour achever ce travail.

Un grand merci à Monsieur **Krea Mohamed** ; MCA à l'université de MEDEA, d'avoir accepté de diriger ce travail avec compétence ; qu'il trouve ici l'expression de ma profonde gratitude.

Que mes vifs remerciements aillent à Monsieur **Nadji Moulai Moetapha** ; Professeur à l'université de MEDEA qui me fait l'honneur de travail avec lui,

Mr. Khalef, professeur à l'U.S, D à BLIDA que je remercie pour m'avoir fait l'honneur de présider le jury.

* Mr. Anoun, maître de conférences à l'Université de Médéa que je tiens à remercier d'avoir accepté d'examiner ce travail.

* Mr. Nedjioui, chargé de cours à l'Université de Médéa, que je tiens aussi à remercier d'avoir accepté d'examiner ce travail.

Mes remerciements s'adressent aussi à :

Un grand merci à Mr **Ben Ayed Boulam** ; technicien au niveau de SAIDAL, pour son aide précieuse et de m'avoir accueillie au sein de son laboratoire

Je tiens à remercier Mme **Hammadou Ben Ayed**; médecin Pathologiste, chef de service d'anatomo-pathologie pour tout ce qu'elle m'a prodigué comme conseils et encouragements plus les résultats de la lecture de l'activité cicatrisante.

L'ensemble des membres du département de génie des procédées et laboratoire de recherche de l'université de Médéa.

L'ensemble des membres de SAIDAL de Médéa.

Mr Belkasmi Directeur de l'unité vrac

Mr Habouché Directeur de laboratoire de contrôle qualité,

Mr chef de département de laboratoire physicochimie et les chefs service Mr Ben zina et Taib, plus toute l'équipe de département physicochimie.

Mr ben amaere le chef service de service stérilité et Mr Azzedine chef service de service microbiologie.

Mr Medjaji chef département de laboratoire pharmacotoxicologie ainsi Mr Boulouiza chef service d'animalerie et Mr Noureddine l'opérateur, plus Mr Abdrezzaker Mr Mokhrar de service analyse.

Tous mes remerciements aussi au Mr Bailiche chef service de laboratoire anatomopathologie de l'hôpital de Médéa et les techniciens Mm Boulouiza et Mr nourie.

Je tiens à remercie tous les chefs département, les chefs service et les employeurs de laboratoire de contrôle qualité.

Mes remercîment à Melle Houcine responsable de service formation, Mr Fahisse de documentation ainsi Mr Chebile détaché administrateurs.

Mes remerciements vont également à tous ceux qui ont contribué à la réalisation de ce travail en particulier,*Otmanine, Mégateli, Ahmadi, Méhafdi, Ben brida,Hasni, Aissou, Ladaidi, Zahi, Boulala ,Medjaji, Azeddine , Nourddine, Fahis ,Bachir chrif Ahmed , Ibrahim Rahmani Ali et Mr Guetache* .

Je remercie du fond du cœur, tous ceux qui m'ont aidé de proche ou de loin pour réaliser ce travail.

Dédicace

Je dédie ce mémoire

Aux êtres les plus chers à mon cœur, mes parents, qui ont toujours cru en moi et encourage.

A mes frères qui m'ont soutenue durant les moments difficiles et à qui je souhaite beaucoup de réussite dans leur vie future.

A ma Seurre qui m'a aidé et soutenue durant tous les moments difficiles et à qui je souhaite beaucoup de réussite dans savie future.

A toute ma famille,

BRAHIM

ملخص:

هذا العمل يرمي إلى تثمين استعمال لعاب الحلزون كمادة فعالة في مرهم لمعالجة الجروح و إزالة الآثار المترتبة عنها . طريقة جمع اللعاب اعتمدت على منهج إحصاء يلحد من موت عدد الحلزون. تم الحصول على مسحوق اللعاب برطوبة بين4 و12% اعتمادا على الجمع بين طريقة التجفيف بخفض الضغط واستعمال الهواء الجاف.

معايير التجفيف (درجة الحرارة و الزمن) ثم تحديدها من أجل أن المرهم المصنوع من مسحوق اللعاب يحافظ على نفس مواصفات اللعاب الأصلي.

مزج المسحوق مع السواغ يسمح بالحصول على مرهم غني بمكونات لعاب الحلزون ، وخصوصا العناصر المسئولة على التئام الجراح .

الدراسة الفيزيكوميترية لتدفق المرهم تسمح بتصنيفه كسائل شبه بلاستيكي.

نتائج التحاليل الدوائية للمستخلص الجلدي أثبتت بأنه يتمتع بنفس فعالية لعاب الحلزون الأصلي أو مرهم " ماديكاسول" المعتبر كمرجع.

الكلمات المفاتيح :

حلزون ، لعاب، طريقة الاستخراج، تجفيف، جلد، مرهم، شفاء من الجروح.

Résumé :

Ce présent travail consiste en la valorisation de la bave d'escargot local en vue de son utilisation comme principe actif dans une crème cicatrisante. La méthode de récupération de la bave a été déterminée par une étude statistique, minimisant le taux de mortalité des escargots. La bave obtenue est transformée en poudre avec une procédure de séchage sous vide couplé avec un séchage à l'air séché. Ainsi, les teneurs en eau ont été ramenées à un intervalle de 4% à 12%. Les paramètres de séchage (température et temps) ont été optimisés pour que la crème synthétisée à partir de la poudre garde des propriétés identiques à celles de la bave mère,

L'addition de la poudre de la bave séchée dans le véhicule nous permit d'obtenir une crème riche en bave, et surtout en agents responsables de l'activité cicatrisante. Le test de l'écoulement permet, du point de vue viscosimétrique, de considérer la crème comme un fluide pseudo-plastique. Les résultats des analyses pharmacologiques des préparations dermiques montrent une activité cicatrisante identique à celle de la bave à

l’état naturelle et ayant un effet comparable à celui de la crème MADECASSOL prise comme référence.

Mots clés : escargot, bave, procédé de récupération, séchage, peau, plaie, crème, cicatrisation

Summary:

This present work deals with the valorization of local snail mucus for its use as active ingredient in a healing cream. The method of recovery of the mucus was determined by a statistical study minimizing the death rate of snails. The dribble obtained is transformed into powder with a procedure of vacuum drying coupled by wipingwith dried air. Thus, the water content has been reduced to an interval of 4% to 12%. The parameters of drying (temperature and time) were optimized so that the cream synthesized starting from the powder keeps properties identical to those of the dribble mother.

The addition of the powder of the mucus in the vehicle, pre-formulated, allowed us to obtain a rich cream with mucus, and especially with the agents responsible for the healing activity. The test of the flow allows, from the viscosimetric point of view, to regard the cream as a pseudo-plastic fluid. The results of the pharmacological analysis of the dermic preparations show a healing activity identical to that of the natural mucus state and that of MADECASSOL cream taken as a reference.

Key words: snail, mucus, proceeded of recovery, drying, skin, wound, cream-colored, and cicatrization

Sommaire

Résumé
Remerciement
Dédicace
Liste des figures
Liste des tableaux
Introduction 1
I. Identification de l'espèce :.....4
I.1Introduction :.....4
I.2 Zoologie :.....5
I.2.1 Taxonomie :.....5
I.3 Description et structure.....5
I.3.1 Anatomie externe :.....5
I.3.2 Anatomie interne :.....7
I.4 Différentes variétés d'escargots.....11
I.5 Héliciculture :.....18
I.5.1 Environnement :.....18
I.5.2 Physiologie :.....20
I.5.3 Reproduction :.....21
I.5.4 Technique d'élevage :.....22
II. Mode de récupération, composition et utilisation de la bave d'escargot :.....29
II.1 Introduction.....29
II.2 Les méthodes de récupération :.....29
II.2.1 Méthode 01 : par piquage.....28
II.2.2 Méthode 02 : par ajout de chlorure de sodium.....29
II.2.3 Méthode 03 : par des produits chimiques.....29
II.2.4 Méthode 04 :par enlèvement des pièces excrétoires.....30
II.2.5 Méthode 05 :par grattage.....30
II.3 Composition de la bave d'escargot :.....30
II.4 Utilisation de la bave d'escargot :.....32
II.4.1 Domaine alimentaire :.....32
II.4.2 Dans le domaine de l'environnement :.....32
II.4.3 Domaine cosmétique :.....34
II.4.4 Dans le domaine thérapeutique :.....36
III. Généralités sur la formulation :.....39
III.1 Introduction.....39
III.2 Études d'orientation.....39
III.2.1 Paramètres d'ordre physiologique.....40
III.2.2 Paramètres d'ordre physicochimique.....44
III.3 Études de préformulation.....46
III.3.1 Recherche de la solubilité maximale.....47
III.3.2 Les tensioactifs.....47
III.3.3 Stabilité du principe actif dans le véhicule.....48
III.4 Les émulsions.....49
III.4.1 Composition d'une émulsion.....49
III.4.2 Notion de la balance hydrophile lipophile HLB.....50
III.5 Études de formulation.....50
III.5.1 Principaux types de formes.....50

III.5.2 Principaux types de véhicules 51
III.5.3 Principaux constituants des véhicules des formes pharmaceutiques pour application locale 52
III.5.4 Contrôles et essais des préparations dermiques 54
IV. Etude d'orientation à la sélection des procèdes : 61
IV.1 Introduction : 61
IV.2 Matériels et méthodes : 61
IV.2.1 Produits et matériels utilisés : 61
IV.2.2 Méthodes : 65
IV.3 Caractéristique de la bave d'escargot : 67
IV.3.1 Etude physicochimique : 67
IV.3.2 Etude microbiologique : 69
IV.3.3 Etude pharmacologique : 70
IV.4 Résultats et discutions : 73
IV.4.1 Adaptation à l'élevage : 73
IV.4.2 Le Rendement de la bave récupérée : 74
IV.4.3 Caractérisation : 75
IV.5 Séchage de la bave d'escargot : 83
IV.5.1 Optimisations des conditions de séchage : 83
IV.5.2 Caractérisation de la poudre d'escargot : 85
IV.5.3 Test de l'activité cicatrisante : 90
IV.6 Conclusion : 93
V. Approche à la formulation de la crème cicatrisante : 94
V.1 Introduction 94
V.2 Matériels et méthodes : 94
V.2.1 Produits utilisés : 94
V.2.2 Matériels : 96
V.2.3 Méthodes : 96
V.3 Essai de contrôle 97
V.3.1 Essai de stabilité : 97
V.3.2 Test de l'activité cicatrisante : 98
V.4 Résultats et discutions : 98
V.4.1 Approche à la formulation d'une crème cicatrisante : 98
V.4.2 Formulation de la crème cicatrisante : 102
V.5 Conclusion : 107
Conclusion générale 108
Annexe

Liste des tableaux

Tableau I-1: anatomie interne d'escargot....8
Tableau I-2: Déférents races d’escargots....12
Tableau I-3:les avantage et inconvénients des techniques élevave....25
Tableau I-4:les conditions de reproduction :....26
Tableau II-1Les déférents composants de la bave d’escargot :....31
Tableau III-1. Influence du degré de pénétration sur l'activité....43
Tableau IV-1: Les souches utilisées pour le test microbien....70
Tableau IV-2:Caractères organoleptiques de la bave d'escargot....75
Tableau IV-3: Paramètres physicochimiques....75
Tableau IV-4:Les caractères organoleptiques de comparaison....76
Tableau IV-5: Les paramètres physicochimiques de comparaison....76
Tableau IV-6:Résultats du test antimicrobien....76
Tableau IV-7:Comparaison entre les modes de récupération....78
Tableau IV-8:L'échelle de mesure de l'activité antimicrobienne....78
Tableau IV-9: Représentation des résultats de....79
Tableau IV-10:lecture macroscopique des peaux....80
Tableau IV-11:Lecture microscopique des coupes histologiques....81
Tableau IV-12:représentation des paramètres physique et chimiques....85
Tableau V-1: Caractère des excipients entré dans la formulation de la crème....95
Tableau V-2: Résume les essais de préformulation :....99
Tableau V-3: Test de pH....100
Tableau V-4: La stabilité à la force centrifugeuse....100
Tableau V-5: Composition optimisé....101
Tableau V-6: Caractère de formule proposé....101
Tableau V-7: Résultats de pH, conductivité et stabilité des formules préparées....103
Tableau V-8: Lecture macroscopique de l'activité cicatrisante des crèmes préparé....105

Liste des figures

Figure I-1: Anatomie externe de l'escargot 6
Figure I-2: La coquille d'escargot 6
Figure I-3Escargot de bourgogne *helix pomatia* 6
Figure I-5: Anatomie interne d'escargot 7
Figure I-4 Pied d'escargot 7
Figure I-6: L'appareil digestif 9
Figure I-7: La radula 10
Figure I-8:L'appareil génital 10
Figure I-9: Schémas d'un déplacement 11
Figure I-10: Escargotière 18
Figure I-11:La nourriture d'escargot 19
Figure I-12:Système d'humidification 20
Figure I-13:Epiphragme 21
Figure I-14: Accouplement 21
Figure I-15 Les œufs 22
Figure I-16: Petit d'escargot 22
Figure I-17: La nursery 27
Figure II.1Voies et sources d'exposition de l'escargot aux polluants 33
Figure III-1. Structure de la peau 40
Figure III-2. Structure de l'épiderme 41
Figure III-3:les annexes épidermiques 42
Figure III-4. Représentation schématique des différentes phases se succédant lors de la mise à disposition d'un produit à usage topique à la systémique 44
Figure III-5 évaluation des formes selon le déplacement des quantités relative de chaque type de constituants 51
Figure IV-1:Casier d'élevage 64
Figure IV-2: Schématisation de procède de séchage 67
Figure IV-3 : Adaptation à l'élevage représentation de taux de mortalité 73
Figure IV-4:Rendement de la bave récupérée 74
Figure IV-5:Comparaison de zone d'inhibition par les deux modes de récupération 77
Figure IV-6:Une plaie bien visible 82
Figure IV-7:a) Régénération épidermique par bave de picage b) Régénération épidermique par bave de NaCl 82
Figure IV-8 ;a) Epiderme renouvelé, b) Epiderme au cours de renouvèlement 82
Figure IV-9: a) Epiderme bien cicatrisé, b) Présence d'une mauvaise cicatrisation 83
Figure IV-10: La variation de taux d'humidité en fonction de temps 84
Figure IV-11: variation zone d'inhibition en fonction de temps 84
Figure IV-12:La poudre obtenue 85
Figure IV-13; Spectre FTIR de la poudre de la bave d'escargot 86
Figure IV-14: Comparaison entre le spectre FTIR de la poudre de la bave d'escargot et un mucopolyssacaride isolé de l'escargot Otezza Zactea 87
Figure IV-15:Influence de la concentration sur la tension de surface 88
Figure IV-16: Influence de la concentration sur la viscosité 89
Figure IV-17: Représentation des résultats de référence 90
Figure IV-18:Présence d'ulcération 91
Figure IV-19:Epiderme régénéré, granulome inflammatoire subaigu 92
Figure IV-20: Un épiderme totalement cicatrisé 92
Figure V-1: Etude comparative de la viscosité de véhicule et la crème commerciale 102
Figure V-2: Etude de variation de la viscosité en fonction de vitesse de cisaillement 103
Figure V-3; Une plaie bien visible a prés trois jours 106

Figure V-4: Le développement cellulaire après six jours.....106
Figure V-5: Après dix jours de traitement.....107
Figure V-6: La fin de traitement.....107

Introduction générale

Le marché mondial des produits cosmétiques est en constante progression. Il continue à croître avec la découverte constante de nouveaux besoins, l'amélioration continue de la qualité des produits ou encore l'allongement de l'espérance de vie. Les études dans ce domaine connaissent un grand enthousiasme engendré par l'intérêt de plus en plus grandissant de la population pour l'esthétisme, le confort et la lutte contre le vieillissement.

La peau représente une cible privilégiée des attaques extérieures, qui entraînent de multiples dommages cutanés (vieillissement précoce, cancers, altérations du tissu cutané…). Pour lutter contre ce dommage cutané, une protection de la surface de la peau est réalisée par l'intermédiaire des crèmes dermiques. Celles-ci constatent une grande publicité de retour à l'utilisation des produits naturels à base des plantes ou bien des espèces animales notamment l'escargot encore appelé limaçon ou colimaçon qui est un mollusque gastéropode pulmoné du genre Helix.

Apprécié en cuisine, il l'est aussi utilisé en médecine traditionnelle, domaine dans lequel on n'a pas cessé depuis l'antiquité de lui attribuer de multiples propriétés.

La bave d'escargot a connu une multitude utilisations dans le domaine cosmétique et thérapeutique. Elle est constituée d'un grand nombre de molécules soumises aux travaux de recherches dans différents domaines, spécialement en cosmétique pour formuler des crèmes à un effet anti ride, anti tache, anti UV …

Parmi les menaces journalières causées sur la peau, les plaies de différents degrés. La cicatrisation des plaies, quelle que soit leur étiologie, est un phénomène complexe faisant intervenir de nombreux types cellulaires au cours des différentes phases de cicatrisation.

Pour favoriser le bon déroulement du processus cicatriciel, en plus du traitement étiologique indispensable, il est important de respecter quelques principes simples :

- Maintien d'un milieu humide optimal
- Prévention de l'infection

Pour optimiser la prise en charge des patients, il est également primordial de cicatriser leur plaie le plus rapidement possible, pour améliorer leur qualité de vie, mais également pour limiter la survenue de complications locales.

Dans cette optique, il paraît intéressant d'utiliser des produits naturels comme la bave d'escargot afin de favoriser la prolifération et la migration cellulaire, et optimiser les différentes phases de la cicatrisation.

La richesse de la bave en protéines dermiques et les mucopolysaccharides permet son utilisation bénéfique dans le domaine cosmétique. Cela nous a guidés vers une formulation d'une crème cosmétique à une activité cicatrisante.

Les crèmes sont composées par des principes actifs, de molécules constitutives de la matrice de l'émulsion, de conservateurs, de parfums, et autres additifs. Le choix de ces différents constituants et la mise au point de formulations cosmétiques reposent encore bien souvent sur des procédés empiriques. La pré-formulation est l'étude pour l'optimisation des conditions de formulation par un ensemble des essais *in vitro* puis une intégration *in vivo*

L'objectif de ce travail réalisé en Laboratoires pharmaceutiques de la filiale antibiotique SAIDAL de MEDEA, est de développer des outils et des méthodes pour obtenir une bave efficace afin de donner une base scientifique de raisonnement pour une optimisation des formulations cosmétiques.

Ce travail s'articule autour de cinq chapitres.

Le premier chapitre introduit les notions d'identification de l'espèce, une taxonomie et une étude de l'anatomie externe et interne de l'escargot puis un exemple sur les variétés de l'escargot. Afin d'avoir une description générale sur l'héliciculture de l'escargot, de l'environnement, l'alimentation, accouplement et les techniques d'élevage industriel.

Le deuxième chapitre a pour objectif de présenter les procédures de récupération de la bave et l'analyse de sa composition chimique. De plus, l'utilisation de l'escargot dans différent domaines : alimentaire, cosmétique, environnement et thérapeutique.

Le troisième chapitre résume les étapes générales à suivre pour formuler une préparation à usage local.

Le quatrième chapitre propose une méthodologie pour la sélection de la race à étudier et la mise en évidence du procédé d'excitation de l'escargot pour l'obtention de la bave. L'étude des caractéristiques physicochimiques, microbiologiques et pharmacologiques est réalisée dans le but de déterminer le meilleur mode de récupération de la bave d'escargot.

Le cinquième chapitre présente les résultats de l'optimisation des conditions de séchage et son efficacité, sa mise en formulation, l’étude de l’activité cicatrisante des crèmes formulées et leurs études de stabilité accélérée.

I.Identification de l’espèce :

I.1Introduction :

De nombreuses petites espèces animales ont de très larges utilisations dans la vie quotidienne, qu’il s’agit d’escargots, de grenouilles, de vers aula codes, thryonomys, cricetomys, xérus et tenrec ou d’autres rongeurs qui sont soumis presque toujours au braconnage. Pour protéger ces espèces, on procède à une organisation rationnelle de leur élevage.

Dans ce chapitre, la biologie de l’escargot et sa taxonomie sont décrites sommairement avant d’aborder les aspects directement liés à la production contrôlée.

L‘escargot est un gastéropode terrestre comestible dont le poids vif adulte atteint de quelques grammes a des kilos chez certaines espèces (géant africain).Il est présent dans une bonne partie de sub-saharienne humide et il est traditionnellement consommé par les populations humaines.

Les escargots sont des mollusques gastéropodes, ayant une anatomie asymétrique et sans organes pairs.

En effet les escargots terrestres ne possèdent qu’un seul rein, un seul poumon, une seule oreillette cardiaque, car un exemplaire de ces organes habituellement pairs s’atrophie au cours de son développement. Les mollusques aquatiques captent l’oxygène de par leurs branchies internes baignant dans l’eau qui circule dans la cavité palléale. Au cours de l’adaptation à la vie terrestre de certains escargots, cette cavité palléale a disparu pour être remplacée par un poumon rudimentaire.

L‘échange d’oxygène et de gaz carbonique avec l’air se réalise au niveau du tapis tissulaire vascularisé de cette chambre. Les escargots terrestres sont donc pulmonés, portant les yeux au bout de tentacules rétractiles.

Ces mollusques appartiennent à l’ordre des stylommatophores au sein duquel figure la super famille des heliciceae qui comprend entre autres les escargots *helix aspersa, helix pomitia, helix lucorum , helix aperta*…etc.

I.2 Zoologie :

La science de l'animal est un domaine très vaste contenant plusieurs filières d'études, donc elle peut étudier un seul animal selon une multitude de paramètres

I.2.1 Taxonomie :

La taxonomie (ou taxinomie) est la science qui a pour objet de décrire les organismes vivants et de les regrouper en catégories pour pouvoir les classer. On a eu recours à cette science pour pouvoir classer les escargots faisant objet de notre étude. Alors, le classement est le suivant :

- **Règne :** L'escargot appartient au règne "animal".
- **Phylum :** L'escargot est un "mollusque" comme « Crustacés ».
- **Classe :** L'escargot est classé comme étant un "Gastéropode".
- **Sous-classes :** Il est un "pulmoné".
- **Ordre :** L'escargot est classé sous l'ordre "Stylommatophores".
- **Famille :** L'escargot est de la famille dés "Hélicidés"
- **Genre :** Il est du genre "Helix"
- **Espèce :** Il existe de différentes espèces d'escargot

I.3 Description et structure

I.3.1 Anatomie externe :

Le corps montre trois parties Figure I-1:

✓ La tête, portant la bouche et deux paires de tentacules.

✓ Le pied, large et plat, sur lequel l'animal se déplace en rampant.

✓ La masse viscérale, dont la plus grande partie est enfermée dans une coquille calcaire univalve et spiralée [1]

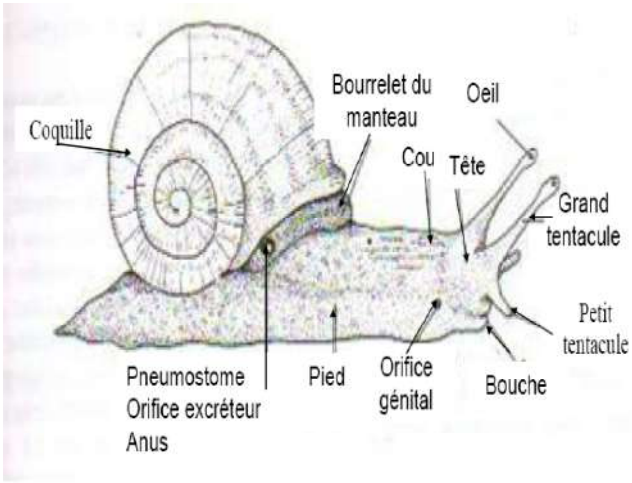


Figure I-1: Anatomie externe de l'escargot [**1**]

➢**La coquille :**

L'enroulement part du sommet appelé également apex. Il s'effectue dans le sens des aiguilles d'une montre (enroulement dextre). On compte 4 tours 1/2 de spire. Chaque tour cache la 3/4 du tour immédiatement supérieur. L'orifice de la coquille, limité par un ord épais, est arrondi. La surface de la coquille montre de nombreuses stries d'accroissement parallèles qui sont les témoins des différentes étapes de sa croissance. Sur une coquille sciée, on voit un axe plein, la columelle autour duquel s'enroule le cône calcaire allongé qui constitue la coquille. Des bandes partent de l'apex et donnent à l'escargot son aspect caractéristique, comme le petit gris des bandes brunes. [2]



Figure I-2: La coquille d'escargot [3]



Figure I-3 Escargot de bourgogne *helix pomatia*[3]

- La tête avec la bouche et les organes des sens; ces derniers comprennent une paire de longue tentacules oculaires portant un œil simple à leur extrémité, et une paire de petits tentacules tactiles. En arrière du tentacule oculaire droit se trouve l'orifice génital.
- Le pied, avec sa large sole de reptation Figure I-4
- Le cou, qui se prolonge jusqu'au collier



Figure I-4 Pied d'escargot [3]

I.3.2Anatomie interne :

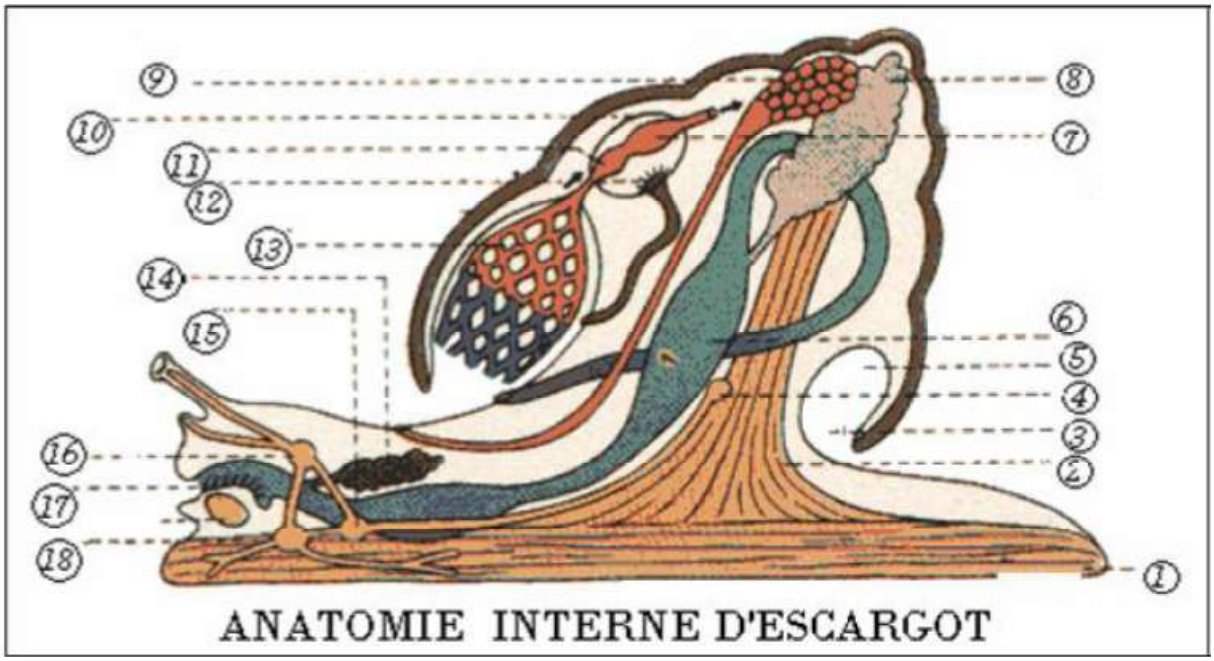


Figure I-5: Anatomie interne d'escargot [3]

Le Tableau I-1 représenté la nomenclature de l'anatomie interne de l'escargot

Tableau I-1: anatomie interne d'escargot

Numéro	Organe	Numéro	Organe
1	Muscle pédieux	10	Péricarde
2	Muscle rétracteur du pied	11	oreillette droite
3	Bourrelet palléal	12	Organe extérieur
4	Ganglion viscéral	13	Cavité palléale (poumon)
5	Cavité palléale	14	Glande salivaire
6	Intestin	15	Ganglion pleura
7	Ventricule	16	Ganglion cérébroïde
8	Foie	17	Radula
9	Glande génitale	18	Muscle lingual

- La cavité palléale, située entre le manteau et le corps, forme un poumon très simple qui communique avec l'extérieur par l'orifice respiratoire.
La surface interne du manteau, elle contient un riche réseau de vaisseaux sanguins qui se réunissent pour former une veine pulmonaire aboutissant à l'oreillette du cœur.

- Le cœur, formé d'une oreillette et d'un ventricule, est enfermé dans le péricarde.

- A côté du cœur se trouve un organe jaunâtre le rein

- A côté de l'orifice respiratoire se trouvent l'anus et l'orifice excréteur.

- Le rectum est facile à observer; il est longé par un petit canal, l'uretère, qui part d'un rein volumineux accolé au péricarde et aboutit à l'orifice excréteur.

- En arrière du bourrelet s'étend le manteau, enveloppe fine et transparente légèrement plissée.

- Le reste de la masse viscérale est formé par les tours de spire du tortillon contenant une masse brune, l'hépatopancréas organe cumulant les fonctions de foie et du pancréas.

- Des parties blanches correspondent à l'appareil génital. A l'intérieur des tours de spire du tortillon, se trouve un muscle nacré spiralé c'est le muscle columbaire qui entoure la columelle et permet à l'animal de rétracter son corps à l'intérieur de la coquille.

Ces couleurs sont des caractéristiques propres à tous les escargots,

I.3.2.1 Etude de l'appareil digestif :

➢ Un ensemble d'organes foncés qui sont les organes digestifs et d'autres organes qui font partie de l'appareil génital.

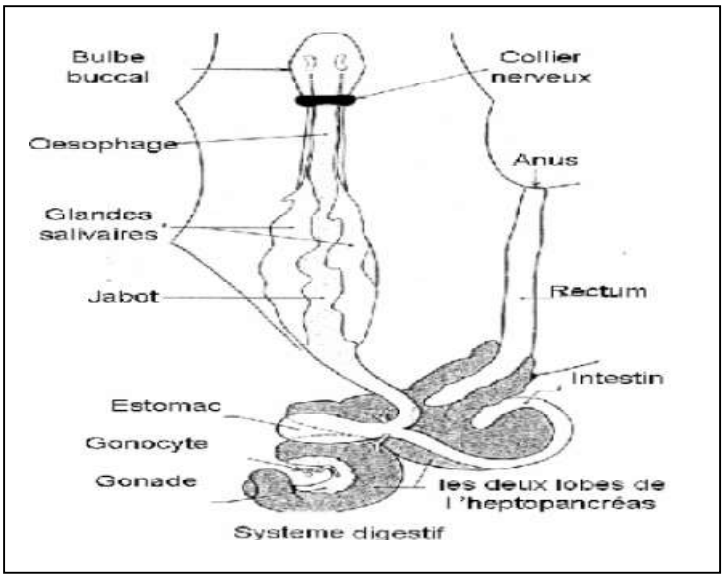


Figure I-6:L'appareil digestif **[5]**

➢ La bouche est placée sur la face ventrale de la tête elle donne accès dans un bulbe buccal volumineux qui se continue par un court œsophage s'élargissant en un estomac renflé que recouvrent deux glandes salivaires lobées.

➢ Deux longs canaux déversent la salive dans le bulbe buccal, L'intestin, très allongé, décrit dans un foie, où il reçoit les canaux hépatiques, une double circonvolution puis se réfléchit vers l'avant;

➢ le rectum vient aboutir à l'anus situé côté de l'orifice respiratoire à la partie supérieure. [4],[5].

➢ Une dent cornée, sur la langue, une sorte de râpe à dents nombreuses et microscopiques la radula, qui sert à la mastication des aliments [6], la Figure I-7 montre la dent et la radula.

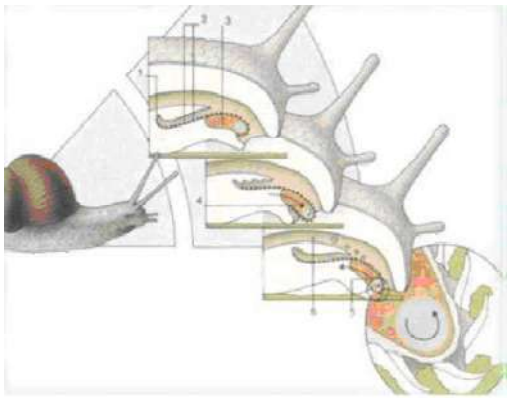


Figure I-7: La radula [7]

I.3.2.2Étude de l’appareil génital:

L’Escargot est un animal hermaphrodite, c’est à dire à la fois producteur de gamètes mâles et de gamètes femelles. Mais l’escargot ne possède qu’une seule glande génitale : la glande hermaphrodite. Elle est incluse dans la masse du tortillon, et on peut la trouver en remontant un canal court et sinueux, Le canal hermaphrodite. [6]

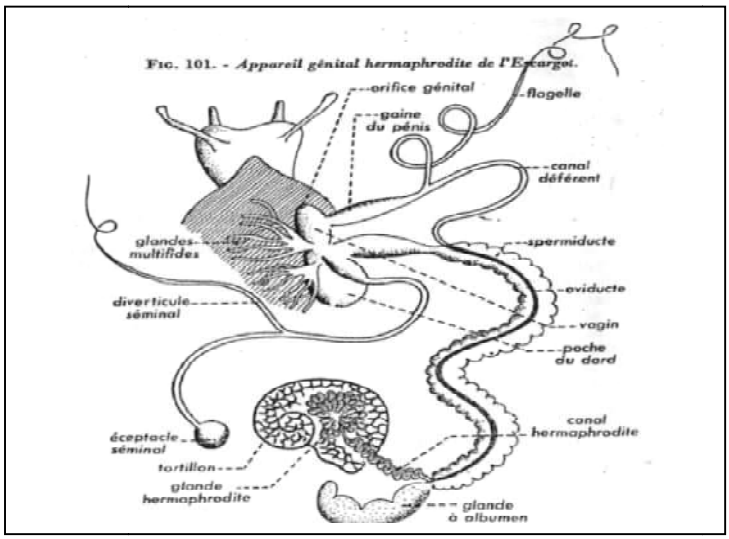


Figure I-8:L’appareil génital [5]

Ce canal aboutit à la glande à albumine, volumineuse glande annexe blanche; de là, part un large canal sinueux, le canal formé lui-même d’une partie plus large, l’oviducte ou conduit femelle et d’une partie étroite, le spermiducte ou conduit male. A l’extrémité du canal, oviducte et spermiducte se séparent. Avant d’arriver à l’orifice génital, le spermiducte reçoit un conduit allongé et fin, le flagelle, puis se renfle pour former la gaine du pénis.

L'oviducte aboutit également à l'orifice génital, mais reçoit auparavant un conduit venant de la poche copulatrice encore appelée réceptacle séminal. Dans cette région aboutissent également la poche du dard et des glandes ramifiées les glandes à mucus [5] [6].

I.3.2.3Locomotion :

L'escargot se déplace, seulement vers l'avant, grâce à son pied, qui est en fait un gigantesque muscle qui se contracte et s'allonge alternativement. Des glandes sécrètent aussi un mucus (sa "bave") contenant de la craie qui lui permet d'avancer plus facilement en glissant sur les obstacles et même verticalement. Le mucus sert aussi à l'escargot à se débarrasser de certaines substances comme les métaux lourdset entre aussi dans la composition de la coquille. Le mucus est épais, il durcit et sèche au contact de l'air en laissant une traînée brillante à la lumière. [3]



Figure I-9:Schémas d'un déplacement [3]

I.4Différentes variétés d'escargots

Avant d'énumérer les principales espèces d'escargots, on s'élargit un peu sur l'espèce ***Helix Aspersa***qui est la plus utilisée dans les élevages, et la plus présente en Afrique du Nord et surtout en Algérie.

L'espèce *Helix aspersa* est divisée en 4 *sous-espèces* ou *races*, qui diffèrent :

- Helix aspersa **aspersa**: Europe occidentale
- Helix aspersa **elata**: Afrique du Nord
- Helixa spersa **major**: Maroc
- Helixa spersa **maxima**: Algérie

Le Tableau I-2 qui suit décrit les différentes races d'escargots avec leurs caractéristiques différenciatives, leur lieu de vie et leurs noms et photos [7]

Tableau I-2: déférentes races d'escargots

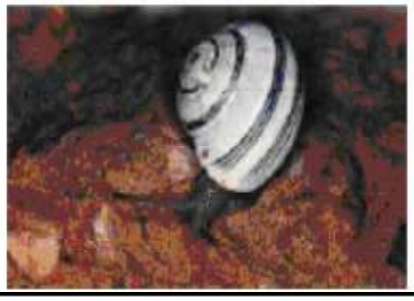
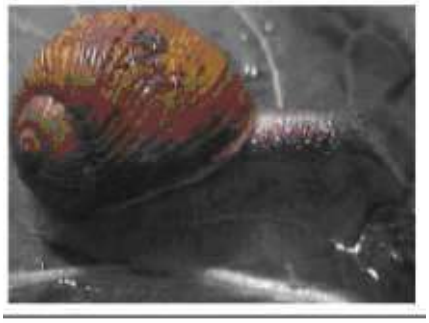
Photos	nom	Caractéristique
	***Helix aspersa aspersa***	On le trouve partout (jardin, fossé, bois, murets, champs, etc.). Cet escargot est originaire de la plupart des pays méditerranéens et de la façade atlantique française. Il a une taille de 28 à 35 mm pour un poids adulte de 7 à 15 g. Il représente moins de 10% de la production des transformateurs d'escargots. Il devient de plus en plus rare (pesticides, urbanisation, ramassages excessifs, etc.).
	***Helix aspersa maxima ou Gris-gris***	Originaire d'Algérie, c'est l'escargot le plus élevé en France, Espagne et Italie. Sa taille est de 40 à 45 mm pour un poids adulte de 20 à 30 g. On ne le trouve pas (ou très peu) à l'état sauvage.
	***Helix lucorum ou escargot turc***	Il a une coquille de 36-41 mm de hauteur et un diamètre de 40-43 mm. Chair verdâtre et goût terreux. Cousin de l'escargot de Bourgogne, il se déguste traditionnellement à la bourguignonne ou à l'alsacienne. On le trouve dans les bois clairsemés, jardins, zones montagneuses (1000 m). Turquie, Yougoslavie, Bulgarie, Mer Noire, Albanie, Italie, France (Centre et Sud

	***Helix chocolata delicium***	Cet escargot se rencontre un peu partout en Europe
	***Zonitea lgirius ou escargot peson***	On en trouve dans les escargotières. Il est facilement identifiable à sa couleur violette, à sa coquille aplatie et petite (environ 1 cm).
	***Helix ceratina (Pfeiffer, 1843) ou escargot de Corse***	L'escargot de Corse est un des mollusques les plus menacés. On le trouve qu'en Corse (France) sur quelques hectares seulement.
	***Cepaeahortensis ou escargot des jardins***	On l'appelle également "demoiselle". Comme le Petit-gris, on le trouve partout (bois, prairies, haies, etc.). Sa répartition occupe le centre et l'ouest de l'Europe ainsi que d'autres régions du monde où il s'est répandu tel que l'Amérique du Nord.
	***Cepaea nemoralis ou escargot des bois***	Son habitat est très varié et on peut le rencontrer dans le bois, les haies, les friches, les dunes et les prairies. On le confond souvent avec son cousin (Cepaea hortensias). Dimensions de sa coquille : H : 15-23.5 mm ; D : 19-30.5 mm Nombre de tours: 5,5 à 6.

	***Cepaea vindobonensis***	de même que les 2 précédents. Ces 3 espèces sont difficiles à différencier.
	***Eobania vermiculata*** ***ou*** ***mourguette***	C'est une espèce comestible méditerranéenne, bien répandue dans le Midi de la France, abondante surtout non loin du littoral. Le diamètre est de 1 cm à 1,5 cm environ.
	***Otalalactea***	Escargot d'origine marocaine, dont la chair est riche en protéines et pauvre en graisses. On le rencontre également en Espagne et dans le sud de la France
	***Otalapunctata***	Espèce protégée d'une taille de 20 mm environ. On le trouve en Espagne et au Chili.
	***Elonaq uimperiana*** ***ou*** ***escargot de Quimper***	C'est une espèce rare et localisée aux espaces forestiers humides et ombragés. On ne rencontre cette espèce que dans la partie sud Finistère et du Morbihan et au Pays Basque. Cet escargot possède une coquille très caractéristique de 2 à 3 cm de diamètre et de 10-12 mm de hauteur, aplatie et composée de 5 à 6 tours. Les jeunes individus sont soumis à une importante prédation de la part des Crabes.

	***Monacha cantiana***	La coquille est de couleur blanc-crème et dans quelques phénotypes plus sombres, fin à marron rosâtre vers l‘ouverture. Depuis la marge palléale extérieure s'étend, une bande de couleur rosâtre qui déborde en une très subtile ligne jusqu’à la partie interne du péristome, prés de l'épaississement, qui est à cet endroit de couleur blanche. L'animal a un pied vaste de couleur grise à beige avec des tentacules normalement plus sombres. Cette coquille a une taille de 11-14 mm de haut et 16-20 mm de large. On le trouve au nord-ouest de l'Europe et le bassin méditerranéen
	***Monacha cartusiana***	La coquille de cet escargot est brun crème ou rougeâtre pour une taille de 6-10 mm de haut et 9-17 mm de large. Elle a 5.5-6.5 spirales. On en trouve autour du bassin méditerranéen, dans l'Europe du Sud, mais également en Belgique, Allemagne et Hollande.
	***Arianta arbustorum***	Cet escargot provient d’Europe centrale jusqu’au Nord-ouest, y compris les Alpes et les Carpathes, de l’Est des Pyrénées (Espagne) au nord de la Norvège et de l’Islande, nord de l’Irlande, dispersé en Ukraine. La dimension de sa coquille est de 2-3cm de diamètre environ. Il habite les forêts et les habitats ouverts, en montagnes jusqu'à 2700 M.

	***Trichia hispida***	Ce petit escargot ne mesure que 4,5 à 6mm de haut et son diamètre n'est que de 7 et 9,5 mm. On le trouve dans les forêts, les parcs, les jardins ou prairies. Il a la particularité d'être poilu.
	***Portugalainchoata***	Sa coquille est fine et translucide, d'une couleur brunjaunâtre avec une bande dorsale très fine de couleur brun- rougeâtre, qui occupe la périphérie de toutes les spires. Dimension: Hauteur : 15.0-16.6 mm Largeur : 17.4-18.3 mm. Espèce endémique de l'Ouest Ibérien dont il existe des références dans tout le Portugal, et la Galice notamment. Il vit dans des zones fraîches vallées, terrasses alluviales, prés et lieux boisés.
	***Zonito idesnitidus***	Un escargot très petit, moins de 5mm avec une coquille fortement translucide. En France, on ne le trouve que dans la vallée de l'Eure.
	***Theba pisana***	C'est une espèce méditerranéenne introduite un peu partout, et qui a proliféré sur la façade atlantique de la France. Elle affectionne toutes sortes de terrains ouverts comme les friches, les talus, les pelouses, les dunes côtières, etc. C'est cet escargot que l'on voit agglutiné en grande quantité sur les tiges herbacées sèches.

	***Thebage minata***	Coquille de 18 mm. On en trouve aux iles Canaries et en Espagne.
	***Causa holosericea***	Il a une coquille brun-rougeâtre, ouverture blanche, avec des poils, 9-12 millimètres de large, 5-6 millimètres de haut. 4.5-5 spirales. On le trouve jusqu'à 2000 d'altitude dans les forêts (souvent conifère) des Alpes, Jura suisse, la Tchéquie et les Républiques de Slovaquie
	***Helix aperta***	La spirale de sa coquille est très brève, 31/2-41/2 tours convexe, croissante régulièrement et rapidement, le dernier tour est très large, arrondi, légèrement tourné vers le bas voisinant l'ouverture. De grosseur moyenne (23 à 27 mm de hauteur pour un diamètre de 23-26 mm), ce gastéropode vit préférentiellement dans la plaine ou près des côtes, mais aussi dans les Alpes Maritimes jusqu'à 900 mètres d'altitude. Il vit en France, en Italie et dans les régions méditerranéennes de l'Afrique.

On peut donc constater que les escargots sont des animaux dispersés un peu par tous dans le monde et se sont adaptés à l'environnement ; on peut voir les différentes adaptations sur plusieurs points.

I.5 Héliciculture :

I.5.1Environnement :

Dans la nature, on trouve les escargots dans les endroits moyennement humides et mouillés, auprès de l'ombre. Pour cultiver les escargots, il faut recréer l'environnement naturel

- **L'habitat :**

Les escargotières, sont des petits parcs de quelques m^2 montés avec des planches ou des parpaings, une clôture de planches de bois et un film anti-moustique afin de lutter contre les prédateurs terrestres (mulots, rats, campagnols,…etc.) qui pourraient pénétrer dans les enceintes [6]

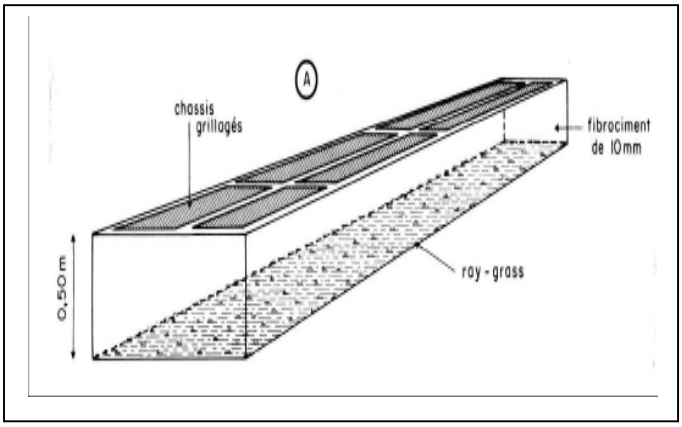


Figure I-10: Escargotière [5]

Les professionnels utilisent généralement des serres. Pour protéger les escargots des prédateurs (volatiles et lézards) on peut installer un grillage en plastique sur les volets supérieurs et au fond de L'escargotière (sous le terreau), un vieux grillage évitera l'arrivée de rats.

Dans ce genre d'escargotière on peut cultiver de 150 jusqu'à 300 escargots, tout dépend du genre, de l'âge et de la taille de ces escargots

- **Nutrition :**

Les Escargots ont un régime végétarien et causent de grands ravages dans les pâturages par temps humide et surtout la nuit.

Des chercheurs se sont penchés sur la régulation de la croissance et de la reproduction des Helixpar le milieu extérieur et certains vont jusqu'à proposer une médiation neurohormonale fort semblable à celle qui est décrite chez les vertébrés

Cette théorie attrayante ne doit pas faire oublier que pour grandir et se reproduire, l'escargot doit disposer de tous les éléments alimentaires et non alimentaires indispensables à son épanouissement physiologique. Cette évidence n'est pourtant pas facile à cerner.

Une étude a démontré que l'escargot *helix aspersa* est capable de capter le calcium lithique par la partie du pied qui est en contact avec le sol, et que cette prise calcique ne peut être remplacée par un apport alimentaire de calcium. [8]

Dans l’élevage professionnel, la nourriture est déposée à volonté ; cette dernière est constituée de :

- 30%: carbonate de calcium (ou de la craie broyée)
- 70%: aliment pour porcelets ou farines diverses (blé, pois, etc.)
- Minéraux nutritifs et vitamine pour escargot (ou même pour poules pondeuses) [9]



Figure I-11:La nourriture d'escargot [9]

- **L’eau :**

L'eau est distribuée aux escargots par brumisation et non par arrosage. Ce dernier est trop stressant pour les juvéniles.

Pour fournir de l’eau aux escargots, c’est très simple :

On fixe un tuyau en plastique aux rebords internes de la cloison et on visse dessous des diffuseurs en plastique dur, cela suffira pour créer l’effet brume. L’alimentation est réglée pour une fois par journée pendent 5 minutes lors des temps doux, sinon 4 à 5 par jour lorsqu’il fait chaud



Les diffuseurs



Le tuyau fixé a la clôture avec les diffuseurs

Figure I-12:Système d'humidification [9]

Le rôle de la brumisation est :

- Le remplissage des soucoupes (abreuvoirs) qu’il ne faut pas installer trop profond par risque de noyade
- La diminution de la température quand il fait trop chaud.
- Le réveil des escargots pour aller manger. Cela évite qu'ils restent collés durant plusieurs jours.

I.5.2Physiologie :

Comme de nombreux invertébrés, les principales fonctions vitales des escargots sont très dépendantes des conditions d'environnement, notamment des cycles jour nuit, de l'hygrométrie et de la température. Ainsi, les escargots sont connus pour être actifs pendant la nuit de même qu'au crépuscule et à l’aurore.

En dehors de conditions favorables, l'escargot se rétracte dans sa coquille. Il peut même s'isoler totalement de l'extérieur en produisant une pellicule, un épiphragme, Figure I-12, [10], qui obstruera l'ouverture de sa coquille. L'escargot de Bourgogne *Helix pomatia* mène dans la nature une vie à trois vitesses, avec une période active d'avril à octobre, une vie semi-ralentie durant les périodes de sécheresse contre laquelle l'escargot forme un voile muqueux pour se protéger de la déshydratation (estivation), et une période de vie ralentie constituée par l'hibernation, réelle vie léthargique où l'escargot qui s'est enterré dans le sol est isolé du monde extérieur par un opercule calcaire qui permet cependant les échanges gazeux avec l'extérieur.[9]



Figure I-13: Epiphragme [10]

Les *Helixaspersa*des régions européennes atlantiques (Petit-gris) hibernent, alors que les *Helixaspersa* des régions méditerranéennes (Gris-gris) subissent une longue estivation pendant les périodes de sécheresse

I.5.3 Reproduction :

Malgré leur hermaphrodisme, les Escargots s’accouplent. Cet accouplement s’accompagne d’un échange de gamètes mâles, ou plus exactement de spermatophores contenant des spermatozoïdes qui vont s’accumuler dans la poche copulatrice du partenaire. Là, ils attendront la maturation des ovules. [11],[12].



Figure I-14: Accouplement [12]

Les ovules ne se forment qu’après les spermatozoïdes. Ils sortent de la glande hermaphrodite par le canal de même nom, reçoivent les sécrétions de la glande à albumine et s’engagent dans l’oviducte à l’extrémité duquel ils seront fécondés par les spermatozoïdes contenus dans la poche copulatrice. [11,12]



Figure I-15 Les œufs [12]

Les œufs fécondés, protégés par une mince coque calcaire, sont pondus au nombre de plusieurs dizaines (50 à 80).L’Escargot les dépose dans des trous de 4 à 5 centimètres de profondeur qu’il creuse dans la terre humide, et qui sont bouchés après la ponte. Au bout de trois semaines, les œufs éclosent et donnent naissance à de minuscules Escargots déjà pourvus d’une fine coquille spiralée [11], [13].



Figure I-16: Petit d’escargot [13]

I.5.4 Technique d’élevage :

I.5.4.1 Les différentes techniques d'élevage

Malgré la multitude des pratiques en héliciculture, on distingue trois principales techniques d'élevage possibles:

I.5.4.1.1Élevage en parc en plein air

Jusqu'à présent c'est le seul type d'héliciculture qui donne des résultats encourageants, car il ne nécessite pas d'investissement coûteux, mais aucun contrôle sérieux n'est possible et l'élevage est soumis aux aléas climatiques d'une part et aux ravages des prédateurs et des parasites, d’autre part.

C'est une méthode extensive qui reste peu productive et repose sur le cycle naturel de reproduction de l'escargot. En effet, la seule intervention se résume dans la garnison des escargotières avec des reproducteurs au printemps.

Ce type d'élevage ne peut se faire que dans les régions où le climat s'y prête et que si on utilise des petits parcs.

L'avantage de cette méthode réside dans le fait que les besoins moins importants en parcs : au début, l'éleveur n'a qu'un seul parc à surveiller, au bout de 6 semaines il en aura 2 au premier dédoublement et par la suite 4 au second dédoublement. Les parcs libres peuvent servir à réaliser le second cycle d'engraissement des escargots non adultes et ayant subi une hibernation.

C'est la technique la plus simple, elle demande un petit investissement, mais elle n'est pas possible partout et pour l'instant elle n'est utilisée qu'avec le petit gris. Elle donne une productivité plus faible par reproducteur, mais en production par mètre carré elle donne des résultats au moins similaires à ceux obtenus en élevage mixte, avec une moindre charge de travail.

I.5.4.1.2Elevage en serre tunnel ou en bâtiment

L'installation en serre tunnel n'est pas trop coûteuse, mais il est difficile d'y maintenir une température adéquate surtout en automne et en hiver. Vu la déperdition importante de la chaleur par le film en plastique le chauffage de la serre n'est guère envisageable car le coût de l'énergie nécessaire ne serait pas rentabilisé.

Cependant, il est possible de faire la reproduction en serre tunnel au niveau de certaines régions à climat tempéré. Pour cela, il faut veiller à ce que les températures moyennes ne soient pas trop faibles. Le sol doit être tapissé d'un grillage, afin d'éviter que les reproducteurs ne pondent directement sur la terre. On placera régulièrement les pondoirs pendant 2 à 3 jours par semaines.Par contre l'incubation est réalisée sous bâtiment.

Le principal inconvénient est qu'un tel système ne peut pas être utilisé dans des régions froides.

L'installation en bâtiment est très couteuse d'où il faut utiliser la surface au maximum de ses possibilités.

Le bâtiment est plus ou moins isolé, ce qui permet de contrôler la température; l'hygrométrie et l'éclairement et supprimer également les pertes occasionnées par les prédateurs.

C'est l'escargot Petit-gris qui se prête le mieux à l'élevage intensif; l'engraissement des jeunes étant bien maîtrisé.

I.5.4.1.3Elevage mixte hors sol

Il consiste en la séparation des différentes phases d'élevage: la reproduction et le démarrage des jeunes sont réalisés dans un bâtiment contrôlé, alors que l'engraissement est effectué dans des parcs extérieurs en plein air

Cette technique d'élevage n'est envisageable que durant une partie de l'année car il est exclu d'utiliser les parcs pendant l'hiver dans les régions méridionales. Cette technique d'élevage constitue un excellent intermédiaire tant les techniques d'élevage sous abris ne soient pas encore totalement maîtrisées.

En effet, le choix technique d'élevage approprié pour l'escargot est la condition la plus importante pour la réussite de cette activité.

Les avantages et les inconvénients des différentes techniques sont présentés dans le Tableau I-3[4]: Ce tableau montre une comparaison entre les différents types d’élevage :

Tableau I-3: Les avantage et inconvénients des techniques élevave

ELEVAGE	AVANTAGES	INCONVENIENTS
Elevage hors sol (bâtimentintégral)	-Possibilité de produire toute l'année -Contrôle plus aisé des prédateurs -Croissance plus régulière et rapide -Conditions thermo-hydriques et luminosité optimales -Surface total nécessaire faible	-Frais annuels variables très élevés -Nécessite beaucoup de main d'œuvre et la disponibilité de locaux vastes -Risque plus important de développement d'épizootie et difficulté de contrôle des parasites
Elevage mixte (enserre tunnel)	-Mise en serre des escargots du1er au 15 mars -Possibilité d'engraisser deux lots de Gros-Gris toute l'année pour être commercialisé à la taille des Petit-gris adulte -Gain très important de main d'œuvre (facilité d'entretien…)	Mise en serre des escargots à partir du 1er mai (filet d'ombrage) - Difficulté de régler la température durant les fortes chaleurs
Elevage mixte (en parcs)	-Investissement faible -Facilité de l'entretien et de l'alimentation	-Engraissement plus extensif - N'autorise pas une mise en parcs des escargots avant le 1er mai - Protection anti-prédatrice éventuellement moins efficace - Récolte tardive

I.5.4.2Description d'élevage hors-sol :

Les escargots reproducteurs sont réveillés fin février - début mars. Les escargots sont protégés d'une éventuelle gelée par le dépôt d'un antigel sur les escargotières. Les pontes vont commencer 15 jours après le réveil. C'est à ce moment que la surveillance est quotidienne, cette attention particulière consiste à marquer les pontes avec un repère en plastique.

Après 2 jours, lorsque l'escargot a terminé sa ponte, on procède à la récupération des œufs pour les mettre sur un lit de terreau dans un mini serre. Cette dernière sera placée dans un local à 20°C environ. Il faut garder un taux d'humidité important jusqu'à l'éclosion qui aura lieu 3 semaines après.

Les petits sont mis dans les escargotières à l'âge de 7 à 15 jours environ. Si tout va bien, ils deviendront adultes dans 5 à 6 mois.

La méthode type d'élevage d'escargot consiste à prendre en compte tous les aspects influant sur la bonne production et le bon élevage des escargots.

I.5.4.2.1Approvisionnement en reproducteurs :

Il est préconisé d'utiliser des animaux en provenance de la nature, ramassés ou achetés sur un marché spécialisé entre les mois de mai et de septembre. Après un premier cycle de production, l'éleveur averti pourra utiliser des animaux en provenance de son élevage pour les mettre en reproduction. Il choisira les individus ayant eu la croissance la plus rapide et les placera en hibernation à partir de juillet, pendant six mois. Il faut compter sur un rendement d'environ 25 jeunes par reproducteur.

I.5.4.2.2Stockage des reproducteurs en hibernation :

L'utilisation de chambres froides pour l'hibernation permet de dessaisonner la reproduction au mois de janvier. Les animaux sont stockés en boites aérées de 200 individus, sans aliments et sans eau.

Une phase de transition à 15°C est effectuée avant le passage en chambre froide dans les conditions suivantes :

- température 5°C
- hygrométrie 85%
- photopériode 6h jour / 18h nuit

A la sortie d'hibernation, les animaux vivants sont placés dans des caisses de reproduction propres à raison de 100 individus par cage ou 500 par hamac.

I.5.4.2.3Reproduction :

Les conditions d'ambiance en reproduction sont schématisées dans le Tableau I-4

Tableau I-4:Les conditions de reproduction :

	Jour	Nuit
Durée d'éclairage	6 h	18 h
Température	20 C°	17 C°
Hygrométrie	90%	75%

- **Paramètres d'ambiance :**

Les escargots sont nourris. Les accouplements sont observés dès les premiers jours d'activité. La période de ponte s'étale sur 10 à 15 semaines. Les pots de pontes (décrits plus

haut) sont placés en incubation lorsqu'ils contiennent une ou plusieurs pontes. Il est déconseillé de placer les animaux ayant reproduit en hibernation, la mortalité étant alors très élevée.

L'incubation se déroule selon les modalités décrites plus haut. Selon les conditions, l'éclosion survient en 2 à 3 semaines.

- **Nursery :**

Les jeunes sont élevés dans des boites de nursery, Figure I-7, pendant 6 à 7 semaines pour les premiers nés, 1 à 2 semaines pour les derniers. La nourriture est distribuée à volonté et le poids des animaux double toutes les semaines,



Figure I-17: La nursery

I.5.4.2.4Engraissement en parcs extérieurs :

Les jeunes sont répartis régulièrement à proximité des mangeoires à raison de 300 jeunes par mètre linéaire d'abris mangeoires. L'aliment est distribué une fois par semaine et la quantité distribuée est ajustée en fonction de la consommation. Un arrosage est réalisé 3 à 4 fois par jour. Il faut prévoir 1 m^3 d'eau par m^2 de parc au cours de saison de production.

La date de chargement des parcs sera décidée en fonction de la température et du risque de gel (avril), la récolte des premiers escargots bordés débutera en juillet et se poursuivra tous les 15 jours.

Ceci a 2 avantages :

- Il est inutile de nourrir les animaux reproducteurs.
- La diminution de la densité favorise la croissance des animaux restants.

I.5.4.2.5Planning d’élevage:

Cycle de production sur un an : il nécessite un engraissement continu en parcs extérieurs d’avril à septembre. Pour disposer de jeunes à partir du mois d’avril, il faut dessaisonner la reproduction et donc l’hibernation.

Les reproducteurs sont ramassés dans la nature fin mai et placés en hibernation. Après 7 mois, en janvier, ils reprennent leur activité et se reproduisent, ce qui permet de disposer de jeunes qui pourront être placés en parcs à partir d’avril. En septembre, entre 70 et 80% des animaux sont bordés.

Cycle de production sur 2 ans : la reproduction est alors plus tardive et les jeunes sont placés en parcs à partir du mois de juin ; ils ne pourront pas tous terminer leur croissance avant l’automne et devront être mis en hibernation. Ils seront bordés au mois de juin de l’année suivante, laissant la place aux petits de l’année.

Ces 2 méthodes ne s’excluent pas et pourront être pratiquées simultanément.

Alimentation :

L’aliment est une farine dont la composition est la suivante :

- 40% de farine de céréales
- 18% de son de blé
- 20% de farine de protéagineux
- 20% de carbonate de calcium
- 2% de complément vitaminé et minéral

En effet, l’élevage intensif ne permet pas l’utilisation de végétaux verts. Ceux-ci s’altèrent rapidement, posent des problèmes de nettoyage, de main-d’œuvre et enfin donnent de moins bons rendements.

II.Mode de récupération, composition et utilisation de la bave d'escargot :

II.1Introduction :

Les écrits de l'antiquité dévoilent de multiples utilisations des animaux en général, et des escargots en particulier à différentes utilisations, alimentaire, cosmétique, environnementale et thérapeutique. L'animal entier ou en partie est présenté comme possédant des propriétés aussi diverses qu'étonnantes, associées à des recommandations qui semblent plus proches de la superstition que de réelles observations empiriques. Sa bave a connu aussi plusieurs utilisations et pour collecter cette bave des méthodes variées ont été mises au point, tout en assurant

- Moins de mortalité
- Absence de toxines

II.2Les méthodes de récupération :

II.2.1Méthode 01 : par picage

Le piquage de l'escargot par une pipette pasteur au niveau de pied, permet à l'animal de sécréter la bave

[14]

II.2.2Méthode 02 : par ajout de chlorure de sodium

En dégorge les animaux en présence de 1% en poids de chlorure de sodium (NaCl). Le mucus est recueilli, décanté, filtré et concentré à sec selon divers procédés : évaporation sous vide à basse température, lyophilisation, nébulisation, etc. [15]

II.2.3Méthode 03 : par des produits chimiques

Cette méthode a été utilisée par A. P. WILLIAMS qui a tué des escargots par immersion en éthanol aqueux à10% pendant 2 heures. Les coquilles ont été enlevées et chaque corps a été ouvert par la coupure le long de l'arête dorsale de la bouche au collier.

Les viscères ont été enlevés et les murs de corps ont été imbibés en acide chlorhydrique de 5% (massique) pour coaguler le mucus. Le matériel a été alors imbibé dans la solution de chlorure de sodium de 0,5% pendant une semaine suivie d'un traitement court en eau de chaux saturée. Le matériel a été extrait par le chauffage dans l'eau pour 2 heures à 70C°, à 80C° et à 90C°. [16]

II.2.4Méthode 04 : par enlèvement des pièces excrétoires.

Après la collection des' escargots, les coquilles ont été ouvertes pour enlever le corps charnu d'où les pièces excrétoires. Les pièces charnues ont été alors placées dans 250 ml de l'eau et ont été lavées plusieurs fois jusqu'à ce que le mucus ait été complètement lavé au loin. Ces lavages ont été rassemblés dans un seau en plastique, précipités avec de l'acétone et lyophilisés. [17]

II.2.5Méthode 05 : par grattage.

Le mucus est recueilli par grattage avec une lame de rasoir derrière l'animal rampant sur une plaque de verre jusqu'à l'obtention d'une quantité suffisante de bave. [18]

II.3Composition de la bave d'escargot :

La bave d'escargot est constituée de plus de 90 % d'eau. Parmi les autres constituants, on trouve les protéines, les principales étant la gélatine, l'élastine et l'allantoïne.

Le dosage des protéines est effectué par la méthode de Kjeldahl (voir annexe n° V), qui est basée sur le dosage de l'azote total pour déterminer le taux des protéines

Le tableau II-1résumé les résultats d'A. P. WILLIAMS

A côté de ces acides aminés on trouve des enzymes, Quevauviller a déterminé la composition chimique des Helix : plus de trente enzymes dans le suc digestif, de nombreuses enzymes dans l'hépatopancréas, le muscle et l'hémolymphe.

Des sucres sous forme des mucopolysaccharides sont été isolés à partir du mucus d'escargot.Des sucres composés ont été identifiés comme la glucosamine et, l'acide L-iduronique.

D'autres études [14] ont indiqués la présence de plus d'un type de matériau polysaccharide

Tableau II-1 : Les déférents composants de la bave d'escargot :

Acide amine	Poids sèche (g/100g)	Poids moléculaire (mol/10^4 g)	%Acide amine dans le total	N° de résidus d'acide aminé par 1000 AA
Alanine	5,69	63,8	5,82	72,3
Glycine	21,24	283,1	24,95	321,0
Valine	2,22	18,97	1,75	21,5
Leucine	3,02	20,74	2,07	23,5
Isoleucine	1,40	10,64	0,97	12,1
Proline	10,57	91,80	8,34	104,1
Phénylalanines	1,45	8,75	0,78	9,9
Tyrosine	1,41	7,78	0,71	8,8
Serine	5,70	54,2	4,92	61,4
Thréonine	2,90	24,4	2,2	27,7
Cystine	0,00	0,00	0,00	0,00
Méthionine	0,16	1,07	0,13	1,2
Arginine	7,88	45,6	16,43	50,9
Histidine	0,38	2,33	0,65	2,6
Lysine	1,07	7,30	1,33	8,3
Acide aspartique	7,84	58,9	5,37	66,8
Acide glutamique	12,85	87,4	7,89	99,1
Hydroxyproline	111,50	87,7	7,95	99,5
Hydroxylisine	1,14	7,2	1,29	8,2
Amide N	0,69	49,2	4,46	-
Total	99, 09	930,9		
Glucosamine	0,17	0,98	0,06	-
Galactosamine	0,48	2,66	0,26	-
Hexose	12,10	-	-	
Total	17,75			
Azote total Poids résiduel moyenne	15,47 (g/100g de poids sèche 93,6			
La récupération en poids	94,7			
La récupération de N	98,3			
Humidité	12,4			
Les cendres	0,76			

On trouve aussi des vitamines tel que la vitamine C, la vitamine A plus la vitamine E) et autres.

II.4Utilisation d'escargot et de sa bave :

II.4.1Domaine alimentaire :

L'histoire de l'escargot dans l'alimentation humaine remonte à la nuit des temps et pratiquement dès la préhistoire. Les coquilles retrouvées par les archéologues dans les cavernes habitées anciennement attestent que l'escargot fut dès cette époque ramassé pour être mangé.

L'escargot est un aliment très diététique car, la chair d'escargot se compose de 60 à 80 % de protéines pour moins de 1.3 à 1.7 % de matière grasse et de 1.3 à 1.4 % de matières minérales.

Il est préparé grillé avec un gratin de sel ou en ragoût avec une sauce, et il est cuisiné avec des tomates, parfumé à l'aneth, au fenouil, à la menthe fraîche.

Sans oublier que les œufs d'escargots sont mangés aussi comme caviar d'escargot, qui est très cher et difficile à collecter.

II.4.2Dans le domaine de l'environnement :

Les escargots peuvent pour partie refléter la qualité de leur environnement en accumulant dans leur chair ou dans leur coquille certains polluants ou même substances toxiques présentes dans leur milieu.

Selon la définition générale de Spellerberg [19], un indicateur biologique peut être défini comme une espèce reflétant l'état du milieu dans lequel elle vit. Elle doit pour cela répondre à un certain nombre de critères :

- Participer activement au fonctionnement de l'écosystème,
- être sédentaire, largement distribuée et facile à identifier et à échantillonner,
- être bioaccumulateur,
- être tolérant aux fortes contaminations de l'environnement,
- leur écologie et physiologie doivent être connues. [20 ,21]

Les 'escargots sont utilisés comme indicateur biologique. Ils remplissent les critères précédemment développés et sont reconnus comme des indicateurs écologiques pertinents [22,23]

- Ils représentent une biomasse significative au sein de la communauté des invertébrés du sol
- Ils occupent une situation privilégiée à l'interface sol-plante-atmosphère et ils intègrent des sources et voies de contamination multiples

•Ils possèdent des capacités de bioaccumulation importantes pour de nombreux polluants métalliques

•Ils présentent des réponses physiologiques (inhibition de croissance, de reproduction, mortalité) quand ils sont exposés aux contaminants,

•Ils constituent un élément des réseaux trophiques qui contribue au transfert des polluants du sol et/ou des plantes aux prédateurs [24]

A l'interface sol-plante-atmosphère, l'escargot intègre plusieurs sources de contaminations accessibles via différentes voies d'exposition (Figure II-1)

•digestive par ingestion de nourriture

•cutanée par diffusion des polluants du sol à travers l'épithélium du pied

•respiratoire par inhalation de gaz et/ou de particules atmosphériques [25]

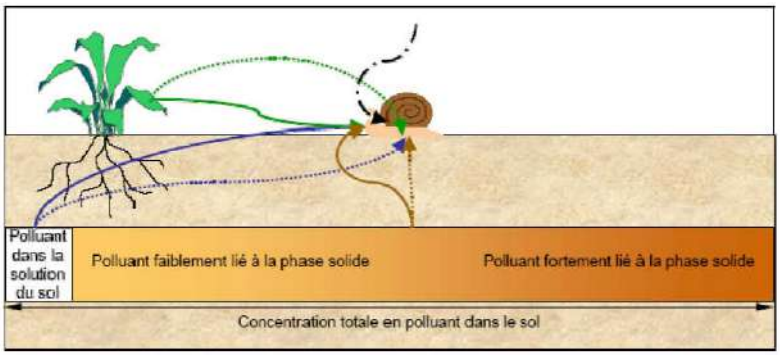


Figure II.1 Voies et sources d'exposition de l'escargot aux polluants [26]

L'absorption des éléments métalliques par les invertébrés est étroitement liée à :

•La fréquence et à la durée de l'exposition,

•Aux interactions entre le milieu et l'élément considéré

• Aux caractéristiques des différentes sources d'exposition

Chez *Helix aspersa*, la contribution du sol à l'accumulation totale des éléments traces métalliques est supérieure à 80% pour le Pb, comprise entre 30 et 60% pour le Zn et entre 2 et 40% pour le Cd [27]

Lors de l'exposition au sol comme seule source de contamination, la voie digestive contribue à environ 90% de l'accumulation de Cd chez des *Helix aspersa*[25]

Bien que l'absorption cutanée soit relativement faible chez l'escargot, elle n'est pas négligeable

L'accumulation dans les organismes est due à des processus d'absorption et assimilation de distribution, de stockage et d'excrétion.

La glande digestive (ou hépatopancréas) contient systématiquement les plus fortes concentrations en Cd, Pb et Zn

Le tube digestif également joue un rôle dans le stockage du Cd, le pied apparaissant plus comme un site d'accumulation transitoire en liaison avec l'absorption cutanée [28]

Le Cu, associé à l'hémocyanine, est distribué de manière plus homogène dans le corps entier et s'accumule principalement dans le manteau et le pied [29]

La coquille des escargots n'est pas un site de stockage important pour le Cd et le Zn. Des escargots (H. aspersa), prélevés dans des zones hautement contaminées, présentent des concentrations de l'ordre de 1 $\mu g.g^{-1}$ [30]

Seul le Pb a été retrouvé dans la coquille, mais à des quantités n'excédant pas 3% des quantités totales accumulées dans l'organisme [31]

II.4.3Domaine cosmétique :

Le domaine cosmétique est très vaste, et se subdivise en plusieurs catégories, tous essentiels et complémentaires pour le corps humain.

L'escargot est aussi utilisé dans plusieurs cas dans ce domaine,

La peau est la partie la plus exposée du corps humain aux agressions extérieures (climat, eaux, produits…etc.) ou intérieures (activité hormonale, sueur, allergies…etc.). Et connaissant la composition de la bave d'escargot : une multitude de composés tels que les vitamines, sels et oligoéléments qui sont une source nutritive, essentielle et bénéfique pour le tissu de la peau, et qui peuvent l'aider à se régénérer et àéliminer les traces des agressions précédentes.

Plusieurs exemples sur l'effet de la bave d'escargot sur la peau, on cite :

➢**L'acné :** Pour remédier à l'inflammation des glandes sécrétant le sébum aux racines des cheveux.

On peut utiliser la bave d'escargot enrichie par l'aloès. La richesse de la bave en peptides (élimine les microbes autour de la surface de la peau et les pores), en acide glycolique (améliore la texture et l'apparence de la peau), en calcium (réactif a la transpiration) et bien d'autres éléments ; mélangé à la légèreté et à l'effet antiallergique de l'aloès constitue le parfait remède contre cette maladie. [32,33,34]

➢**Les rides :** C'est un problème auquel sont confrontés tous les jeunes (femmes et hommes) quis'intéressent à l'allure de leurs visages.

Les rides reflètent la modification des structures de sillons qui confèrent la fermeté à la peau.Le creusement des sillons plus profonds cause une perte d'élasticité passant par l'extension de la surface de la peau et par la perte d'élasticité du collagène et de l'élastine.

Les rides sont le fait du vieillissement de la peau, mais aussi aux contractions mécaniques de cette dernière comme les rires et les grimaces. [35]

Parmi ses composants, la bave d'escargot contient du collagène pur et de l'élastine. Elle peut donc faire l'objet d'une crème parfaitement efficace contre les rides et les signes de vieillesse de la peau. Mélangée aux AHA (Alpha Hydroxy Acides) elle donne un résultat très convaincant [32,33,34]

➢**Les brûlures :**

Les brûlures sont des lésions de la peau provoquées en général par une exposition à une chaleur intense ou à un contact avec un agent chimique.

Après la guérison la peau endommagée, peau morte, empêche la régénération de la peau vivante se qui peut créer un grand embarras pour le brûlé surtout en cas des brûlures sur les parties visibles du corps (visage, mains, pieds).

La bave d'escargot contient l'allantoïne qui favorise et accélère la régénération de la peau brûlée ou morte. Plusieurs brevets font mention de ce composant, certains privilégiant l'allantoïne extraite de la bave d'escargot. La bave contient aussi de la vitamine C et la vitamine E qui aident la régénération de la peau et la reproduction de nouvelle peau [33,34].

➢**Les plaies et cicatrices:**

Processus intervenant après l'ouverture des parties molles du corps secondaire à un agent mécanique externe, à une agression (traumatisme direct, brûlure, blessure, maladie, intervention chirurgicale, etc.), ne s'accompagnant pas de perte de substance. Cette guérison de la plaie ainsi constituée peut se faire spontanément (d'elle-même), on parle alors de cicatrisation de première intention. Mais dans certains cas elle nécessite l'intervention humaine consistant, entre autres, à suturer par réunion (fils ou agrafes) les bords de la plaie [36].La bave d'escargots contient des éléments nutritifs comme les glycoprotéines (favorise et accélère la régénération des tissus de peau), l'allantoïne et plusieurs vitamines, ce qui donnent à

cette bave l'aptitude d'éliminer ou au moins de diminuer les nouvelles ou anciennes cicatrices [33,34]

II.4.4Dans le domaine thérapeutique :

Les écrits de l'Antiquité dévoilent de multiples utilisations des animaux en général, et des escargots en particulier à des fines thérapeutiques. L'animal entier ou en partie est présenté comme possédant des propriétés aussi diverses qu'étonnantes, associées à des recommandations qui semblent plus proches de la superstition que de réelles observations empiriques.

Hippocrate recommande le mucus de limaçon contre la protocèle. Celse considère l'escargot cru et pilé avec sa coquille comme cicatrisant ; bouilli il aurait des propriétés émollientes. [15]

Pline a également recommandé des escargots pour le saignement du nez et des douleurs d'estomac et de nombreuses autres pathologies [37]

L'escargot d'eau est également présent dans la Pharmacopée universelle, écrite par Lemery en 1738, en France: utile pour la rougeur de la peau et peut être utilisé pour nettoyer le visage. Il peut également être utilisé en interne pour les spasmes avec crachat du sang qui accompagnent la tuberculose.

L'œuvre de George Tarente qui, en 1808, a publié un livre sur les escargots et leur capacité de guérir des hernies [38]

Parlant de jus d'escargot, Tarente a indiqué que «sa viscosité, sa contraction ou la force astringente, et sa capacité de reproduction m'a permis immédiatement de supposer qu'il allait fermer les ouvertures hernie. [38]

En 1840, il est utilisé en toute confiance par certaines personnes pour les maladies de poitrine, La tuberculose, le rhume résistant, la tuberculose des premiers et seconds degrés, les affections thoraciques aiguës et chroniques et les irritations intestinales. Les pommades d'escargots sont seulement à usage externe pour traiter les gerçures et l'efflorescence d'une plaie. Figuier mentionne les propriétés d'helicidés, une huile jaune transparente, extraite d'Helix pommait, mais aussi de «toutes les grandes espèces d'escargots» [39]

Baron-Barthélémy, un pharmacien à Béziers (Hérault, France), a publié un rapport sur les formulations pharmaceutiques à base d'hélicidés qui ont été approuvées des effets sur l'inflammation lente des organes pulmonaires, la plupart des inflammations, et surtout contre le froid et la toux, les bronchites, catarrhes, asthme, divers types d'hémoptysie, amygdalite,

pharyngite, enrouement, maux de gorge, la grippe, le croup. Coqueluche nerveux, toux des enfants, maladies pulmonaires comme la pneumonie et la tuberculose pulmonaire, de l'estomac nerveux et les crampes intestinales, gastrite, kastro-entéralgies, maux de tête provenant d'un trouble pathologique de l'estomac, la toux qui suit ou qui vient avec les maladies inflammatoires de la peau telles que: la rougeole, la scarlatine, les petites la variole, l'érysipèle [40]

L'édition 1945 de l'Orvault consacre encore un paragraphe entier aux escargots, en indiquant que l'usage thérapeutique des escargots était encore vivant. En France, Quevauviller a préparé une étude relativement exhaustive des propriétés thérapeutiques de l'escargot en 1953 et afférent à l'utilisation du sirop d'escargot dans les années 1920 pour les patients souffrants de bronchite chronique [41].

Des recherches récentes ont confirmé les propriétés sédatives de plusieurs formulations basées sur *Helix pomatia* pour la coqueluche et la bronchite chronique, liées à l'antispasmodique et fluidifiante propreté des sécrétions. Quevauvillera alors également passé en revue les activités pharmacologiques du mucus *helix pomatia* une activité in vitro mucolytiques, son effet inhibiteur sur les bactéries et spasmolytique et de l'activité dans les voies respiratoires. Les chercheurs ont conclu que «les activités antispasmodiques de mucus helix sur l'arbre bronchique été observés qu'à des doses élevées, loin de toutes les doses thérapeutiques. [38]

En 1999, Pons et al ont démontré que helicidine à un effet broncho-relaxant liée à la libération de prostaglandines E2 et inhibée par prétraitement des indométacines, un inhibiteur de la cyclo oxygénase [42]

D'autres scientifiques intéressés par le rôle d'helix pomatia en médecine, de par l'existence d'une lectine appelé Helix pomatia agglutinin (HPA) qui est utilisée comme un indicateur de pronostic de certains cancers, comme ceux du sein, de l'estomac et le côlon. [43]

Les chercheurs ont également examiné l'espérance de vie des populations qui mangent les escargots. Une étude comparative a été réalisée dans sept pays différents, révélant qu'il y avait 20 fois moins de décès liés aux maladies cardiovasculaires en Crète comparaison avec les USA. Parmi les explications proposées .On peut observer que les gens de Crète mangent de grandes quantités d'escargots. Les analyses indiquent que ces escargots sont différents des autres. Ils sont riches en acides gras dérivés de l'herbe naturelle qu'ils consomment. Le plus célèbre est le soi-disant pourpier, il s'agit d'un acide a-linolénique qui a été signalés à avoir un effet protecteur contre les maladies cardio-vasculaires [44]

La FDA a également manifesté son intérêt pour les escargots. Dans les années 1980, des enquêteurs américains de l'Université de l'Utah ont évalué des centaines de neurotoxines dérivées de l'escargot de mer appellent ziconotide (SNXIII), un peptide synthétique dérivé du venin d'escargot a été sous examen par la FDA depuis 1999. Des études précliniques et cliniques de ce nouveau médicament indiquent un effet anesthésique puissant. Au cours des essais cliniques contrôlés, le ziconotide réduit intensité de la douleur de 53% (contre 18% pour le placebo), même chez les patients insensibles à la morphine [45]

En 2000, une nouvelle neurotoxine, conotoxine TVIIA a été extrait de con-nous Tulipa, un poisson mangeur d'escargot de mer. Enfin, en 2001, un autre peptide, le contryphan dites Vn, a été extrait du venin d'un escargot de la Méditerranée [46]

III.Généralités sur la formulation :

III.1Introduction

Le développement des formes pharmaceutiques ou cosmétiques a pour but l'élaboration d'une substance à partir de substances actives ; avec les meilleures garanties de qualité ; d'efficacité et de sécurité. Il consiste à rechercher l'adéquation optimale entre les caractéristiques des substances actives et celles de la forme à élaborer ; grâce à des contraintes de tout ordre.

Dans le cadre général du développement des formes à application locale, il se pose des problèmes particulièrement difficiles à résoudre ; du fait notamment :

- De la complexité et de la variabilité de la peau et des muqueuses sur lesquelles ces formes sont appliquées,
- Des différents types d'activité attendus,
- De la difficulté des contrôles in vivo; en raison de la très faible quantité de principe actif passant dans la circulation générale à partir d'une application cutanée,

Comme toutes les études de développement, celles des formes à application locale sont effectuées par étapes successives :

- 1er étape : études d'orientation
- 2eme étape : études de pré-formulation
- 3eme étape : études de formulation
- 4eme étape : études du procédé et validation

III.2Études d'orientation

Avant d'entreprendre la mise au point, il est nécessaire de rassembler un certain nombre de données préalables qui constitueront les bases du développement et guideront les choix ultérieurs. Ces études d'orientation sont particulièrement importantes pour les formes à application locale ; car le passage transcutané est lié à des paramètres d'ordre physiologique qu'à des paramètres physicochimiques.

III.2.1Paramètres d'ordre physiologique

III.2.1.1La peau

Plus qu'une enveloppe extérieure, la peau, Figure III-1 est un organe à part entière qui joue un rôle essentiel, non seulement dans la protection du corps contre les agressions extérieures, mais aussi sur le plan esthétique et émotionnel. La peau respire, elle est sensible aux agressions extérieures et elle réagit à notre état de santé général ainsi qu'à l'équilibre hormonal.

Pour conserver toute la vie une peau en bonne santé, il est important de bien comprendre son fonctionnement.

La peau se compose de trois couches :

- l'épiderme,
- le derme
- l'hypoderme

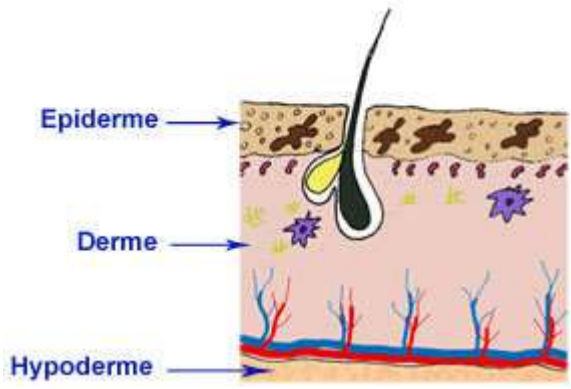


Figure III-1. Structure de la peau [47]

III.2.1.1.1L'épiderme

L'épiderme, Figure III-2 et Figure III-3, est la couche la plus superficielle, celle qui est en contact avec l'extérieur. L'épiderme est la surface de la peau. Elle est composée de cellules mortes qui sont éliminées continuellement. L'épiderme est constitué de :

- kératinocytes
- mélanocytes
- cellules de Langerhans

Les kératinocytes : issus de la couche la plus profonde de l'épiderme (appelée couche germinative ou couche basale), ils migrent à la surface de la peau et se renouvellent régulièrement. Ils sont remplis de kératine, des filaments très résistants, les mêmes que ceux trouvés dans les cheveux et les ongles, et de lipides. Durant leur migration, ces cellules s'aplatissent peu à peu et finalement meurent à la surface de la peau. Elles forment alors la couche cornée, véritable bouclier semi-perméable. De 50 microns au niveau des paupières, la couche cornée peut atteindre un centimètre aux paumes et aux plantes de pieds.

Les mélanocytes : sous l'effet des ultraviolets, ces cellules produisent la mélanine, le pigment à l'origine du bronzage. La mélanine est transférée aux kératinocytes dont elle protège le noyau.

Les cellules de Langerhans : issues de la moelle osseuse, elles appartiennent au système immunitaire de défense. Elles protègent des intrus éventuels (substances chimiques, virus, bactéries, facteurs d'allergie) en les capturant. Elles repèrent également les cellules anormales et déclenchent leur élimination.

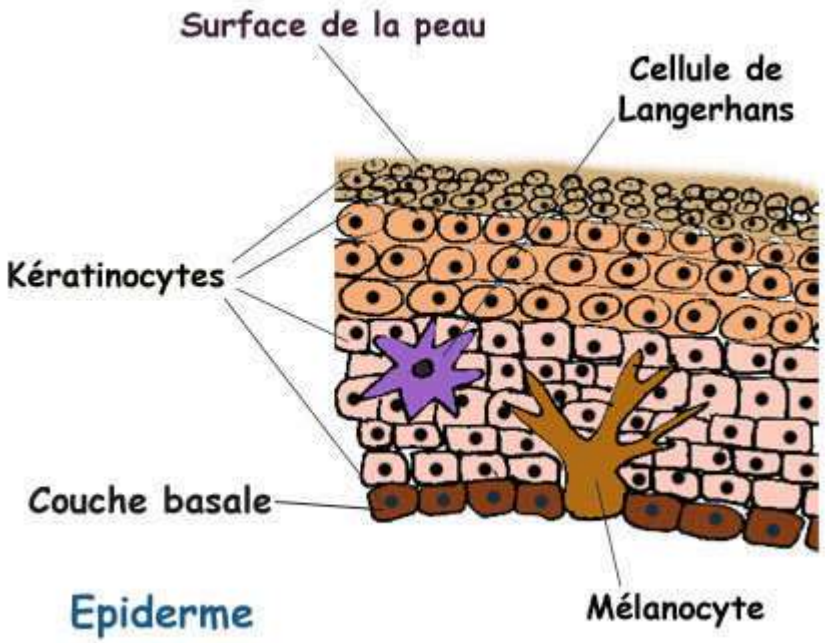


Figure III-2. Structure de l’épiderme [47]

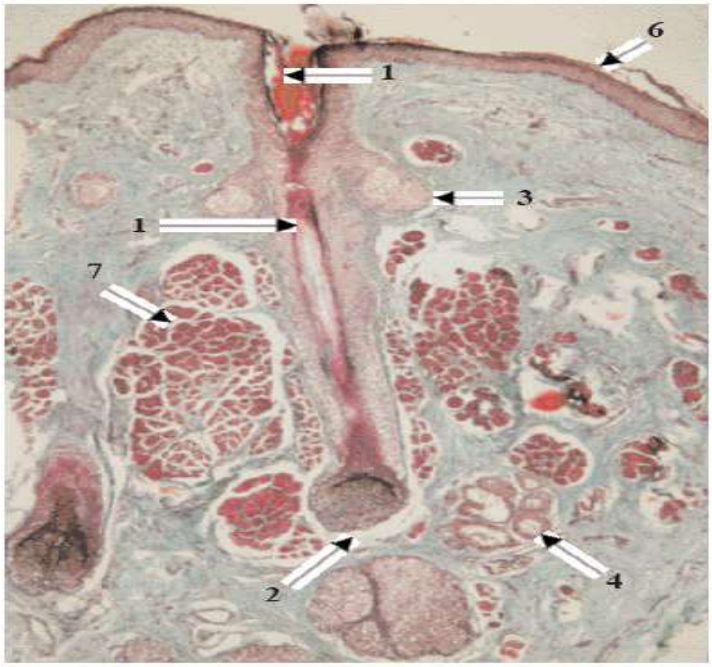


Figure III-3:les annexes épidermiques [48]

1 = tige du poil, 2 = follicule pileux, 3 = glande sébacée, 4 = glandes sudoripares apocrines,5 = glandes sudoripares eccrines (indépendant du follicule pilo-sébacé),

6 = épiderme, 7 = muscle strie

III.2.1.1.2Le derme

Le derme est riche en fibres collagènes et élastiques, qui assurent à la peau sa résistance et son élasticité. Le derme se situe juste en dessous de l'épiderme. C'est là où les cellules se multiplient pour remplacer celles qui sont éliminées. Contrairement à l'épiderme, il contient de nombreux vaisseaux sanguins qui assurent la nutrition de l'épiderme. On trouve dans le derme des terminaisons nerveuses spécifiques, sensibles au toucher, à la douleur et à la température qui permettent la protection et la réparation des tissus endommagés.

En effet, le derme est essentiellement constitué d'une protéine appelée collagène, laquelle élabore le tissu cicatriciel pour réparer les coupures et les écorchures. Le derme renferme également la base du poil.

III.2.1.1.3 L'hypoderme

L'hypoderme est la couche la plus profonde de la peau. Sous le derme se trouve l'hypoderme qui est une couche adipeuse sous-cutanée. Cette couche de peau est riche en graisse et en vaisseaux sanguins, son rôle est d'amortir les pressions auxquelles la peau est soumise et de

protéger l'organisme des variations de température. L'hypoderme se trouve essentiellement dans les parties du corps devant supporter un impact important, comme les fesses ou les talons. Il est quasi-inexistant dans les autres zones. [**47**]

La maitrise du degré de pénétration, Tableau III-1, du principe actif contenu dans une forme pour application locale sera l'objectif prioritaire du développement. Elle passe par la définition préalable du niveau d'activité et de l'effet attendu de la forme envisagée ; [49]

Tableau III-1. Influence du degré de pénétration sur l'activité [49]

Niveau d'action	**Effet attendu**	**Degré de pénétration**
Activité de surface		
Surface	•protection •antiseptique •antisolaire ; etc.	Nulle
Couche cornée	•émolliente •exfoliante ; etc.	Faible
Activité épidermique		
Epiderme	•antiseptique (antibiotique et antifongique) •anti-inflammatoire •antiphlogistique •anesthésique •antiprurítique •antihistaminique ; etc.	Moyenne
Activité dermique ou systémique		
Derme	•hormonal •cardiovasculaire	Elevée

Il est important de connaître les caractéristiques de cet organe pour savoir comment empêcher ou au contraire favoriser la pénétration cutanée.

III.2.1.2Pénétration cutanée

L'absorption percutanée correspond au transfert d'une substance à travers la peau, Figure III-3, depuis le milieu extérieur jusqu'au sang. Elle peut être définie comme la somme de deux phénomènes : une pénétration des molécules au sein de la peau entière, suivie d'une résorption par la circulation sanguine ou lymphatiques depuis le derme papillaire puis le derme profond

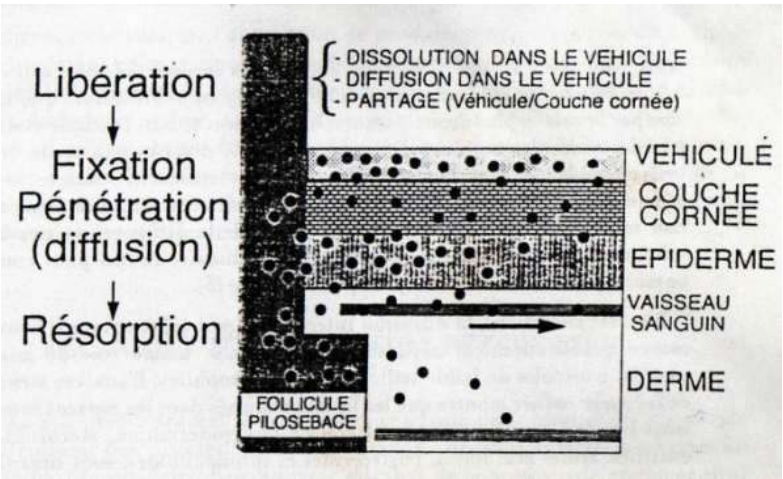


Figure III-4. Représentation schématique des différentes phases se succédant lors de la mise à disposition d'un produit à usage topique à la systémique

L'étape de pénétration en terme physique, est une diffusion passive à travers chaque structure du tégument : couche cornée, épiderme de Malpighi derme et annexes cutanées.

Elle est sous la dépendance préalable d'un partage, se produisant à l'interface environnement couche corné, sans laquelle aucun échange n'est possible.

Cette étape indispensable correspond ; à partir du milieu extérieur ou du véhicule, à la libération de la molécule qui va diffuser, donc à sa mise à disposition de l'organisme.

Une fois absorbée, la substance est distribuée dans l'organisme puis après avoir été ou nom métabolisée, elle est éliminée [49].

III.2.2Paramètres d'ordre physicochimique

A la différence d'une préparation cosmétique; une forme pour application à usage externe est destinée plus souvent à contenir un ou plusieurs principes actifs à usage thérapeutique local et/ou systémique

Il faut préciser donc les données d'ordre physiologiques pour pouvoir localiser l'effet optimal et le degré de pénétration. Ceci passe par le réassemblage des principales caractéristiques physicochimiques du principe actif par la recherche de type de véhicule le plus adapté au niveau d'absorption nécessaire et la manifestation de l'activité à conférer.

Parmi ces caractéristiques, la réactivité et la solubilité sont particulièrement importantes.

a/ Réactivité

Elle est liée aux groupements fonctionnels de la molécule et va régir la stabilité du principe actif dans la forme. Elle détermine un certain nombre d'incompatibilités qu'il doit éviter par le choix d'excipients appropriés

b/ Solubilité

Quelle que soit la forme pharmaceutique, son efficacité *in* vivo est liée à deux préalables:

- la libération du principe actif par la forme:
- l'absorption du principe actif libéré.

Dans les deux cas, les caractéristiques de solubilité et les coefficients de partage sont des paramètres déterminants

c/ Libération du principe actif à partir de la forme

Dans une forme topique ; en général pâteuse, le principe actif viendra au contact de la peau après diffusion dans la masse du véhicule.

Cette diffusion va dépendre de la relation concentration saturation.

- Si le véhicule est un bon solvant du principe actif et si la concentration est loin de la saturation, la forme retiendra le principe actif qui aura peu de chances de diffuser à l'extérieur, si ce n'est à une vitesse trop lente pour que la libération soit significative.
- Au contraire, les meilleures conditions de diffusion seront réunies si la quantité dissoute correspond à la concentration à saturation.

La solubilité du principe actif dans le véhicule dépend de la nature réciproque du dérivé et des excipients mis en œuvre. Il y a différents moyens de la moduler. Dans tous les cas, il y a diffusion du principe actif vers la peau ***;*** le coefficient de diffusion dans le véhicule dépend de l'équilibre thermodynamique entre le produit et les excipients utilisés. Cet équilibre peut être déplacé, s'il n'est pas favorable, par un changement du dérivé du principe actif et/ou par une modification des excipients constituant le véhicule.

d/ Absorption du principe actif

Après diffusion dans le véhicule, le PA atteint la surface de la peau où le passage transcutané se fera par un autre processus de diffusion : c'est une diffusion passive qui selon l'équation d'Higuchi va dépendre de la différence de concentration entre la forme et les couches superficielles de la peau.

$$Cp = Cv \times Pc$$

Avec :

Cp : concentration dans les couches superficielles de la peau

Cv: concentration dans le véhicule

Pc: coefficient de partage véhicule/peau

En théorie, il y aurait intérêt à retenir un véhicule capable de dissoudre une quantité maximale de PA. En réalité il faut aussi tenir compte de l'activité thermodynamique de cette solution. L'ionisation, par exemple, augmente considérablement la solubilité en phase aqueuse, mais elle abaisse encore plus l'activité thermodynamique qui devient trop faible pour permettre la diffusion du produit à travers une phase lipidique (phase huileuse d'une émulsion. couche cornée de la peau).

Dans ce cas, il ne faut pas rechercher la dissolution maximale d'un sel mais s'orienter plutôt vers les solutions moins concentrées du produit à l'état non ionisé dont le coefficient de partage sera favorable à la pénétration.

D'une façon générale et d'après l'équation d'Higuchi, il est préférable pour augmenter Cp, d'augmenter Pc plutôt que Cv [50].

III.3Études de préformulation

La préformulation est destinée à la sélection des principales substances auxiliaires adaptées à une forme qui définit des contraintes dont la hiérarchie est variable suivant les cas :

- Type de traitement et degré de pénétration
- Importance du flux de passage pour une activité significative
- Nature de principe actif, stabilité, solubilité etc.
- Type de forme (qualité cosmétologique, tolérance…)

Les substances auxiliaires utilisées pour constituer un véhicule satisfaisant aux différentes contraintes peuvent être classées en deux grandes catégories:

- Le constituant principal (lipophile et hydrophile)
- Les adjuvants (agent de structuration, tensioactif, conservateurs, stabilisants, etc.

Les premières études de préformulation sont destinées à compléter les données générales d'ordre physicochimique sur la substance active par des déterminations plus spécifiques orientées vers le choix du constituant principal du véhicule.

Ces déterminations portent essentiellement sur :

- Les possibilités de sursaturation
- L'effet des tensioactifs
- Le comportement en suspension pour les principaux actifs insolubles
- La stabilité du principe actif dans un véhicule
- La recherche de dérivés du principe actif

III.3.1Recherche de la solubilité maximale

Les données habituelles dans les solvants classiques polaires et apolaires sont complétées par des essais à saturation dans des excipients simples et complexes [51]

III.3.2. Les tensioactifs

Les tensioactifs ou agents de surface, appelés en anglais surfactants (abréviation de Surface Active Agents) sont des composés chimiques qui sont capables de modifier la tension superficielle entre deux surfaces, ce qui a pour effet d'augmenter les propriétés mouillantes. Ils permettent la formation d'émulsions, de mousses, ainsi que le transport de molécules hydrophobes dans l'eau. Les molécules sont composées d'éléments hydrophobes ou lipophiles et d'éléments hydrophiles. Les propriétés des tensioactifs sont dues :

- A leur structure amphiphile : Cette structure leur confère une affinité particulière pour les interfaces de type *air/eau* et *eau/huile* et donc une adsorption,
- Par là même, leur donne la capacité d'abaisser l'énergie libre de ces interfaces par la formation des micelles (auto agrégation). Ce phénomène est à la base de la stabilisation de systèmes dispersés.

L'une des propriétés importantes des tensioactifs et leur adsorption aux interfaces. La concentration de tensioactifs au-dessus de laquelle les micelles commencent à se former est appelée concentration micellaire critique (CMC) [52].

Il existe quatre types de composés tensioactifs, qui sont regroupés selon la nature de la partie hydrophile :

- Les tensioactifs anioniques : la partie hydrophile est chargée négativement.
- Les tensioactifs cationiques : la partie hydrophile est chargée positivement.
- Les tensioactifs zwitterioniques ou amphotères : la partie hydrophile comporte une charge positive et une charge négative, la charge globale est nulle.
- Les tensioactifs non ioniques : la molécule ne comporte aucune charge nette.

Les tensioactifs en plus de leur action sur la solubilisation, ont la propriété d'agir sur la couche superficielles de la peau, probablement par modification de l'activité membranaire.

Après les essais de solubilité du principe actif dans quelques excipients séparés, il sera utile, en préformulation des émulsions de vérifier l'influence des agents de surface sur des solutions simples (dans l'eau et dans les excipients gras).

III.3.3. Stabilité du principe actif dans le véhicule

Au terme des études préalables sur la solubilité, la préformulation est destinée à vérifier la stabilité du principe actif dans le type de véhicule paraissant le plus apte à l'obtention de l'efficacité attendue.

Les phases lipidiques simples ne posent pas en général des grandes difficultés car le principe actif yest peu réactif; ce sont les réactions d'oxydation qui sont le plus à craindre, mais les conservateurs des corps gras (antioxydants) seront également efficaces sur les produits liposolubles. Les difficultés augmentent avec la complexité des produits de base mis en œuvre et celle des phases du véhicule.

La stabilité en phase aqueuse doit notamment être étudiée de façon rigoureuse avec la recherche éventuelle de stabilisants appropriés ;en particulier le pH optimal sera maintenu par des tampons.

Les études de préformulation doivent permettre de définir les grandes lignes du meilleur compromis que le formulateur devra ensuite trouver pour concilier les contraintes bien souvent opposées de:

- stabilité;
- efficacité et degré de pénétration
- qualité cosmétique.

Elles sont aussidestinées à préciser des paramètres essentiels pour la qualité de la forme à élaborer:

- état et nature du principe actif
- nature du véhicule adapté
- type de formes réalisables

III.4Les émulsions

Les compositions cosmétiques font appel à l'eau et aux produits hydrosolubles, à l'huile et aux produits liposolubles. Les formes émulsifiées sont parmi les plus nombreuses et les plus variées. Elles ont été abondamment décrites et utilisées à la fois pour leur effet vectorisé et leur aspect attrayant dans les compositions cosmétiques.

Une émulsion est une dispersion, sous forme de gouttelettes, de deux liquides non miscibles entres eux.

Elle est donc constituée de deux phases :

- la phase aqueuse ou hydrophile.
- la phase grasse ou lipophile.

III.4.1. Composition d'une émulsion

III.4.1.1La phase aqueuse de l'émulsion est formée de :

- Eau déminéralisée
- Agents de consistance : ce sont des polymères ayant la capacité de modifier le comportement rhéologique des formulations.
- Séquestrant : molécule spécialisée dans la capture et l'immobilisation des espèces ioniques issues des eaux de rinçage pour diminuer les risques d'oxydation.
- Humectant : il est ajouté afin de limiter la perte en eau du produit
- Régulateur de pH : il permet d'ajuster le pH de la formule
- Hydratant : il provoque un effet immédiat et à long terme d'hydratation cutanée.

III.4.1.2La phase grasse de l'émulsion est formée de :

- Emollient : il nourrit la peau et joue sur le toucher et la texture du produit fini.
- Conditionneur : il forme un film sur la peau ou le cheveu pour limiter l'agression des tensioactifs.
- Emulsionnant : molécule amphiphile permettent la formulation de l'émulsion.
- Phase parfum : antioxydant, conservateur, solubilisant.

III.4.2. Notion de la balance hydrophile lipophile HLB

Le HLB ou balance hydrophile lipophile est une valeur caractéristique des surfactifs qui peut être soit calculée soit déterminée par voie expérimentale et qui est censée représenter l'importance de la partie hydrophile par rapport à la partie lipophile. Selon la classification de Griffin, les surfactifs de HLB élevé (HLB supérieur à 10, environ 8 à 18) sont des surfactifs à tendance hydrophile (c'est-à-dire qu'ils orientent vers une émulsion L/H) alors que les surfactifs de HLB plus faible (3 à 6) sont des surfactifs à tendance lipophile (ils orientent vers une émulsion H/L)

Lorsque dans la formulation d'une émulsion, on utilise le mélange deux surfactifs (un hydrophile et l'autre lipophile) le nouvel HLB résulte des valeurs des proportions de l'un et de l'autre selon une règle d'additivité

Le HLB critique est une notion caractéristique de l'huile, c'est la valeur que doit posséder le HLB du surfactif ou du mélange de surfactifs pour obtenir une émulsion stable avec cette huile. Par préparation ou le mélange des deux surfactifs doit avoir un HLB de 8.5. [52]

III.5Études de formulation

La formulation proprement dite consiste à élaborer une forme plus ou moins complexe qui, aux impératifs de stabilité et de degré de pénétration à conférer devra dans toute la mesure du possible, ajouter des critères d'ordre cosmétique importants pour l'observance et donc l'efficacité du traitement.

Ainsi qu'il a été dit le galéniste dispose aujourd'hui d'une grande variété de formes possibles et d'un catalogue considérable de substances auxiliaires utilisables pour constituer un véhicule adapté. Les choix qu'il est amené à faire s'appuient sur différents tests et essai in vitro, ainsi que sur la confirmation in vivo de la pénétration et de la biodisponibilité et d'efficacité

Pour certaines formes complexes, la formulation ne pourra pas être séparée du procédé de fabrication qui peut imposer ou interdire certains excipients difficiles à mettre en œuvre avec la technologie et les équipements disponibles.

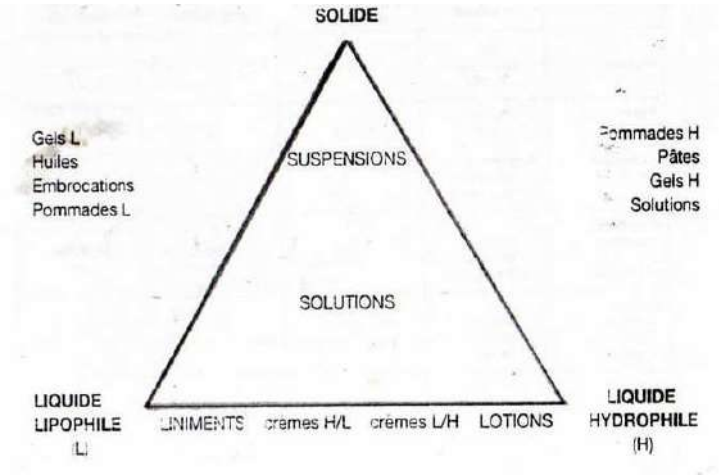
L'observance d'un traitement dermatologique par le malade implique l'acceptation de la préparation pendant une période, en général assez longue.

III.5.1. Principaux types de formes :

D'une façon très générale les formes â usage dermatologique renferment trois grands types de constituants :

- Solides
- liquides de nature lipophile
- liquides de nature hydrophile.

La variabilité de proportions de ces constituants définit les caractéristiques essentielles de la plupart des formes usuelles qui peuvent grossièrement être représentées sur un diagramme ternaire (Figure III-5).



0Figure III-5 :Évolution des formes selon le déplacement des quantités relatives de chaque type de constituants [53]

III.5.2Principaux types de véhicules

Les formes topiques peuvent aussi être classées à partir de la complexité de leur véhicule :

- Véhicule monophasique
- Véhicule diphasique

A coté de ces véhicules pour formes traditionnelles il faut mentionner des véhicules pour formes pulsées pour formes spécifiques et pour formes nouvelles [54]

III.5.3. Principaux constituants des véhicules des formes pharmaceutiques pour application locale

La formulation d'une préparation dermique à usage pharmaceutique pose chaque fois le problème spécifique de la meilleure adéquation de la nature du véhicule aux caractéristiques physicochimiques et biopharmaceutiques du principe actif.

Le galéniste dispose d'une variété considérable de substances susceptibles d'entrer dans la composition d'un véhicule adapté. En outre, la plupart de ces substances peuvent remplir plusieurs fonctions simultanées.

III.5.3.1. Rôle des constituants

Barry a dressé la liste des principales fonctions attendues des substances auxiliaires constituant le véhicule d'une forme pour application locale [51]

a/ Agents suspensifs et épaississants

Ils sont destinés à l'élaboration des caractéristiques rhéologiques de la forme et à la stabilisation des émulsions et des suspensions. Mais la viscosité conférée s'accompagne d'un ralentissement de la vitesse de diffusion du principe actif dan le véhicule, notamment au niveau de la formulation secondaire dans laquelle ces agents vont se concentrer. Il y a donc intérêt à réduire leur quantité au minimum et à choisir des produits qui donnent une thixotropie à la préparation. Celle-ci sera stabilisée au repos, mais se fluidifiera à l'application.

b/Conservateurs

Leur rôle est très important dans les formes contenant une phase aqueuse. Leur sélection en développement n'est pas toujours facile, d'abord parce qu'il faut justifier leur utilité, ensuite parce qu'il faut démontrer leur efficacité et leur maintien, car dans les formes multiphasiques, l'activité des conservateurs, dans la phase aqueuse (favorable au développement des micro-organismes), peut être diminuée sous l'influence de différents facteurs

- migration dans une autre phase (phase huileuse);
- capture par les substances tensioactives;
- ionisation des électrolytes et tampons (pH);
- métaux lourds (action évitée par E.D.T.A.); migration dans les matériaux de conditionnement en matière plastique.

- entraînement par la vapeur d'eau en cours de fabrication;
- incompatibilités diverses.

A ces difficultés viennent s'ajouter les risques d'intolérance et d'allergie.

c/ Antioxydants

Dans le véhicule, ils sont destinés à éviter l'altération de certains composants facilement oxydables de la phase lipidique. Les plus utilisés sont le butylhydroxyanisole, le butylhydroxytoluêne, le gallate de propyle et l'α-tocophérol. Leur emploi doit être limité par les précautions prises au cours de la fabrication (opérations sous vide partiel ou gaz inerte. désaération avant division) et par le choix d'un récipient aussi étanche que possible (tubes operculés).

d/ Facteurs de pénétration

Ils ont été beaucoup étudiés à l'occasion du développement des systèmes transdermiques. Ce sont des produits destinés à réduire la résistance à la diffusion à travers le *stratum corneum.* Mais cette action ne va pas sans une modification de la nature physicochimique des couches superficielles ni provoquer quelques dommages qui bien entendu doivent être légers et réversibles rapidement.

En outre, ces produits sont en général de bons solvants et ils vont modifier la solubilité du principe actif dans les phases du véhicule, l'éloignant plus ou moins de la concentration à saturation et favorable au passage transcutané.

Des caractéristiques du principe actif peu favorables à sa diffusion transcutanée obligent à rechercher des améliorations par l'emploi de facteurs de pénétration notamment dans les systèmes transdermiques qui malgré une surface d'application réduite au minimum, doivent permettre un flux de passage suffisant pour une action systémique.

Dans les formes dermiques usuelles, ces produits ne s'imposent pas, car les marges de manœuvre pour augmenter la pénétration sont beaucoup plus grandes:

- surface traitée;
- nature du véhicule:
- solubilisation du principe actif dans le véhicule:
- artifices de solubilisation et de sursaturation.

Si ces différents moyens ne suffisent pas. Les formes occlusives par la nature de leur véhicule augmentent la pénétration grâce à l'hydratation par voie endogène du *stratum corneum.*

e/ Parfums et colorants

Sans aller jusqu'à l'agrément d'un produit cosmétique, il faut quand même favoriser l'observance du traitement au moyen d'une forme dermique par le masquage de certains défauts organoleptiques inhérents à la nature des composants.

- C'est ainsi que l'oxyde de titane aide à blanchir les préparations dont l'aspect blanc sale ou plus ou moins jaunâtre n'est guère engageant.

- L'odeur sui generis de certains corps gras demande à être masquée par des parfums sélectionnés pour leur hypo-allergénicité, car nombreux, sont les composés aromatiques responsables d'intolérances.

- Des pigments tels que les oxydes de fer sont utilisés pour donner une teinte claire à la préparation permettant ainsi de masquer les manifestations cutanées peu esthétiques au niveau du visage **[**51**]**

III.5.4Contrôles et essais des préparations dermiques

La formulation et le contrôle s'appuient sur un certain nombre d'essais. Au stade du choix des constituants du véhicule, deux types d'essais comparatifs sont particulièrement importants pour guider la forme

- Les essais de diffusion

- Les essais rhéologiques

- Ils seront complétés par d'autres contrôles de qualités appropriés

III.5.4.1Examen des caractéristiques macroscopiques et microscopiques

L'Examen des caractéristiques macroscopiques constitue la première approche de la qualité de la préparation et doit faire l'objet d'une étude approfondie, afin d'observer tout changement en effet des modifications perçues au niveau des caractéristiques suivantes

- **Caractères visuels :** l'aspect, la consistance, l'homogénéité

- **Caractères olfactifs :** odeur typique, absence d'odeur et une odeur anormale

- **Caractères tactiles :** après étalement sur le revers de la main, si la préparation n'est pas caustique, il faut préciser

✓Le toucher qui peut être gras, évanescent ; collant, granuleux ou lisse rugueux

✓La sensation qui peut être chaude ou fraîche [54]

Le contrôle microscopique est un contrôle physique et fondamental, il a pour objectifs :

- De déterminer : la taille, la forme et l'homogénéité de répartition
- Vérification d'absence de particules anormales en suspension ou bulles d'air
- La recristallisation des excipients spécialement les conservateurs
- Le phénomène de coalescence
- Le changement de phase d'émulsion, consécutif à une évolution importante du diamètre des globules

III.5.4.2Les essais rhéologiques

Les pommades et les crèmes étant définies comme semi-solides, leur comportement rhéologique très variable suivant la nature du véhicule, est souvent complexe.

Les caractéristiques rhéologiques d'une préparation sont pourtant un paramètre essentiel de sa qualité dans différents domaines notamment, facilité de fabrication et d'application, stabilité et efficacité.

Pour une préparation donnée, la constance de son rhéogramme signe sa reproductibilité d'un lot à l'autre de fabrication et sa stabilité au cours de temps.

III.5.4.3Essais de diffusion

Mis en œuvre aux différentes étapes du développement, ils sont effectués dans des cellules à deux compartiments ; séparés par une membrane constituée soit par un matériau synthétique soit par un fragment de peau animale ou humaine.

La formulation étudiée est placée dans un compartiment donneur et le passage à travers la membrane est contrôlé par le dosage du principe actif dans le liquide renouvelé du compartiment receveur (et/ou dans la peau si elle constitue la membrane).

- Ce modèle simple permet d'évaluer in vitro l'aptitude du principe actif à diffuser:
- d'abord à partir d'une solution dans un milieu simple;
- puis dans un véhicule un peu plus complexe;
- enfin dans la formulation retenue.

Les résultats comparatifs obtenus dans les mêmes conditions avec des milieux différents sont des critères de choix. Ils n'ont qu'une valeur prédictive et seront à confirmer in vivo sur la formule définitive [55].

III.5.4.4Détermination du type d'émulsion

- Le sens de l'émulsion (H/L ou L/H) est déterminé à l'aide de différents tests : dilution, colorations et surtout conductivité. La détermination du type émulsion par la mesure de la conductivité électrique, à l'aide d'un conductimètre ou à l'aide de tout autre dispositif permettant de vérifier le passage du courant.
- Une émulsion L/H aura une conductivité élevée et toujours supérieure à celle de la phase dispersante
- Alors une émulsion H/L elle sera pratiquement nulle de l'ordre de quelques micro-siemens

Cette détermination est d'un grand intérêt et peut avoir différents objectifs

- Au cours de la préformulation et de la fabrication, elle permet de mètre en évidence une éventuelle température d'inversion de phase qui caractérise l'émulsion et qu'il faudra suivre au cours du vieillissement
- Au cours de l'étude de stabilité. Elle constitue le test le plus sensible, et doit être réalisable à différentes températures, mais inférieures à la température d'inversion de phase et à des niveaux divers de l'émulsion, elle doit être effectuée après fabrication et suivi jusqu'à péremption.

Les résultats permettent de mettre en évidence :

- Une température d'inversion de phase, si elle existe
- Un crémage ou une sédimentation : dans le cas d'émulsion L/H, la conductivité augmente en surface (crémage) et l'inverse est observé pour une émulsion H/L (sédimentation)
- Un changement de phase, qui rend le produit inutilisable, et qui peut être du,
  - ✓soit à un réarrangement des globules dispersés,
  - ✓soit à une perte en eau
- En revanche, une conductivité constante est le signe d'une grande stabilité [54]

III.5.4.5Détermination du pH

La mesure de pH est nécessaire, car il peut réagir :

- L'aspect technologique et l'aspect thérapeutique d'une préparation dermique

- Il peut avoir une influence sur la stabilité physique d'une crème, ou sur celle d'un principe actif
- Modification des caractères rhéologiques
- Modification de l'activité des conservateurs
- Ou être responsable d'une incompatibilité ente excipients et substance médicamenteuse
- Le pH des préparations dermiques peut modifier celui de la peau, [54]

III.5.4.6. Les contrôles microbiologiques

Sont particulièrement importants dans les formes contenant une phase aqueuse, ils doivent être pratiqués en cours de développement pour étayer le choix du système conservateur

Il faut en effet :

- Démontrer la nécessité d'un conservateur
- Prouver l'efficacité en qualité et en quantité les conservateurs sélectionnés
- Vérifier le maintien de l'efficacité au cours des essais de stabilité, il convient de vérifier notamment les possibilités [56]

III.5.4.7Les essais de stabilité

- Les choix effectués lors de la mise au point s'appuient tout au long de ce développement sur des essais de vieillissement accéléré dont l'objectif varie avec l'évolution des études :
- en pré-formulation il s'agit de la sélection des substances auxiliaires compatibles avec le principe actif
- en formulation est la tenue de la préparation quant à ses caractéristiques physiques et organoleptiques, qui est appréciée avec bien entendu la confirmation de la stabilité de principe actif dans un véhicule plus complexe que celui des études de pré-formulation.

Le but des essais accélérés est le remplacement du facteur temps par le facteur température, car le formulateur ne saurait attendre l'évolution lente â température ambiante pour arrêter ses choix.

Si en pré-formulation il n'y a pratiquement pas de limites de température, il n'en va pas même en formulation avec les formes piteuses où la fusion de certains composants provoque un changement d'état avec dénaturation de la forme.

L'accélération du vieillissement des formes dermiques par la température ne pourra être aussi rapide qu'il serait souhaitable pour l'établissement précoce des prévisions de stabilité.

La détermination de la température critique du changement d'état sera très utile pour préciser les précautions éventuelles de stockage.

En outre, la tenue au froid ne doit pas être négligée, le baissement de la température modifie l'équilibre du principe actif en suspension / principe actif dissous et peut provoquer des cristallisations irréversibles.

Certaines formes telles que les émulsions H/L sont cassées par le froid, d'autres voient leur consistance profondément modifiée par la solidification et la séparation des corps gras au point de fusion entrant dans la composition de leur véhicule.
L'évolution de tous ces paramètres de qualité doit être suivie au cours des essais de stabilité à différents niveaux:

- **Principe actif**

✓ stabilité chimique (produits de dégradation)

✓ stabilité physique : granulométrie, état cristallin (polymorphes)

✓ essais de dissolution et/ou de diffusion

- **Forme**

✓ caractères organoleptiques

✓ caractères physiques:

▪pH

▪Analyse rhéologique

▪Sens de l'émulsion

▪Perte en produits volatils (eau, solvant)

▪Analyses granulométriques

- **Conservateurs**

✓ stabilité chimique

✓ maintien de leur efficacité

✓ contrôles microbiologiques [51]

III.5.4.8Interaction contenant/contenu

Ce sont les essais de stabilité qui permettent de sélectionner les contenants les mieux adaptés aux particularités de la formule envisagée ainsi qu'aux facilités de prélèvement et d'application

La nature des matériaux du conditionnement primaire en contact direct avec la préparation devra être choisie avec soin, car elle est souvent à l'origine de graves défauts de stabilité [5]

III.5.4.9Essais in vivo

Tous les tests mis en œuvre au cours des études de développement ne visent qu'un seul but, le choix d'une formule efficace.

Pour une forme dermique, cette efficacité se situe à trois niveaux:

- la tolérance locale;
- la biodisponibilité;
- L'activité thérapeutique.

Elle a été prévue tout au long du développement. Elle doit être confirmée par des essais sur l'homme avec les formules présentant les meilleures chances de succès, dès la phase II de l'expérimentation clinique.

L'ultime sélection dépendra de ces études in vivo et des résultats des essais de stabilité [51].

Introduction :

L'objectif de notre étude est de formuler une crème à des fins cicatrisantes à base de la bave d'escargot.

La crème MADECASSOL, c'est une crème médical à base des plantes médicinal, conseil pour le traitement des plaies. L'étude de comparaison des deux crèmes nous permette de connaitre l'efficacité de la crème formulé à base de la bave d'escargot.

En premier lieu, l'étude est consacrée à l'adaptation à l'élevage ainsi qu'au rendement concernant chaque mode de récupération de la bave. L'adaptation à l'élevage est suivie d'une étude sur la mortalité mais aussi de la mesure quantitative des secrétions obtenus.

La deuxième étape est une étude des propriétés physico chimique, puis l'effet antibactérien et enfin une étude de l'activité cicatrisante.

En troisième lieu, une optimisation des conditions de séchage de la bave d'escargot et la transformation de l'état liquide vers l'état solide pour assurer une conservation prolongée de la bave. Cette étude est contrôlée par la vérification et la comparaison entre les caractères de la bave à l'état liquide et la bave à l'état solide.

La quatrième partie est consacrée à l'étude de pré-formulation par la quantification des concentrations massiques des excipients afin d'avoir une compatibilité entre eux, puis l'approche à la formulation de la crème dermique pour une activité cicatrisante. Les analyses rhéologiques sont pour but d'avoir les propriétés d'écoulement et d'étalement de la crème. Le contrôle de stabilité est suivi par la méthode de mesure de stabilité à la force centrifugeuse. A la fin un essai de l'activité cicatrisante est réalisé atteindre le but du travail et vérifier en même temps la compatibilité entre les excipients et la poudre obtenue.

Une étude de la stabilité accélérée a été réalisée pour avoir l'influence du paramètre temps par la variation de la température sur la formule sélectionnée.

Cette approche est toujours suivie par le contrôle rhéologique ainsi que la mesure du pH et la conductivité en tenant compte du temps de conservation.

IV.Étude d'orientation à la sélection des procédés :

IV.1Introduction :

Dans les dernières années, le marché des produits cosmétiques a connu des nouveaux produits et un retour aux produits à base des composants naturels extraits à partir des plantes médicinales et des animaux ayant une histoire dans l'utilisation thérapeutique dans la vie de l'être humain.

L 'escargot à une grande histoire dans ce domaine, et il est donc judicieux de profiter de cette richesse pour connaitre de près l'efficacité de cette espèce.

Ce chapitre se divise en deux parties :

Premièrement, on s'intéresse à la sélection la race d'escargot à étudier puis àla méthode de récupération sa bave, suivie d'une étude de caractérisation des paramètres physicochimiques de cette bave, son effet microbiologique et l'efficacité pharmacologique, en particulier l'essai de l'activité cicatrisation.

Dans la deuxième partie, une transformation de la bave d'escargot de l'état liquide vers l'état solide avec l'optimisation des conditions de séchage pour que la poudre de la bave d'escargot obtenue conserve les propriétés et l'efficacité de l'état naturel.

IV.2Matériel et méthodes :

IV.2.1Produits et matériels utilisés :

La richesse des variétés d'escargots nous permet de choisir et de sélectionner une de ces races pour l'étude de ces propriétés, son adaptation à l'élevage ainsi que l'utilisation de sa bave sécrétée dans la formulation des crèmes.

Dans notre étude on s'intéresse à la sélection d'une seule race, et pour cela, on se base sur les conditions suivantes pour la sélection de la race :

- La disponibilité de la race
- La bonne adaptation à l'élevage
- Le rendement de la bave récupérée
- Résistance au mode de récupération
- Efficacité de la bave récupérée
- Facilité de manipulation

•Donné bibliographique

En l'Algérie on trouve différentes types d'escargots, on cite parmi eux :

•*Helixaspersaaspersa ou Petit gris*

•*Helixaspersa maxima ou Gros-Gris*

•*Otalalactea*

•*Thebapisana*

Donc l'escargot présente donc la matière animale utilisée pour l'étude.

Elevage :

Les escargots ont un sang-froid, sont sensibles aux changements atmosphériques (humidité, température) et à la nourriture. Ils sont en mesure de s'adapter à diverses conditions, mais lorsque la température ou l'humidité ne leur conviennent pas, ils entrent en dormant.

Les escargots estivent si la température est trop élevée, au-dessus de 30 °C, ou si l'humidité de l'air est trop faible (humidité relative < 70- 75).Les escargots hibernent quand la température tombe à moins de 5 °C. Le changement de ces conditions inclus sur l'activité des escargots et le rend inactifs et ils ne grossissent plus, ce qui implique une faible production de la bave. L'assurance d'un bon élevage nécessite les conditions suivantes :

•En sélectionnant le site le plus favorable à l'élevage d'escargots

•En leur construisant un abri adapté

•En leur apportant une nourriture appropriée et en veillant à une bonne gestion de l'élevage.

Pour assurer ces conditions importantes,

•On utilise des bains ouverts chauffés à une température stable de 25-34 °C tout au long de l'élevage et une faible variation de température entre le jour et la nuit à l'aide des thermoplongeurs et une couche de paille.

•Une photopériode 12 :12 relativement constante tout au long de l'élevage assuré par des lampes Néon.

• Et une humidité entre 75-95% assurée par l'évaporation de l'eau de bain.

Les escargots sont très forts pour s'échapper des enclos. Une des premières précautions à prendre lorsqu'on veut monter un élevage d'escargots, est donc de construire un parc ne leur

laissant aucune chance de s'échapper. On choisira parmi les divers types de parcs à escargots (escargotières) celui qui conviendra le mieux à la taille de l'exploitation envisagée**,** des caisses en polyesters, de forme rectangulaire, et une clôture de filet anti-moustique à fin d'empêcher l'échappée des escargots ou l'attaque par un de ces prédateurs. Ces casiers ont des avantages tels que :

- Facilite d'accès et facile à travailler pour déplacer les escargots, déposer la nourriture, nettoyer et réaliser d'autres travaux d'entretien.
- Bien protégé des insectes, prédateurs et braconniers.
- En termes d'inconvénients, citons le coût de construction et la petite taille des casiers, limitant le nombre d'escargots (quelques 30 escargots dans une caisse).

Le sol est une donnée essentielle de l'habitat des escargots. Sa composition, sa teneur en eau et sa texture sont des critères à étudier de près.

- La coquille d'escargot est principalement constituée de calcium dérivé du sol et de la nourriture.
- C'est surtout dans le sol que les escargots trouvent l'eau dont ils ont besoin.
- Ils creusent le sol pour y déposer leurs œufs
- Pour toutes ces raisons, il est essentiel que le sol soit léger et qu'il ait une forte teneur en calcium et en eau.
- Il faut éviter les sols acides, car leur acidité pourrait interférer avec la croissance de la coquille de l'escargot.
- Les sols riches en matières organiques sont bénéfiques à la croissance et au développement des escargots.

D'une manière générale, ces cratères sont remplis par une couche de paille bien humidifiée. Les boites remplies par un mélange de sable, de la chaux et le sol est drainé périodiquement

La distinction entre des systèmes d'élevage extensif, semi-intensif et intensif concerne non seulement l'abri, mais également l'alimentation.

Dans un élevage extensif, les escargots se nourrissent des végétaux plantés spécialement pour eux dans l'enclos (parquet ou enclos de pâturage).

Dans un élevage semi-intensif, on apporte de la nourriture aux petits, aux jeunes et aux géniteurs évoluant dans des fosses.

Dans un élevage intensif, on nourrit continuellement les escargots, à tous les stades de l'élevage. Ceux-ci évoluent dans des casiers ou des enclos.

Les escargots ont besoin d'hydrates de carbone pour se procurer de l'énergie, et de protéines pour leur croissance. De plus, ils ont besoin de calcium (Ca) pour leur coquille, ainsi que d'autres minéraux et vitamines.

Dans les élevages, on nourrit les escargots avec un mélange spécial contenant toutes les protéines, les sucres, les sels minéraux et vitamines nécessaires à une croissance optimale.

Un mélange de poudre de maïs finement broyé, son de blé, la poudre de lait, le carbonate de calcium et quelques gouttes de poly vitamines

Le sol doit être changé de temps en temps, car les excréments qui s'accumulent augmentent les risques de maladie.

La Figure IV-1.Représente une photo d'un casier d'élevage

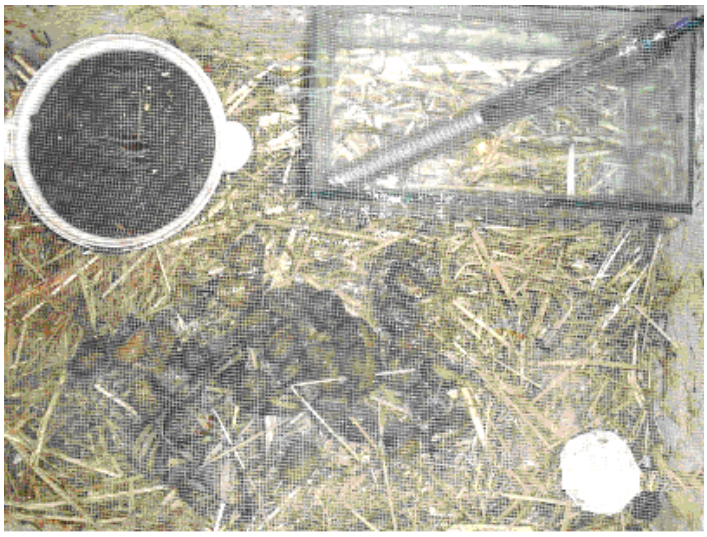


Figure IV-1:Casier d'élevage

L'étude des caractères physicochimiques, microbiologiques et pharmacologiques de la bave d'escargot nécessite l'utilisation des produits et des réactifs pour l'analyse et l'identification.

L'ensemble des produits utilisés dans notre étude, sont des produits disponibles au niveau du laboratoire de contrôle qualité de la filiale antibiotical du groupe Saidal. Ces produits sont

fournée par des laboratoires spécialisé dans la production des réactifs, on cite parmi eux : FLUKA, ALCHIME, PRO-CHIME …

Parmi les produits utilisés dans la caractérisation physicochimique, Ethanol, Ether Hydroxyde de potassium ,Phénol phtaléine ,Hydroxyde de potassium alcoolique ,Acide chlorhydrique ,Pyridine Sulfate de potassium, Sulfate de cuivre, Acide sulfurique ,Zinc granulé Acide borique, Eau distillée,

Les milieux de culture et les souches bactériennes sont les produits de l'étude microbiologique, plus les lapins et les rats pour la caractérisation pharmacologique.

Les instruments et le matériel utilisé au cours de l'étude sont les biens du groupe Saidal. Le matériel est contrôlé périodiquement par le service de métrologie pour confirmer son' efficacité.

Les pompes à vide, les balances, les' étuves à différentes températures, le spectrophotomètre FTIR et autres sont les instruments utilisés en plus de la verrerie nécessaire pour l'étude.

IV.2.2Méthodes :

IV.2.2.1Sélection de la méthode de récupération de la bave d'escargot :

Les méthodes sélectionnées pour la sécrétion de la bave sont :

- Par picage
- Par ajout de chlorure du sodium NaCl
- Par des pics électriques
- Par glissement sur verre

IV.2.2.1.1Préparation des escargots :

Avant de récupérer la bave, on procède à une préparation des escargots selon le plan suivant ;

- Mettre les escargots à jeuné pendant trois jours [15][16].
- Un nettoyage journalier des casiers et des escargots
- Avant la récupération de la bave, humidifier les escargots pour qu'ils sortant de leurs coquilles

IV.2.2.1.2Mode de récupération :

- Les procédures d'extraction de la bave d'escargot sont bien détailles dans le chapitre II

IV.2.2.2Optimisation de la durée et la température de séchage :

Pour l'optimisation de la durée et la température de séchage, nous avons suivi la variation du taux d'humidité et l'efficacité microbiologique de la poudre de la bave d'escargot.

Le procédé de séchage utilisé est un couplage entre deux méthodes de séchage : le séchage sous vide et le séchage à l'air, la Figure IV-2 L'utilisation de cette technique est due à la longue durée de séchage avec le séchage sous vide seul.

IV.2.2.2.1Séchage sous vide (ou séchage thermique sous vide)

Le séchage sous vide nécessite l'emploi d'une enceinte à vide.Par l'évacuation de l'air, on réalise un vide dans l'enceinte qui est chauffée pour accélérer le processus de séchage. L'efficacité et la rapidité de l'assèchement dépendent de la taille de l'enceinte et de son degré de perfectionnement. Avec une enceinte à vide, le risque de prolifération des moisissures est moindre.

IV.2.2.2.2Séchage à l'air

Le séchage à l'air est une technique qui est utilisée depuis des siècles pour assécher les livres et les papiers. C'est une bonne méthode si le produit n'est que légèrement humide.

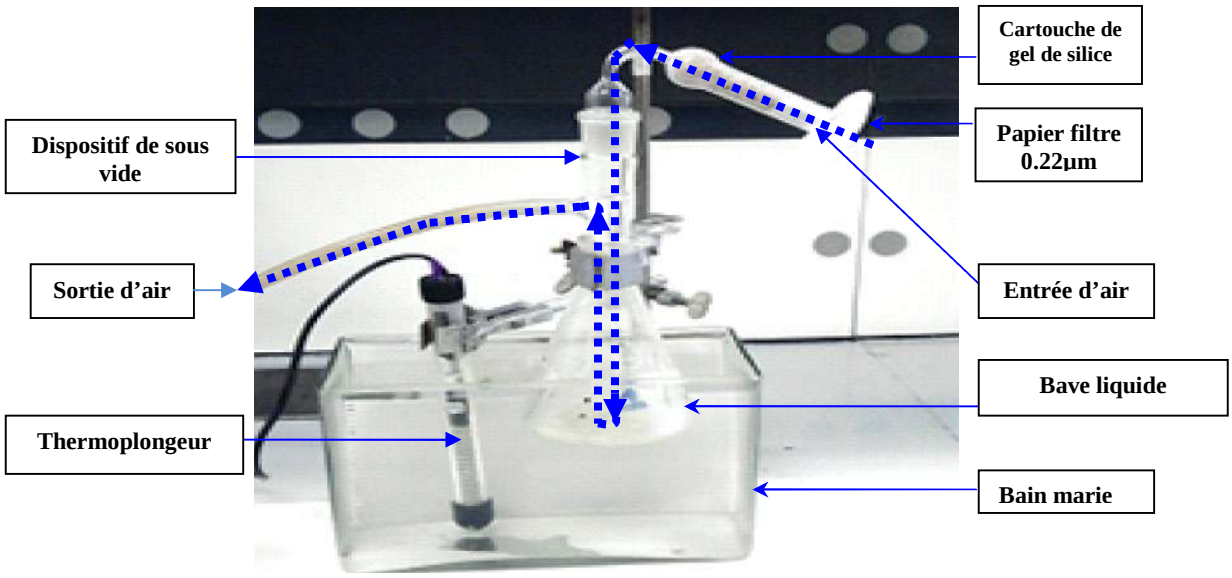


Figure IV-2: Schéma du procède utilisé dans le séchage de la bave

L'air présent dans l'erlenmeyer est aspiré par la pompe à vide et provoque la rentrée de l'air par la partie supérieure à travers un filtre stérile de 0.22µm qui inhibe le passage des microorganismes présents dans l'atmosphère, puis une anhydrification de l'air par une cartouche de gel de silice. L'eau présente dans la bave est enlevée avec le barbotage de l'air anhydre et aspiré avec la pompe à vide. L'utilisation de bain marie assure l'homogénéité de température de l'enceinte et l'accélération du séchage.

IV.3Caractéristique de la bave d'escargot :

Le but de cette étude est de déterminer les propriétés physicochimiques, microbiologiques et pharmacologiques de la bave d'escargot à l'état liquide d'une façon générale afin d'avoir l'effet du mode de récupération sur ces propriétés, puis une autre caractérisation de la poudre de la bave d'escargot après le séchage.

IV.3.1Etude physicochimique :

Dans le cadre du contrôle de la qualité des baves récupérées, l'analyse physico-chimique a pour but de caractériser les produits et de définir leurs propriétés comme la densité, le taux d'humidité, le dosage des protéines, l'identification des groupements fonctionnels et le comportement viscosimétrique de la poudre de la bave d'escargot à étudier.

IV.3.1.1Analyse par FTIR :

L'échantillon est préparé par micro-pastillage de 1 ou 2 mm, la poudre est broyée avec le bromure de potassium (KBr) et soumis à une pression de 20 bar/cm^2. La pastille ainsi formée est analysée à l'aide d'un appareil de type Perkin Elmer séries 200. Les spectres d'absorption

infrarouges ont été mesurés entre 400 et 4000 cm^{-1} et enregistrés par un logiciel Huper tous les 8 cm^{-1}. Le spectre obtenu représente Abs = f (τ) avec : Abs = Absorbance, nombre d'onde = 1/λ exprimé en cm^{-1}. Logiciel Bio-Red IR SearchMasrchMasterà été utilisé pour le traitement des spectres obtenus.

IV.3.1.2La tension interfaciale :

La tension interfaciale est une force résultante de la cohésion, qui abaisse au minimum le nombre de molécules à la surface d'un liquide. Cela crée une sorte d'enveloppe invisible qui occupe la plus petite surface possible.

La recherche de la CMC est faite par la préparation des solutions à déférentes concentration

La méthode de mesure est basée sur l'arrachement de l'anneau immergé dans la solution, le moment ou la tension de surface se développe, l'anneau est arraché.

IV.3.1.3La viscosité :

Propriété de résistance à l'écoulement uniforme et sans turbulence se produisant dans la masse d'une matière. Elle est exprimée par un coefficient représentant la contrainte de cisaillement nécessaire pour produire un gradient de vitesse d'écoulement d'une unité dans la matière

Le viscosimètre donne les vitesses de rotation (tr/min) (RMP)

Le constructeur donne la relation de calcul de la vitesse de cisaillement en fonction de la vitesse de rotation .

$$\acute{\varepsilon} = \frac{Ri}{Re-Ri}\ \omega$$

Avec :

έ : la vitesse de cisaillement

ω: la vitesse de rotation

R : rayon du mobile

R_e : rayon du cylindre

La poudre de la bave d'escargot est préparée sous forme de solutions par solubilisation dans l'eau tiède à une température maximale de 37C° à des concentrations de 0,2%, 0,5% ,1% et 2%, afin d'avoir les propriétés viscosimétriques,

IV.3.2Etude microbiologique :

L'analyse bactériologique et l'évaluation de la sensibilité aux différentes molécules d'antibiotique constituent une étape importante dans le choix du mode récupération de la bave.

La détermination de mode de récupération permet d'apprécier l'efficacité des agents antibactériens. La procédure utilisée dans cette étape est effectuée selon des techniques standardisées, selon des normes internationales qui facilitent les comparaisons des profils de sensibilité des espèces bactériennes.

Les deux principales méthodes de détermination de la sensibilité aux antibiotiques sont :

- L'antibiogramme par technique de diffusion en milieu solide
- La méthode de dilution en milieu liquide,

L'objectif de cette étude est de comparer l'efficacité de la bave récupérée par les différentes techniques de récupération citées précédemment et d'optimiser la méthode de récupération retenue.

IV.3.2.1Les souches testées :

Les bactéries utilisées dans cette étude, sont les bactéries disponibles au niveau du laboratoire de contrôle de qualité, service microbiologie de la filiale antibiotical SAIDAL de Médéa.

Les souches utilisées pour les tests antimicrobiens sont représentées dans le Tableau IV-1

Tableau IV-1: Les souches utilisées pour le test microbien

Les souches	Code	Source
Escherichia Coli (E Coli)	de référence ATCC 10536	Groupe SAIDAL Médéa
Staphylocoques épidermidis(S épi)	de référence ATCC 1228	
Staphylocoques aureus (S aureus)	de référence ATCC 6538/P	
Bacillus subtilis (B sub)	de référence ATCC 6633	
Sarcinalutea (S lutea)		

IV.3.2.2Méthodes d'études et techniques utilisées : [57]

Nous avons testé la sensibilité des bactéries vis-à-vis à la bave d'escargot par la méthode des disques.

IV.3.2.2.1Préparation de l'inoculum :

L'inoculum est préparé à partir d'une colonie jeune de 18 à 24h de la souche testée ensemencée sur milieu gélosé

L'inoculum doit être dense (opacité équivalente à 0,5 sur l'échelle de Mac Farland) (~10^6 à 10^8UFC/ml). Cette suspension peut être obtenue par la mesure de la densité optique (D.O) allant de 0.08 à 0.1 lue à 625nm

IV.3.2.2.2Test par diffusion sur disque : L'antibiogramme par technique de diffusion en gélose

À partir de la suspension de l'inoculum, on étale la surface des boites de Pétri contenant de la gélose avec une suspension de densité de 10^6 à 10^8UFC/ml et on laisse sécher la boite de Pétri dans des zones stériles.

On dépose à la surface de la gélose des disques de papier buvard imprégnés dans la bave à tester. Après une incubation de 18 à 24 heures à 35°, les disques apparaissent entourés d'une zone d'inhibition dont le diamètre permet de voir le résultat du test.

IV.3.3Étude pharmacologique :

IV.3.3.1Mise en évidence de l'activité cicatrisante :

L'étude de la lecture de l'activité cicatrisante est réalisée au niveau de laboratoire Anatomo-pathologie de l'hôpital Mohamed Boudiaf de MEDEA.

Cette étude s'effectue sur des rats albinos ; elle permet de comparer l'efficacité de la bave d'escargot ainsi que la procédure de récupération, et on compare les résultats obtenus avec un standard et la crème MADECASSOL 1% destiné pour l'activité cicatrisante comme une référence.

Pour avoir l'influence du séchage sur la propriété cicatrisante, une étude de test de l'activité cicatrisante a été établie aussi.

IV.3.3.1.1Protocole expérimental : [58,59]

On a utilisé six lots, contenant chacun quatre rats albinos de même sexe de souche hybride blanc dont le poids corporel est compris entre 200 et 300 gr.Sur chacun d'entre eux on a provoqué une plaie profonde à la limité du saignement.Les plaies sont effectuées à l'aide d'un scalpel après 24 heures de rasage,

Dans la zone nue et scarifiée on applique les préparations.

- **Lot 01** : non traitées (lot témoin).
- **Lot 02** : solution de NaCl à une concentration égale à celle de la bave d'escargot.
- **Lot 03** : bave d'escargot récupérée par picage.
- **Lot 04** : bave d'escargot récupérée par NaCl
- **Lot 05** : bave d'escargot récupérée par picage et dosé par NaCl
- **Lot 06** : une crème de référence Madécassol

Le même test à été répété avec la poudre de la bave d'escargot préparée sous forme de solutions à déférente concentration (0,2%, 0,5% ,1% et 2%).L'étude de test de l'activité cicatrisante a été établie sur sept lots, chaque lot contient quatre rats

Lot 01: témoin

Lot 02: crème MADECASSOL 1%

Lot 03 : solution préparée de 0.2%

Lot 04 : solution préparée de 0.5%

Lot 05 : solution préparée de 1%

Lot 06 : solution préparée de 2%

Lot 07 : bave d'escargot liquide

•La solution préparée à 0.2% a subi une étude microscopique.

Les produits sont appliqués quotidiennement pendant 14 jours, l'application est faite à l'aide d'un écouvillon

Chaque trois jours un rat est scarifié de chaque lot ; le morceau de peau scarifié est prélevé à l'aide d'une lame et fixé par le formol à 12% dans le but de réaliser les coupes histologiques

IV.3.3.1.2 La lecture :

On a procédé à deux types de lectures :

•**Lecture macroscopique :**

Une lecture qui décrit l'évolution de la cicatrisation.

•**Lecture microscopique :**

✓ **Coupes histologiques**

Une coupe histologique est une coupe mince, transparente d'un tissu ou organe réalisée AUX FINS d'études microscopiques. Elles sont réalisées par un microtome (5 à 10 µm)

✓ **Les différentes étapes sont présentées comme suit :**

•Fixation du tissu dans le formol 10%, dans le but de protéger les tissus prélevés de toute hydrolyse due à la libération des enzymes contenus dans les lysosomes cellulaires.

•Déshydratation des morceaux de peau dans des bains successifs d'alcool à concentrations croissantes 70°-95°-100°.

•Inclusion dans deux bains de paraffine à l'étuve à 60C°, le premier pendant une heure et demie, le deuxième pendant deux heures.

Le mode d'inclusion à la paraffine est le plus répandu. Les paraffines de 56 à 58° conviennent dans la majorité des cas. Elle facilite la coupe du tissu, mais doit être éliminée avant une coloration pour éviter les artefacts

•Confection des blocs de paraffine à l'aide des barres de leucart, puis les conserver à +4C° pendant 24 heures

•Réalisation de rubans de coupes à l'aide de microtome (type MINO) réglé à 5 µm

•Dépôt de rubans sur des lames gélatinées pour la fixation

•Séchage des lames dans l'étuve à 30C° pondant 24 heures

•Déparaffinage par hydratation des lames dans une batterie contenant deux bains de toluène, trois bains d'alcool à concentration décroissante : 100%-95%-70% et un bain d'eau distillée

•Coloration, la première à l'hématoxyline de Groat (coloration violette) puis rinçage à l'eau courante jusqu'à ne plus voir le colorant, la deuxième à l'éosine puis rinçage à l'eau distillée

•Déshydratation des lames dans la même batterie, mais en sens contraire, trois bains d'alcool à concentrations croissantes : 70%-95%-100%

•Mise en contact du lame lamelle à l'aide du baume de canada

•Observation au microscope photonique à Gr : × 40 puis × 100

IV.4Résultats et discutions :

IV.4.1Adaptation à l'élevage :

A prés la fixation des conditions d'élevage, on remarque une certaine mortalité, pour cela on fait un dénombrement journalier de taux de mortalité à partir de la deuxième semaine jusqu'à la quatrième semaine. La Figure IV-3.

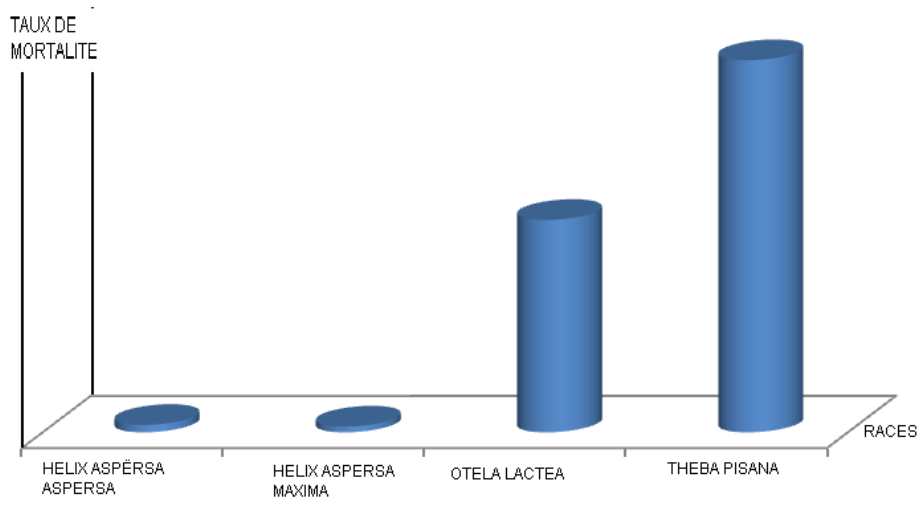


Figure IV-3 : Adaptation à l'élevage représentation de taux de mortalité

À partir de cette représentation, on observe une forte mortalité concernant l'escargot de type Otala lactea et Theba pisana, par contre une bonne adaptation pour le Helix aspersa aspersa (bourgogne) et Helix aspersa maxima

IV.4.2Le Rendement de la bave récupérée :

La quantité de la bave récupérée est rapportée à 100g d'escargots. La Figure IV-4 présente la quantité de la bave récupérée en fonction de la méthode récupération

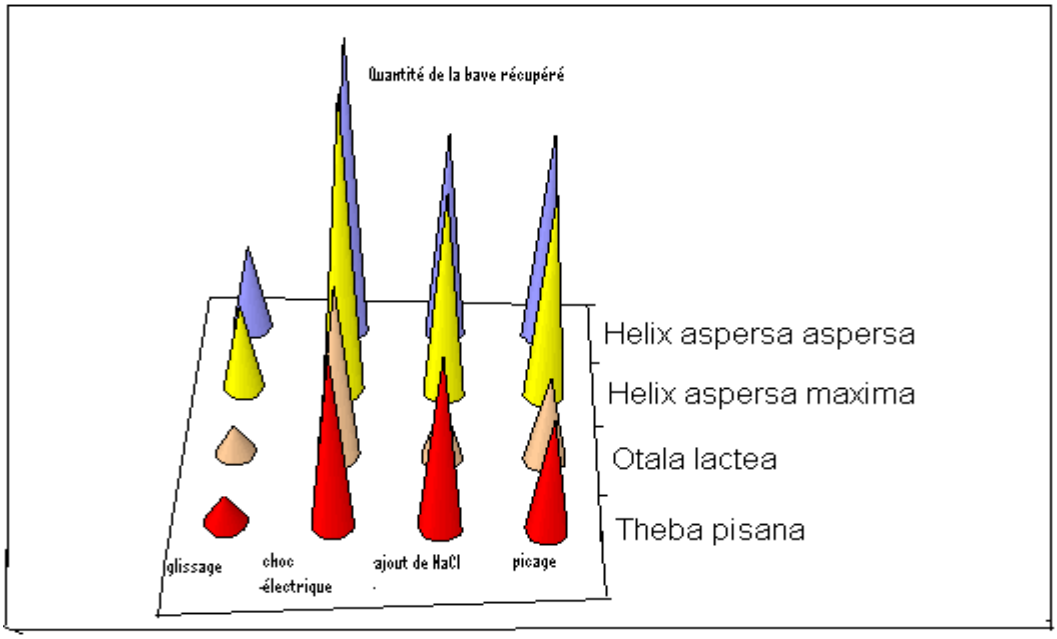


Figure IV-4:Rendement de la bave récupérée

✓ On remarque que la technique de la récupération de la bave par choc électrique donne un rendement maximal. Cependant, une forte mortalité chez tous les types d'escargot est observée ayant subi ce mode de récupération.

✓ L'escargot aspersa maxima n'est pas disponible à des quantités importantes (la quantité ramassée ne dépasse pas les soixante escargots)

✓ L'obtention de la bave d'escargot par glissage est la méthode la plus efficace du point de vue absence totale des toxines, car l'escargot secret la bave pour ces besoins de glissage, mais du point de vue pratique n'est pas rentable. Elle nécessite une quantité importante d'escargots avec des cuvettes larges et une longue durée pour récupérer une quantité minimale

À partir de ces deux tests, l'escargot sélectionné pour l'étude est l'Helix aspersa aspersa (bourgogne) et les méthodes d'extraction le mucus sont par picage et par l'ajout de chlorure de sodium

IV.4.3Caractérisation :

Caractères organoleptiques de la bave :

On peut résumer ces caractères dans le Tableau IV-2.

Tableau IV-2:Caractères organoleptiques de la bave d'escargot

	Récupération par picage	**Récupération par NaCl**
Odeur	caractéristique faible	caractéristique faible
Couleur	légèrement jaunâtre	légèrement jaunâtre
Aspect	Liquide visqueux	Liquide visqueux

IV.4.3.1Caractères physicochimiques :

Les paramètres physicochimiques sont résumés dans le Tableau IV-3.

Tableau IV-3: Paramètres physicochimiques

Tests	**LES INDICES**					**HBL**	d_{20}^{20}	**T%**	**N %**	**P%**	pH
Récupération par picage	I_S	I_A	I_E	I_{OH}	n^t_D	**15,688**	**1,06**	**93,38**	**0,6016**	**0,235**	**8,64**
	0,001172	**0,005436**	**0,003716**	**83,9102**	**1,3362**						
Récupération par NaCl	**0,00748**	**0,008976**	**0,001496**	**84,6254**	**1,3502**	**3,344**	**1,06**	**90,04**	**0,488**	**0,1609**	**8,47**

La méthode de récupération n'a aucune influence sur les caractères organoleptiques de la bave d'escargot

À partir de ces résultats, on peut dire que les propriétés physicochimiques de la bave d'escargot ne varient pas beaucoup en fonction de mode de récupération

D'un autre coté, on remarque qu'il y a une influence de la méthode de récupération sur certains paramètres spécialement la diminution de la valeur de HLB qui s'explique par le passage de la propriété hydrophile vers une autre lipophile, en plus de la chute du taux d'azote total qui influe sur la quantité des protéines.

Nous remarquons qu'il n'ya pas de différence entre nos résultats et ceux de [15]et ainsi qu'avec les travaux de **[60],** qui utilise l'escargot de type *Helix Asperas.*

L'étude de comparaison est résumée dans le Tableau IV-4.

Tableau IV-4:Les caractères organoleptiques de comparaison

	Résultats de [15]	**Résultats [60]**
Odeur	caractéristique faible.	caractéristique faible
Couleur	légèrement jaunâtre	légèrement jaunâtre
Aspect	épais liquide translucide	Liquide visqueux

Concernant les paramètres physicochimiques, on ne note pas de différence avec la littérature [2], le Tableau IV-5, présente ces résultats.

Tableau IV-5: Les paramètres physicochimiques de comparaison

Paramètre	**Valeur de [60]**
Densité relative d^{20}_{20}	1.010-1.060
pH	5,5 - 7,5
Protéine (P%)	0,050 et 0,150

La différence du taux de protéine est du peut-être à la qualité de l'alimentation et qui influe sur d'autres paramètres tels que la densité et le pH

IV.4.3.2Essai antimicrobien

Les résultats de cet essai sont regroupés dans le Tableau IV-6.

Tableau IV-6:Résultats du test antimicrobien

Mode / **Souche**	**Récupération par picage**	**Récupération par NaCl**
B sub	22	17,2
E. coli	14,1	–
S aureus	18,5	14
S épi	15,2	–
S lutea	31,9	19,8

La Figure IV-5 montre une comparaison entre l'effet de la bave d'escargot récupérée par picage et la bave récupérée par ajout de NaCl sur la bactérie *S lutea*

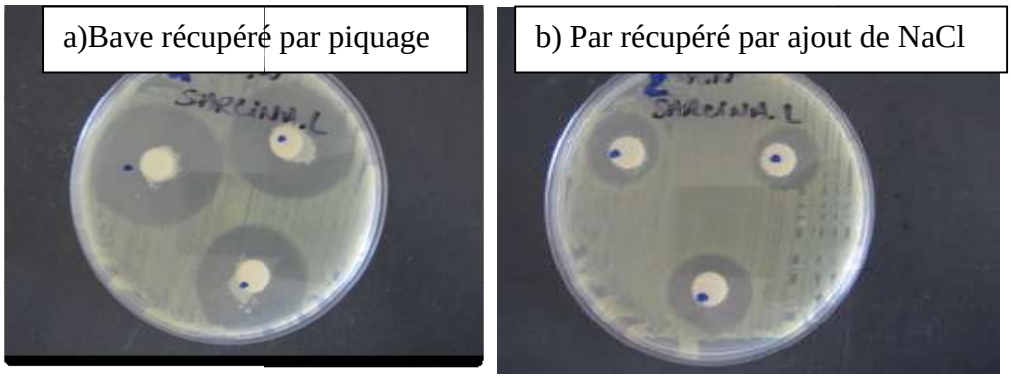


Figure IV-5:Comparaison de zone d'inhibition par les deux modes de récupération

La bave d'escargot a présenté une activée anti microbienne sur différentes souches. Celle récupérée par piquage a présenté l'effet le plus efficace. La bave d'escargot récupéré par le chlorure de sodium, n'a aucune activité sur la souche de *E coli* et *S épi*

La bave récupérée par picage présente une zone d'inhibition importante à celle de la bave récupérée par l'ajout de NaCl.

Pour pouvoir interpréter cette différence d'efficacité et quel est l'effet de chlorure de sodium, nous pensons que :

- ✓ La bave sécrétée par piquage est de nature différente que la bave sécrète par chlorure de sodium
- ✓ Le chlorure de sodium à un effet sur les composants inhibiteurs des bactéries

Pour rependre à ces hypothèses, on utilise les étapes suivantes

- ➢ Récupéré la bave avec piquage
- ➢ Récupérer la bave par NaCl, puis doser la quantité de NaCl par potentiomètre
- ➢ Reconstitué une bave à partir de la première de même dose de NaCl que la seconde
- ➢ Préparé une solution témoin de NaCl avec la même concentration que la deuxième bave
- ➢ Effectuer un antibiogramme
- ➢ Les résultats sont résumés dans le tableau :

Le Tableau IV-7 représente l'influence de chlorure de sodium sur l'activité antibactérienne

Tableau IV-7:Comparaison entre les modes de récupération

Mode / Souche	Récupération par piquage	Récupération par NaCl	Bave dosé par NaCl	Solution de NaCl
B sub	21,8	17,8	15,6	14,4
E. coli	14,2	-	-	-
S aureus	19,2	14,6	13,8	13,5
S épi	15	-	-	-
S lutea	33	19,9	19,9	19,9

✓ A partir de ces résultats on peut dire que la bave sécrétée par l'escargot par les deux méthodes est de même nature, sauf que le chlorure de sodium à inhibe l'élément ou les 'éléments qui à ou ont un effet antibactérien.

Selon l'échelle de mesure de l'activité antimicrobienne, Tableau IV-8 qui a été mise au point et classe les diamètres des zones d'inhibitions de la croissance microbienne en 4 classe :

Tableau IV-8:L'échelle de mesure de l'activité antimicrobienne

Classement des substances	Diamètre de la zone d'inhibition
substance à fort effet inhibiteur.	≥ 28mm
substance modérément inhibitrice	entre 28mm et 16mm
substance légèrement inhibitrice	entre 16mm et 10mm
substance non inhibitrice.	≤ 10mm

Selon cette échelle, nous pouvons dire que notre bave récupérée par piquage est :

✓ A un effet fort sur la *S lutea*

✓ Modéré sur *B sub*

✓ Et un effet léger sur E. coli et *S épi*

L'Université de Californie apublié une étude sur l'efficacité d'escargot sur des souches bactérienne [61]

Ils sont proposés les hypothèses suivantes :

Le mucus, la glande digestive, les glandes salivaires, coquille, le sang de Helix aspersa ont des propriétés antibactériennes

Ils ont procédé selon les étapes suivantes pour réaliser cette étude :

- Rassemble les escargots et recueillir les mucosités et le sang.
- Sépare manteau, l'estomac, l'intestin et le poumon.
- Homogénéiser chaque partie dans l'eau distillée ou de l'éthanol à 80% (1,0 g / ml).
- Les souches utilisées dans cette étude sont, *E Coli*, *S aureus*, Micro coccus luteus (*S lutea*) et Pseudomonas aeruginosa

Parmi les méthodes utilisées pour tester l'effet antimicrobien, la diffusion en milieu solide est utilisée. Les résultats obtenus sont résumés dans le Tableau IV-9 :

Tableau IV-9: Représentation des résultats de [61]

	Zone inhibition en mm			
	E Coli	*S aureus*	*Pseudomonas aeruginosa*	*S lutea*
Mucus	0	0	0	0
Sang	10	0	0	0
Estomac	0	0	0	0
Intestin	0	0	0	0
Poumon	0	0	0	0
manteau	5	5	0	0

- Manteau et le sang a inhibé la croissance des bactéries.
- *E. coli et S. aureus* ont été inhibés par l'extrait éthanolique manteau (2.0 g / ml)
- Le Taux de croissance d'*E. Coli* a été plus lent dans la présence du manteau

D'après ces résultats, on peut conclure que la bave d'escargot lorsqu'elle est traitée ou réagie avec les éléments chimiques perd ses propriétés antibactériennes

IV.4.3.3Résultats de test d'activité cicatrisante :

IV.4.3.3.1Résultats de la lecture macroscopiques :

Les résultats de lecture macroscopique sont représentés dans le Tableau IV-10.

Tableau IV-10:lecture macroscopique des peaux

Produit / Jours	Picage	Par NaCl	Solution de NaCl	Madécasol	Témoin
Trois	Deux plaies siège d'un produit brunâtre	Deux plaies d'un produit brunâtre	Deux plaies siège d'un produit brunâtre	Deux plaies bien visible siège d'un produit brunâtre	Deux plaies bien visibles
Sept	-une seule plaie visible	Deux plaies visibles plus produit brunâtre	-une seule plaie visible	Deux plaies bien visibles	Deux plaies encore présentent
Dix	Une seule plaie a peine visible	Deux plaies en voie de cicatrisation	- Une seule plaie a peine visible	Deux plaies à peine visibles	Deux plaie au cours de cicatrisation
Quatorze	Pas de plaie	Deux plaies encore visibles	Pas de plaie	Pas de plaies	Présence des plaies

IV.4.3.3.2Résultats des lectures microscopiques :

Nos coupes histologiques ont été interprétées en fonction de quatre critères de cicatrisations et leurs évolutions en fonction de temps :

- **Intensité et qualité de l'infiltrat inflammatoire :** c'est une étude de la présence des cellules inflammatoires en fonction du temps de cicatrisation d'où la présence des polynucléaires au début, les macrophages et mastocytes à la fin de l'inflammation et l'absence totale à la fin de la cicatrisation.

- **Intensité des vaisseaux sanguins :** plus intense au début de la cicatrisation qu'à la fin.

- **Intensité des fibroblastes :** moins intense au début de la cicatrisation et plus important au milieu et commence à diminuer jusqu'à la fin.

- **L'épaisseur de l'épiderme renouvelé :** augmente en fonction de l'évolution de la cicatrisation.

- Le Tableau IV-11, résume les résultats de l'étude de l'activité cicatrisante

Tableau IV-11:Lecture microscopique des coupes histologiques

Produit / Jours	Picage	Par NaCl	Solution de NaCl	Madécasol	Témoin
Trois	-ulcération congestion vasculaire - quelque poly nucléaires	-Deux ulcérations -Présence de polynucléaires sains et altères -Congestion vasculaire -Quelques macrophages	Ulcération riche en poly nucléaires Congestion vasculaire moderne Pas de fibroblaste	-Ulcération congestion vasculaire -Quelque poly nucléaire	-Epiderme renouvelé (plaie) Quelque poly macrophage congestion vasculaire discrète
Sept	-Epiderme régénéré - discret congestion vasculaire -discret granulome inflammatoire -quelque poly nucléaires	Ulcération présente Congestion vasculaire fibroblastes Granulome inflammatoire Polymorphe subaiguë	Réparation partielle de l'épiderme granulome inflammatoire dermique modéré subaigu Quelque poly nucléaire Début de fibroblaste	-Ulcération -Granulome Inflammatoire subaigüe en coulées	Epiderme non renouvelé Granulome inflammatoire très implorant Congestion vasculaire Fibroblaste
Dix	-Epiderme cicatrisé -Cellules inflammatoire résiduelles -Fibroblaste modérée	-Epiderme renouvelé -Granulome inflammatoire subaigüe -Quelque poly nucléaires congestion vasculaire modérée	Réparation complète de l'épiderme Présence d'un discret granulome inflammatoire subaigüe Fibroblaste modère	-Epiderme partiellement régénéré -Granulome inflammatoire subaigüe -Fibroblaste entourant le granulome	Epiderme régénéré Granulome inflammatoire moderé Fibroblaste d derme superficiel
Quatorze	-Cicatrisation totale -Pas d'inflammation	Epiderme cicatrisé Discret granulome inflammatoire plus fibroblaste	Cicatrisation complète Pas de fibroblaste	Cicatrisation complète Pas d'inflammation	Epiderme cicatrisé Granulome inflammatoire plus fibroblaste

Les figures, (IV-6, IV-7, IV-8 et IV-9) représente la cinétique de la cicatrisation et montrent la différence entre l'efficacité de la bave d'escargot récupérée par piquage et celle récupérée par NaCl



Figure IV-6:Une plaie bien visible

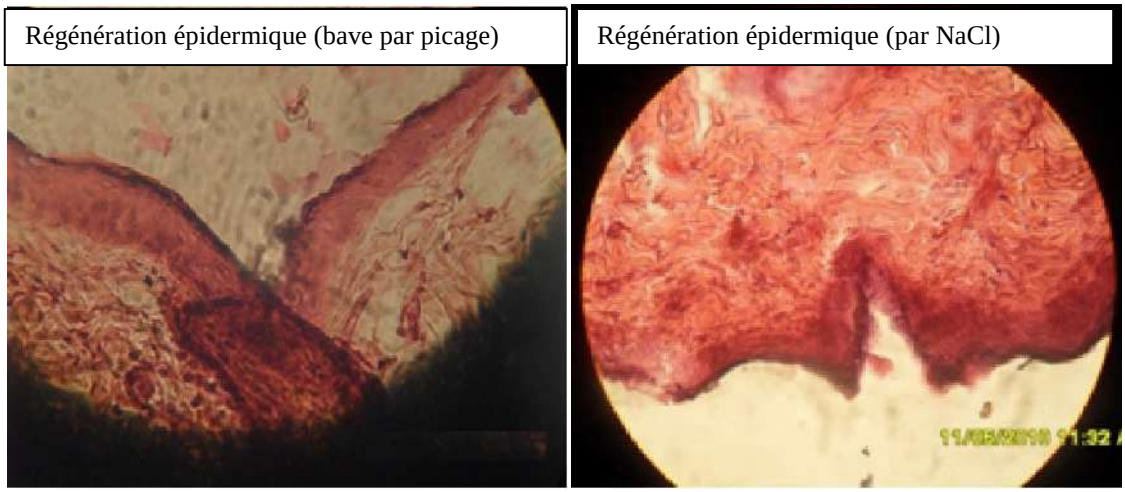


Figure IV-7:a) Régénération épidermique par bave de picage b) Régénération épidermique par bave de NaCl



Figure IV-8 ;a) Epiderme renouvelé, b) Epiderme au cours de renouvèlement

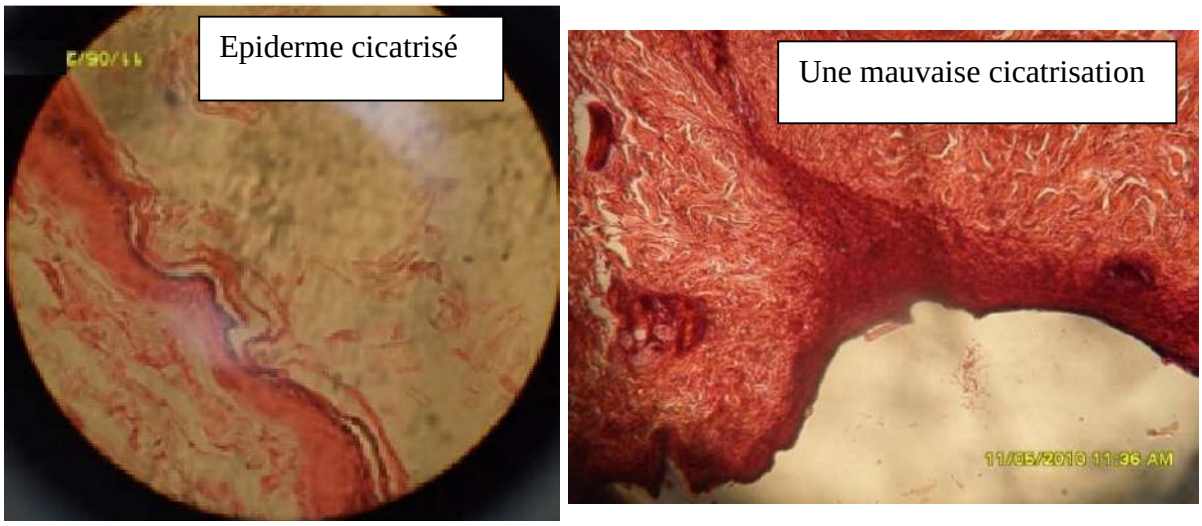


Figure IV-9: a) Epiderme bien cicatrisé, b) Présence d'une mauvaise cicatrisation

Cette étude de comparaison montre que la bave d'escargot récupérée par NaCl a un effet cicatrisant de mauvaise qualité qui explique par la présence de granulome inflammatoire et des fibroblastes, par contre la bave récupérée par picage à un effet cicatrisant plus efficace et de même efficacité que la crème MADECASSOL

À partir de ces résultats on peut conclure que :

•La bave d'escargot sécrétée est de même nature, seulement le procédé de récupération qui influe sur la composition

•Le NaCl à un effet sur la composition de la bave et donc sur son efficacité vis-à-vis de l'effet antibactérien et l'activité cicatrisante. les bacilles de coquelucheux on été traité par une bave récupérée par l'ajout de NaCl, [41], on remarquant que l'activité antispasmodique du mucus sur l'arbre bronchique n'apparaît qu'à fortes doses et non aux doses thérapeutiques, donc une inhibition de l'efficacité par le NaCl.

Ces résultats permettent de sélectionner la méthode de récupération de la bave par picage pour des fins thérapeutiques

IV.5Séchage de la bave d'escargot :

IV.5.1Optimisations des conditions de séchage :

L'optimisation de la température de séchage en fonction du taux d'humidité est un paramètre contrôlé par le temps de Séchage. Pour des basses températures, le temps de séchage est élevé, par exemple : une courbe c'est mieux que ces exemple

La Figure IV-10 montre la variation de taux d'humidité en fonction de temps à T=30C° et à T=34C°

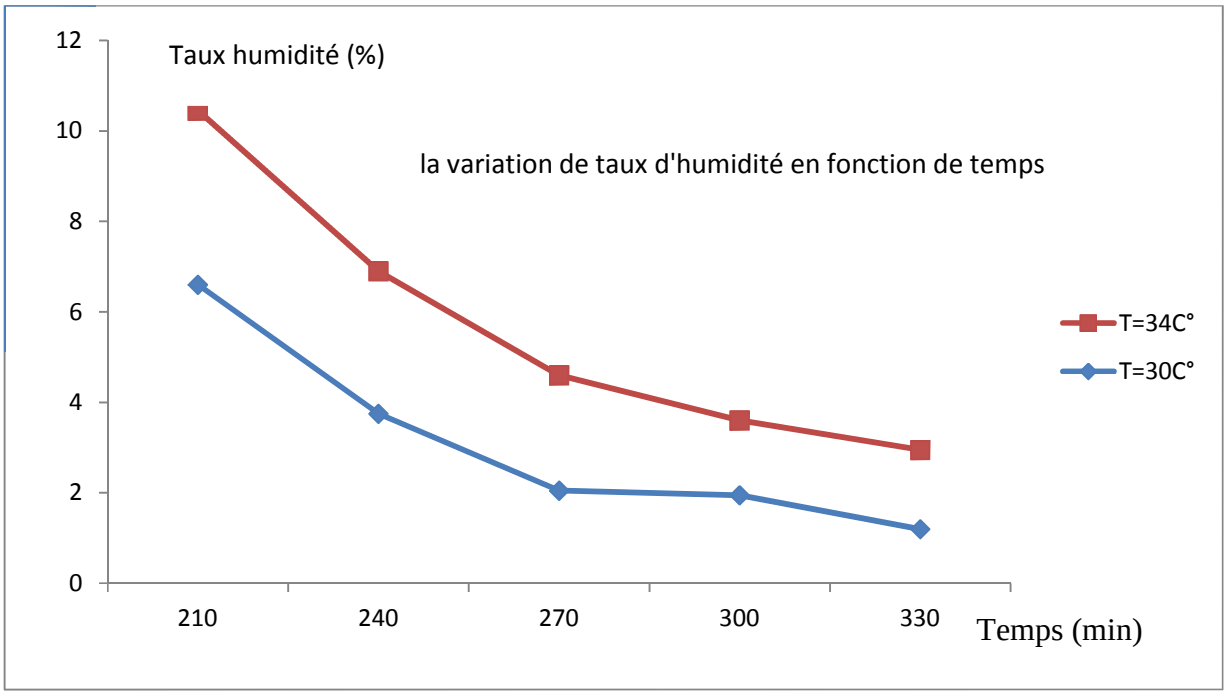


Figure IV-10: La variation de taux d'humidité en fonction de temps

Les bactéries testées pour avoir la préservation des propriétés antibactériennes de la poudre produisent au cours de séchage en fonction de la température et le temps sont la *B sub* et *S lutea*

La Figure IV-11 représente les résultats obtenus :

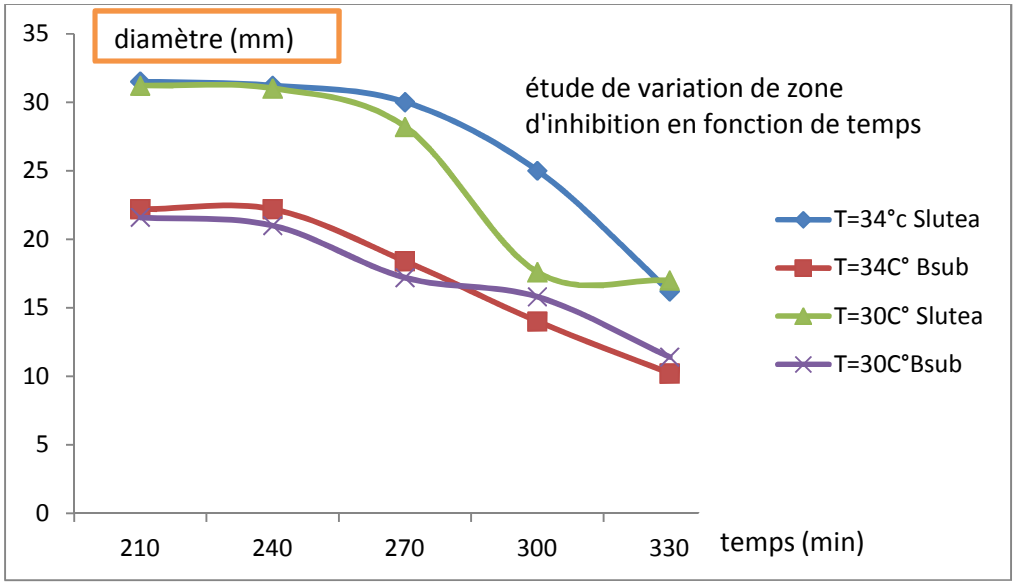


Figure IV-11: variation zone d'inhibition en fonction de temps

La représentation de la variation de zone d'inhibition en fonction de la température montre que l'effet anti bactérien diminue en fonction du temps de séchage, qui peut être expliqué par la dégradation des éléments responsables sur l'effet antibactérien.

À partir de ces résultats on peut conclure que le temps de séchage est de quatre heures quatre heures et demi avec une température de 34C°.

Le rendement obtenu est de 0,085 à 0.1%

IV.5.2Caractérisation de la poudre d'escargot :

IV.5.2.1Représentation de la poudre de la bave d'escargot :

Apres séchage, la poudre est finement broyée à l'aide d'un mortier et tamisée pour avoir un diamètre homogène de toutes les particules



Figure IV-12:La poudre obtenue

IV.5.2.2Les paramètres physicochimiques

Les paramètres physicochimiques sont résumés dans le Tableau IV-12.

Tableau IV-12:représentation des paramètres physique et chimiques

Tests	**LES INDICES**			**HLB**	**T%**	**N%**	**P%**
Poudre d'escargot	I_S	I_A	I_E	14,296	6,41	3,44	21,54
	0,0590	0,2069	0,1479				

La matière sèche conserve les propriétés chimiques de la bave, le taux d'azote élevé ainsi que le taux de protéine du à la concentration élevé des protéines dans la matière sèche par rapport à la matière fraîche.

IV.5.2.2.1Résultat de l'analyse par FTIR :

Les spectres FTIR enregistrés pour la poudre de la bave d'escargot sont présentés dans la Figure IV-13.

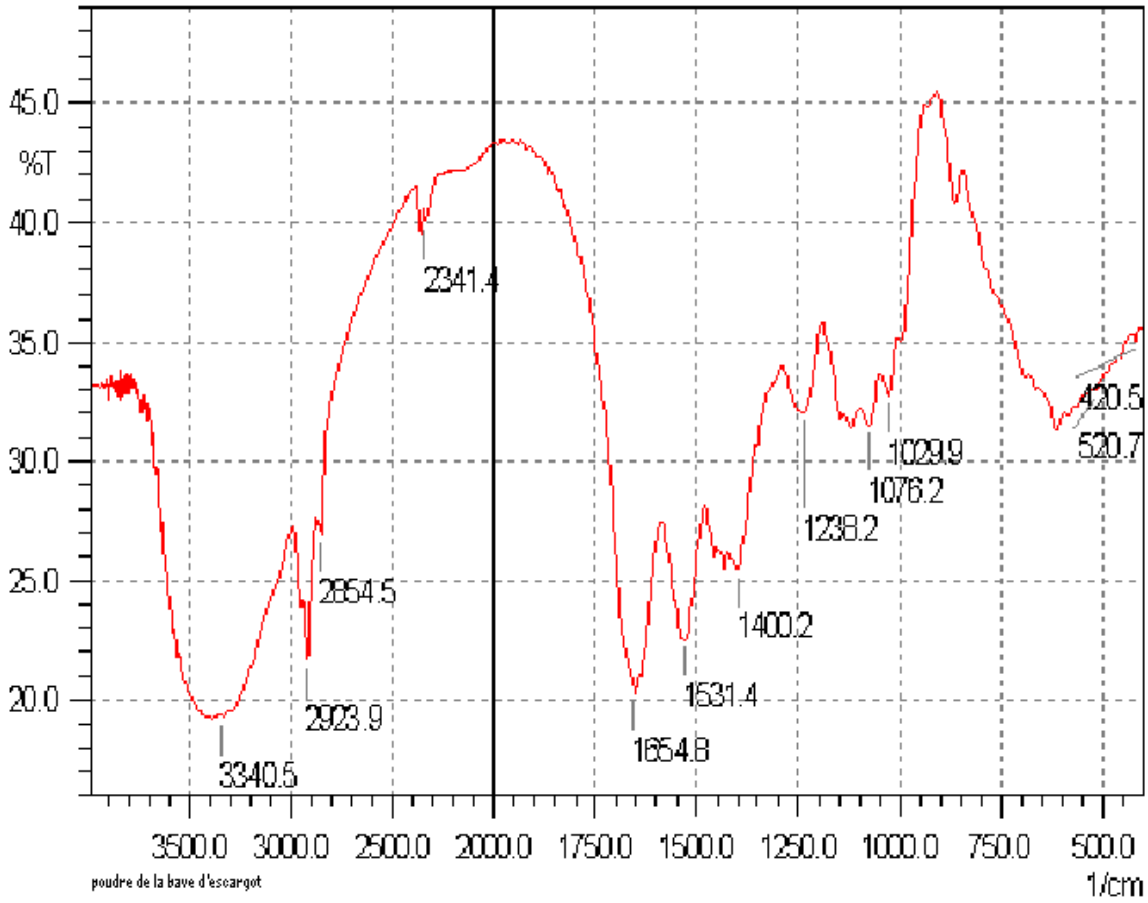


Figure IV-13; Spectre FTIR de la poudre de la bave d'escargot

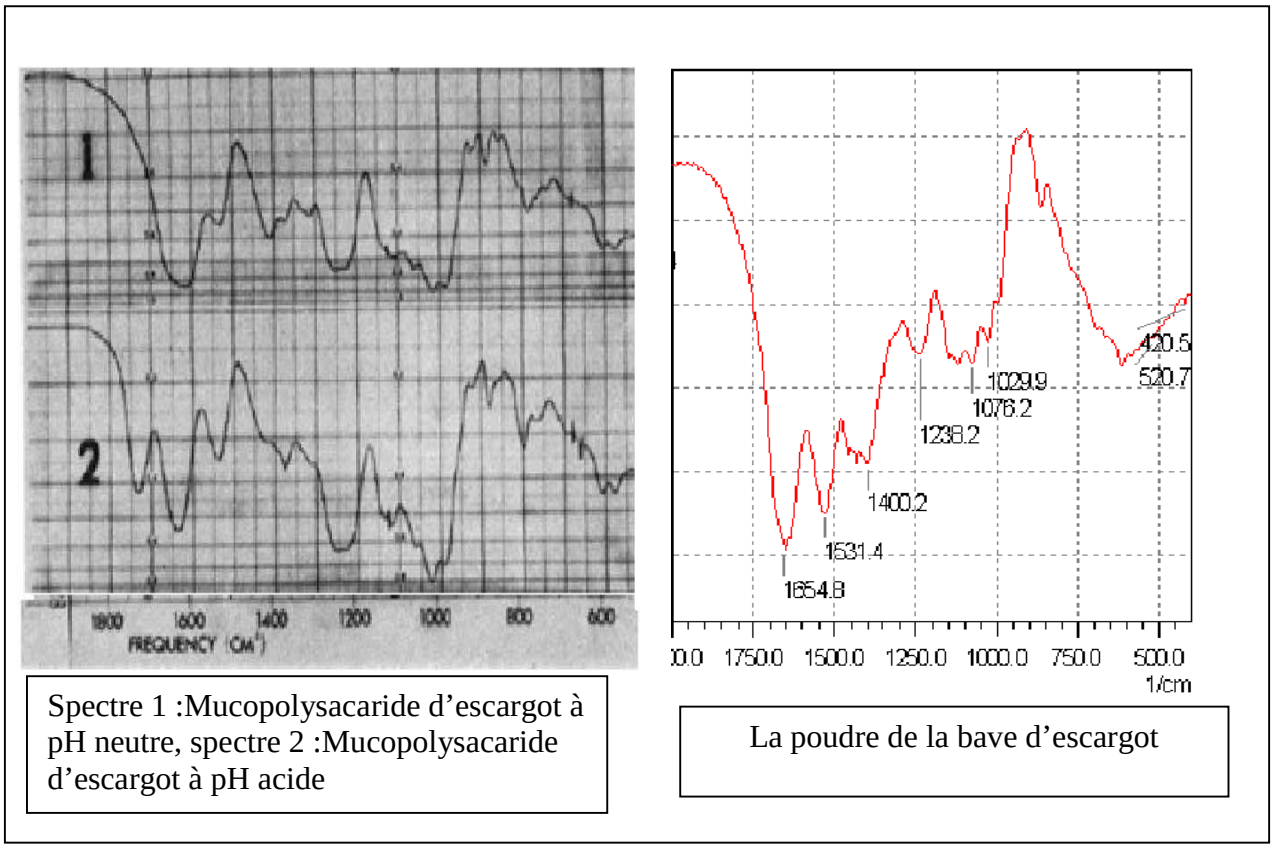
Ces spectres montrent les différentes bandes d'absorption et vibrateurs associés à l'échantillon. L'attribution des bandes a été effectuée en fonction du caractère aromatique, carboxylique, phénolique, etc. Cette attribution a permis de distinguer les bandes d'absorption suivantes :

- Entre 3500 et 3340 cm^{-1}, représente une bande amide pour CONH et deux pour $CONH_2$.
- Entre 3340 et 2340 cm^{-1}, on peut observer un large spectre d'acide carboxylique d'une intensité forte O-H à 2923,9 ou des alcanes entre 2850 et 2900
- Entre 1654 cm^{-1} et 1400 cm^{-1}, le spectre montre la présence des bandes de vibration caractéristique de C=O.
- Entre 1230 cm^{-1} et 1000 cm^{-1}, le spectre montre la présence des bandes de vibration caractéristique d'halogénures R –F.

•La gamme de 1076-1238 cm^{-1}est caractérisée par la présence des groupements d'éthers-O-R.

•Dans le domaine de 520 à 420 cm^{1}, la gamme des 'halogénures de R-Cl et R-Br respectivement.

L'analyse du spectre dans le domaine de 1800 à 420 cm^{-1}et la comparaison avec le spectre publié dans le travail de L'isolement et la caractérisation d'un mucopolysaccharides sécrétée par l'escargot Otezza Zactea, Figure IV-14 ,montre ;



Spectre 1 :Mucopolysacaride d'escargot à pH neutre, spectre 2 :Mucopolysacaride d'escargot à pH acide

La poudre de la bave d'escargot

Figure IV-14: Comparaison entre le spectre FTIR de la poudre de la bave d'escargot et un mucopolyssacaride isolé de l'escargot OtezzaZactea

On observe des pics dans le domaine entre 1650 cm^{-1} et 1500cm^{-1}, et entre 1200 cm^{-1} et 1000cm^{-1} et à partir de 600 cm^{-1}pour les spectres 1 et 2 des mucopolyssacarides ce qui signifier une ressemblance entre la composition des sécrétions des escargots

IV.5.2.2.2Détermination de la concentration micellaire critique (CMC) :

La bave d'escargot rentre dans la formule de nombreux produits cosmétique (crème ; shampoing, savon, etc.)

Le calcul de son HLB présente une valeur de propriétés d'un agent émulsionnant, détergent et solubilisant.Il est donc important de connaitre sa concentration micellaire critique, Figure IV-15.

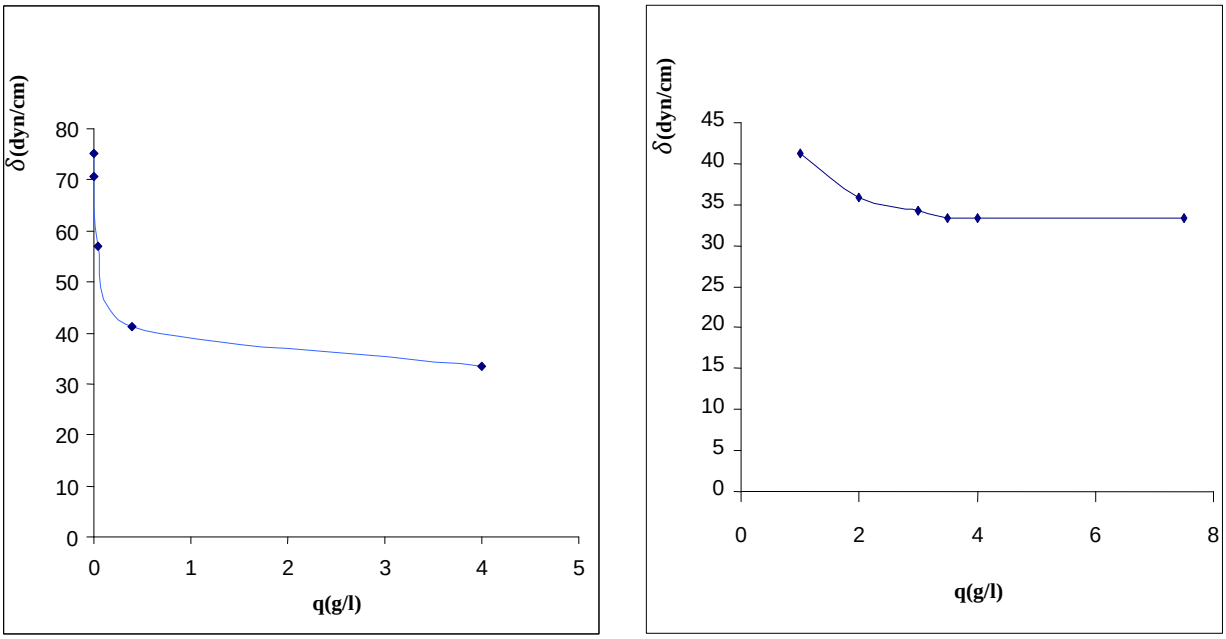


Figure IV-15:Influence de la concentration sur la tension de surface.

L'analyse de la figure montre que pour des concentrations supérieures à1g/l la tension de surface est plus petite, par contre la tension de surface augmente avec des concentrations minimales de la bave d'escargot

D'autre part, la courbe montre que pour des concentrations inférieures à 0.004 g/l on obtient la CMC. Ces résultats sont justifiables pour une HLB égale à 14

IV.5.2.2.3Étude viscosimètre de la poudre de la bave d'escargot :

Dans le cadre de la connaissance le comportement des solutions de la bave d'escargot, et d'étudier l'effet de la concentration sur le comportement viscosimétrique.

Figure IV-16 illustre la variation de la viscosité apparente en fonction de la concentration

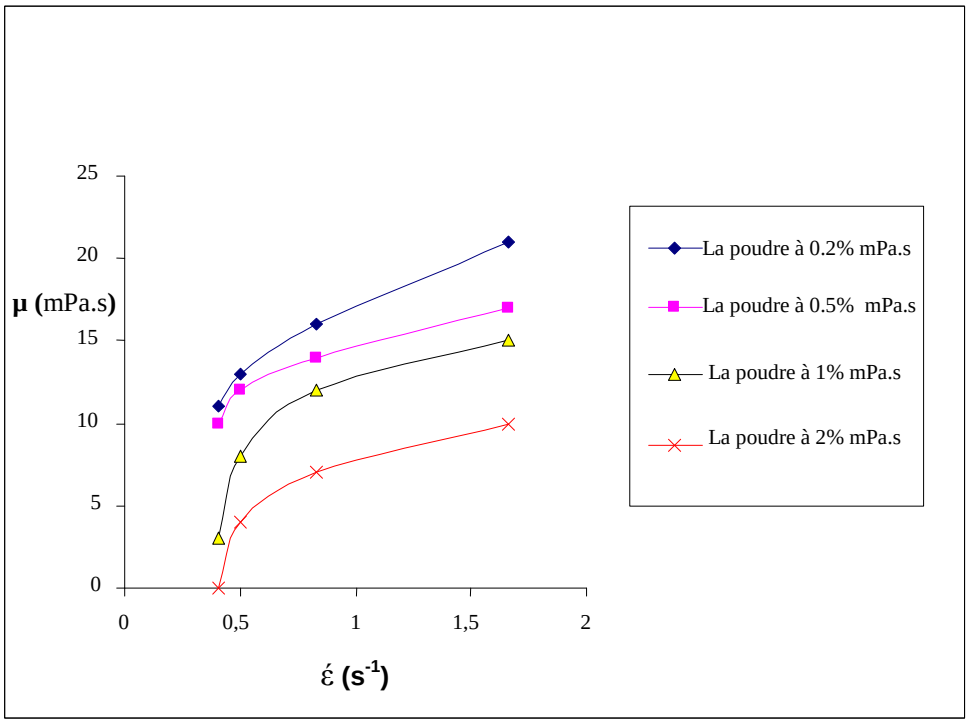
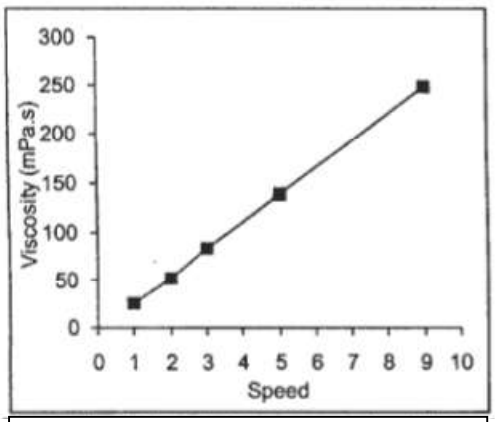


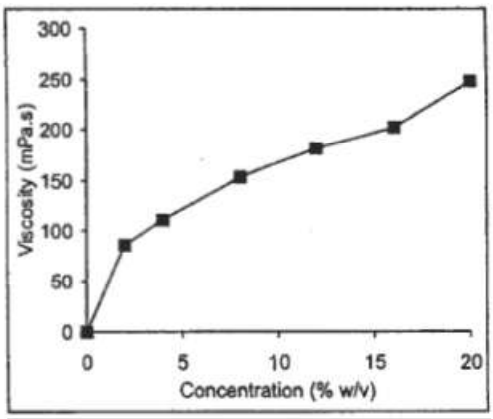
Figure IV-16: Influence de la concentration sur la viscosité

La courbe montre que les solutions de la poudre de la bave d'escargot à des concentrations différentes ont un comportement pseudo plastique. A des contraintes plus élevées de cisaillement, la courbe de débit tend vers la linéarité indiquant qu'une viscosité minimale a été atteinte. Ceci est probablement dû à la présence de longues molécules (des protéines) en solution, donc sous l'influence de cisaillement. Les molécules sont ordonnées dans le sens d'écoulement.

La comparaison entre nos résultats et celle de littérature [17], Figure IV-17, présente le même comportement d'écoulement de la solution de la bave d'escargot malgré que la race étudiée est l'escargot géant d'Afrique de genre *Archachatinamarginata* , la bave à subit un traitement avec l'acétone et l'eau puis le séchage est effectuée par lyophilisation.



La viscosité en fonction la vitesse pour une concentration de 20%



Effet de la concentration sur la viscosité

Figure IV-17: Représentation des résultats de référence [17]

Donc On peut conclure que la solution de la poudre d'escargot a des propriétés rhéologiques de type pseudo-plastique avec une similarité entre les races et les variétés d'escargotsp

IV.5.3Test de l'activité cicatrisante :

La bave d'escargot à l'état naturel a présenté une efficacité identique que la crème MADECASSOL 1%, et pour avoir l'influence de séchage sur la propriété cicatrisante, une étude de test de l'activité cicatrisante a été établie sur sept lots, chaque lot contient quatre rats

Lot 01: témoin

Lot 02: crème MADECASSOL 1%

Lot 03 : solution préparée de 0.2%

Lot 04 : solution préparée de 0.5%

Lot 05 : solution préparée de 1%

Lot 06 : solution préparée de 2%

Lot 07 : bave d'escargot liquide

Les résultats macroscopiques observés pour les solutions sont similaires à la bave à l'état naturel, qui assure la conservation des propriétés cicatrisantes

•La solution préparée à 0.2% a subi une étude microscopique

La lecture microscopique des coupes histologiques des tissus traités avec une solution de 0.2% de la bave d'escargot présenté les résultats suivants :

- Après trois jours en observe la présence d'une plaie.

- L'observation des tissus après six jours présenté le début de guérissent de la plaie indiqué par la présence de granulome inflammatoire et l'épiderme non régénéré

- La troisième et la quatrième lecture (après 9 et 14 jours) présentent une cicatrisation complète de la peau sans présence d'aucun signe d'une mauvaise cicatrisation

L'analyse de ces résultats montre que le procédé de séchage suivi à conservé les propriétés de la bave du point de vue physico chimique, microbiologique et pharmacologique, de plus la dose curative est inférieure ou égale 0.2%.

Les figures (IV-18, IV-19 et IV-20) représentent la cinétique de développement cellulaire de l'activité cicatrisante.

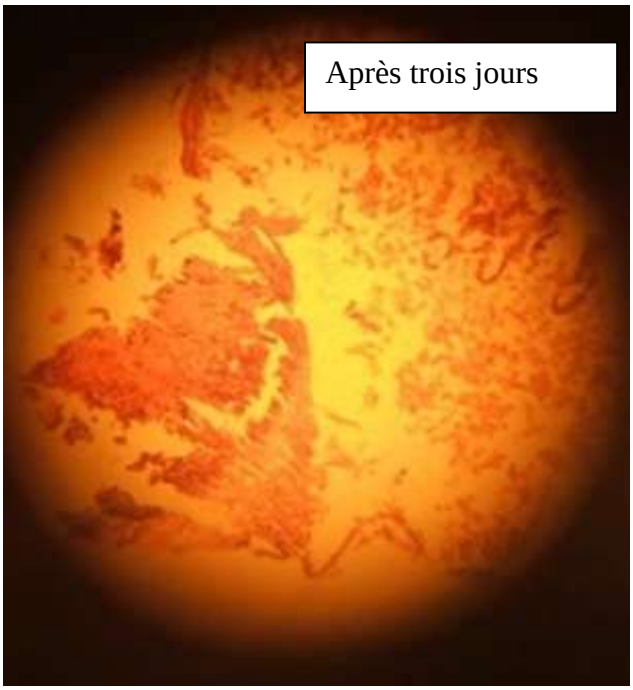


Figure IV-18:Présence d'ulcération

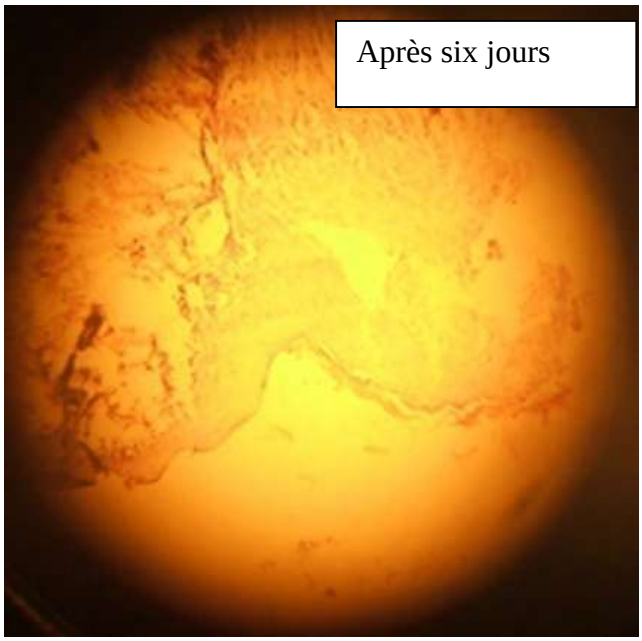


Figure IV-19:Epiderme régénéré, granulome inflammatoire subaigu



Figure IV-20: Un épiderme totalement cicatrisé

IV.6Conclusion :

A partir de ces résultats on peut conclure que :

- La bave d'escargot sécrétée est de même nature, seulement le procédé de récupération influe sur sa composition.

- Le NaCl à un effet sur la composition de la bave et donc sur son efficacité vis-à-vis de l'effet antibactérien et l'activité cicatrisante.

- Ces résultats permettent de sélectionner la méthode de récupération de la bave par picage pour des fins thérapeutiques.

- L'optimisation des conditions de séchage à un effet bénéfique sur la conservation des propriétés physicochimiques, microbiologiques et pharmacologiques da la bave d'escargot au cours du temps et l'utilisation comme une matière première dans la formulation des crèmes.

- L'étude des propriétés viscosimétriques des solutions de la poudre de la bave d'escargot révèle une propriété d'un fluide pseudo-plastique en plus d'une activité cicatrisante.

V. Approche à la formulation de la crème cicatrisante :

V.1Introduction

Avant de procéder à une formulation, la connaissance des propriétés chimiques, physicochimiques, microbiologiques et pharmacologiques des différents composants doit être optimisée.

Les crèmes sont des mélanges de deux phases, une phase aqueuse, l'eau est le constituant major, et une phase huileuse où les corps gras jouent le rôle d'un attachant de l'eau contre la perte en eau, plus des produits hygroscopiques et des stabilisants, des conservateurs plus des antioxydants et des aromes.

Une bonne connaissance des propriétés des composants permet d'éviter les interactions et les incompatibilités qui peuvent avoir lieu, la quantité d'excipient dans la formule, et le procédé de formulation, pour avoir à la fin une formule de bonne qualité, stable et conforme aux normes.

V.2 Matériels et méthodes :

V.2.1 Produits utilisés

V.2.1.1Généralités sur les excipients :

Les caractères des excipients utilisés dans la formulation sont présentés dans le Tableau V-1

V.2.1.1.1Caractérisation des 'excipients: [62]

La littérature présente des notions générales et des définitions sur la caractérisation des excipients et la gamme des préparations. Le Tableau V-1 présente un résumé sur les différentes applications des excipients en plus de leur fonction et la limite maximale d'acceptation.

Tableau V-1: Caractère des excipients rentrant dans la formulation de la crème

Excipients	Application	Concentration	Fonction
Eau déminéralisée	IM et IV injections	0,17	anti microbien
	Solution orale	0,01-0,1	
	Suspension buvable	0,1	
	Sirop	0,15	
	Préparation topique	0,1-0,2	
	Préparation vaginale	0.1-0.2	
Glycérine	Conservateur antimicrobien	<20	Conservateur antimicrobien; émollientes; humectant; plastifiant; solvant; édulcorant; agent de tonicité.
	Émollient	<30	
	Humectant	<30	
	formulations ophtalmiques	0,5–3,0	
	Plastifiant dans pelliculage du comprimé	Variable	
	Solvant pour préparations parentérales	<50	
	Édulcorant dans les élixirs alcoolisés	<20	
Triéthanolamune	Crème Savon		Agent Alcalinisant; émulsifiant.
Huile minérale	préparations ophtalmiques	3,03-60,0	Emollient; lubrifiant; véhicule oléagineux; solvant.
	préparations topiques	0,5-3,0	
	émulsions d'actualité	1,0-32,0	
	lotions topiques	1,0-20,0	
	préparation topiques	0,1-95,0	
Acide stéarique	Préparations topiques et crème	1-20	Agent émulsifiant, agent de solubilisation, de comprimés et de capsules lubrifiant.
	lubrifiant Tablet	1-3	
Alcool cetylique	Émollient	2-5	Agent d'enrobage, émulsifiant, agent de durcissement
	Agent émulsifiant	2-5	
	Agent raidisseur	2-10	
	Absorption d'eau	5	
Isopropylemuristate	Détergent	0,003–0,03	Emollient; véhicule oléagineux; pénétrant la peau; solvant.
	suspension otique	0,024	
	Parfums	0,5–2,0	
	Microémulsions	<50	
	Savon	0,03–0,3	
	aérosols d'actualité	2,0–98,0	
	crèmes et lotions topiques	1,0–10,0	
Dioxyde de titane			Agent d'enrobage; opacifiant; pigment.
Propyl parabène	IM, IV, SC injections	0,005–0,2	agent de

	L'inhalation des solutions	0,015	conservation antimicrobien.
	Les injections intradermiques	0,02–0,26	
	solutions nasales	0,017	
	Préparations ophtalmiques	0,005–0,01	
	solutions orales et suspensions	0,01–0,02	
	Préparations rectales	0,02–0,01	
	Les préparations topiques	0,01–0,6	
	préparations vaginales	0,02–0,1	

V.2.2Matériels :

Les équipements utilisés dans cette partie sont :

- Agitateur à hélice avec réglage de vitesse d'agitation.
- Deux béchers en verre.
- Un bain marie.
- Plus une balance analytique de précision (10^{-4} g), viscosimètre, pH métré et conductimètre.

V.2.3Méthodes :

V.2.3.1Technique de formulation

La formulation de la crème ou la sélection des quantités des excipients est effectuée selon les étapes suivantes :

•la crème MADECASSOL c'est une crème hydratante d'un effet cicatrisant. La propriété de notre crème est similaire à la crème MADECASSOL

Les crèmes hydratantes ont les propriétés suivantes :

•ce sont des émulsions huile dans eau (H/E),

•la phase aqueuse formée de 60 à 85%, dans laquelle les agents humectants ne dépassent pas les 10% [63],

•une phase huileuse de 15 à 40%, composée d'huile et des corps gras pour donner une bonne consistance et l'onctuosité et la douceur de la crème.

•des agents émulsionnants dans un intervalle de 2 à 4%.

•les agents conservateurs, agents antimicrobiens et antioxydants avec une limite de 1%.

✓ **La phase aqueuse :** Eau déminéralisé, glycérine.

✓ **La phase huileuse :** Huile minérale, isopropylemyristate, acide stéarique, alcool cytélique.

✓ **Les émulsionnants :**Triéthanolamine.

✓ **Agents conservateurs, colorants et parfum :**Propyl parabène, acide ascorbique, dioxyde de titane, arome.

Dans la phase aqueuse, la glycérine joue le rôle d'un agent humectant. Il est fixé avec une limite de 10% (Tableau V-5). Nous l'avons fixé à 5%.

La quantité des agents conservateurs est d'environ 1%, la quantité de l'acide ascorbique et du propyl parabène ajouté à la formulation pour assurer un pH neutre aux formes préparés.

Le dioxyde de tatane est un compliment à 1% [64]

- Pour avoir des bonnes crèmes, le rapport entre le triéthanolamine et l'acide gras doit être de 2 à 4% de triéthanolamine et de 2 à 5 fois d'acide gras.
- L'acide gras lorsqu'il est mélangé de 5 à 15 fois a son propre poids avec la phase aqueuse donne une bonne crème.
- Un mélange de 1 dans 19 d'alcool cytélique avec huile minérale absorbe de 40 à 50% d'eau.
- Une bonne émulsion H/E contient 1 dans 5 % de huile minérale dans l'eau [62].

V.3Essai de contrôle

Les essais de contrôle de qualité de la crème formulé sont bien détaillés dans le chapitre III, on ajoute l'essai de stabilité.

V.3.1Essai de stabilité :

Cette étude se divise en deux parties :

V.3.1.1Une étude de stabilité à la centrifugation

Ce test consiste à mettre la crème sous l'effet d'une force centrifugeuse pendant un temps fixe pour avoir la présence ou l'absence des phénomènes de crémage, sédimentation ou déphasage. Les vitesses de centrifugation sont : 1000 tr/min, 2000 tr/min, 4000 tr/min et 6000 tr/min.

V.3.1.2Une étude de stabilité accélérée

Au cours de temps par l'effet de la température, les températures utilisées sont 4, 25 et 40C°.

La mesure de la viscosité est faite à des temps suivants : t0 : 7 jours, 14 jours, 28 jours, 45 jours, 60 jours et 90 jours.

Le contrôle de pH et la conductivité sont nécessaires

V.3.2 Test de l'activité cicatrisante :

Les crèmes formulées sont testées selon la procédure suivante :

- **Lot 01 :** témoin.
- **Lot 02 :** crème MADECASSOL.
- **Lot 03 :** crème de 0.2 %.
- **Lot 04 :** crème de 0.5%.
- **Lot 05 :** crème de 1%.
- **Lot 06 :** crème de 2%.
- **Lot 07 :** mélange des excipients.

V.4. Résultats et discutions

V.4.1Approche à la formulation d'une crème cicatrisante :

V.4.1.1Composition de quelques crèmes à base de la bave d'escargot :

Le marché national et international connaît plusieurs types de crèmes à base de la bave d'escargot .On cite quelque crèmes appartenant à des grandes boites cosmétiques tels que :

ELICINA, ARMONIA, BABARIA, ELLEZZA, KAITA…ect.

L'objectif de notre travail est de formuler une crème à une activité cicatrisante et pour cela, on cherche la composition d'une crème médicale à effet cicatrisant. La crème qui répond à ces exigences est la crème MADECCASOL 1%.

✓**La crème MADFECASSOL:** MADECASSOL® crème

Composition:

Extrait de Centellas asiatica1 g (Hydrocotyle (extrait sec reconstitué titré à 40 % d'asiaticoside et 60 % d'acides madécassique et asiatique) 1 g), Paraffine liquide, Huile de lavande sans terpènes, Huile de géranium sans terpènes, Stéarate de glycol, Propylène glycol, Eau purifiée à 100 g.

Dans quel cas le médicament MADÉCASSOL crème est-il prescrit ?

Cette crème protectrice et cicatrisante contient un extrait de plante.

Elle est utilisée dans le traitement d'appoint des ulcérations de la peau.

V.4.1.2Le choix du véhicule

La formulation ou le choix des excipients pour formuler une crème est très délicat. La grande gamme des excipients plus les incompatibilités entre les excipients rendent cette tache très difficile.

Nous avons choisi les excipients communs de base entrant dans la formulation d'une crème cosmétique classique

Les excipients sont : eau déminéralisée, glycérine, triéthanolamine, huile minérale, acide gras de type acide stéarique, alcool gras de type alcool cetylique, isopropyle-muristate, dioxyde de titane, acide ascorbique, propyl parabène

Notre but est de trouver un véhicule (Tableau V-2) pour assurer l'arrivée de la bave au cite d'application pour avoir un effet cicatrisant avec une quantité minimale de la bave,

Tableau V-2: Résume des essais de préformulation :
Les valeurs présentées sont des concentrations massiques.

Composants	Essai 01	Essai 02	Essai 03	Essai 04	Essai 05	Essai 06	Essai 07	Essai 08	Essai 09
Huile minérale	20	18	15	15	13	15	15	15	15
Acide gras	5	7	12	9	10	6	8	6	9
Alcool gras	1,5	1,5	1,5	0,8	0,7	1,5	1,5	1,5	1,5
Isopropylmuristate	1,5	1,5	1,5	1,5	2	1.5	1,5	1,5	1,5
Triéthanolamine	1,5	1,5	1,7	1,8	2	2	2	2	2
Glycérine	5	5	5	5	6,5	7	5	5	5
Acides ascorbique	0,1	0,1	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Propyl parabène	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4
Dioxyde de titane	0,4	0,4	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Arome	0,1	0,1	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Eau	qsp 100%	qsp 100%	qsp 100%	qsp 100%	qsp 100%	qsp 100%	qsp 100%	qsp 100%	qsp 100%
Aspect	Laiteux	Crème sèche	Crème aspect pâteux	Crème	Crème	Crème sèche	Crème	Crème sèche	Crème

Essai 1 : un aspect laiteux dû à la faible quantité de l'acide gras.

Essai 2, essai 6 et essai 8 : ces trois formules présentent un aspect crémeux, brillant et facile à l'étalement.

Essai 3 et essai 5 : aspect pâteux à la forte quantité de l'acide gras

Essai 4 ,7 et 9 : ces trois crèmes présentent un aspect crémeux avec un étalement facile

D'après ces résultats, on sélectionne les préparations 2, 6 et 8 pour l'étude

V.4.1.2.1Mesure du pH :

Les résultats sont résumés dans le Tableau V-3.

Tableau V-3: Test de pH

La formule	Essai 2	Essai 6	Essai 8
pH	7,14	7,37	7,23

V.4.1.2.2Sens émulsion :

La mesure de la conductivité montre qu'elle est supérieure à zéro entre 120 et 170 µs/cm, ce qui signifie que le mélange préparé est de type émulsion huile dans eau.

V.4.1.2.3Stabilité par centrifugation

Ce test consiste à mettre la préparation sous l'effet d'une force centrifuge. Les résultats sont résumés dans le Tableau V-4.

Tableau V-4: La stabilité à la force centrifuge.

Tr/min / formules	1000	2000	4000	6000	8000	10000
Essai 2	Stable	Stable	Stable	Stable	Stable	Stable
Essai 6	Stable	Stable	Stable	Stable	Stable	Stable
Essai 8	Stable	Stable	Stable	Stable	Stable	Stable

On remarque que les trois formules présentes sont stables à la centrifugation et on note l'absence totale des phénomènes de crémage ou de séparation de phase.

Pour terminer l'étude nous avons proposé la formule suivante (Tableau V-5).

Tableau V-5: Composition optimisée

Composants	**Concentration massique**
Huile minérale	15
Acide gras	9
Alcool gras	1,5
Isopropylmuristate	1,5
Triéthanolamine	1,7
Glycérine	5
Acide ascorbique	0,2
Propyl parabène	0,4
Dioxyde de titane	0,2
Arome	0.2
Eau	Qsp à 100%

Les mêmes analyses sont répétées pour avoir le pH, le sens d'émulsion et la stabilité à la centrifugation. Ainsi la nouvelle forme présente les caractères suivants :

Tableau V-6: Caractère de la formule proposée

Essais	pH	Conductivité µS/cm	Stabilité
Résultat	7,24	145,67	Stable

V.4.1.3Approche à la viscosité de véhicule :

La connaissance des propriétés viscosimètriques du mélange des excipients aide à trouver et à imaginer la formule finale.

Pour réaliser cette approche, nous avons proposé une crème commerciale à base de la bave d'escargot. L'étude comparative entre la déformation de la crème commerciale et le mélange des excipients nous oriente vers une la quantité de la poudre de la bave d'escargot à ajouter et de comprendre l'influence de la bave sur le mélange.

La Figure V-1 montre l'effet de la vitesse de cisaillement sur l'écoulement de la crème et le mélange des excipients afin d'avoir une approche viscosimétrique.

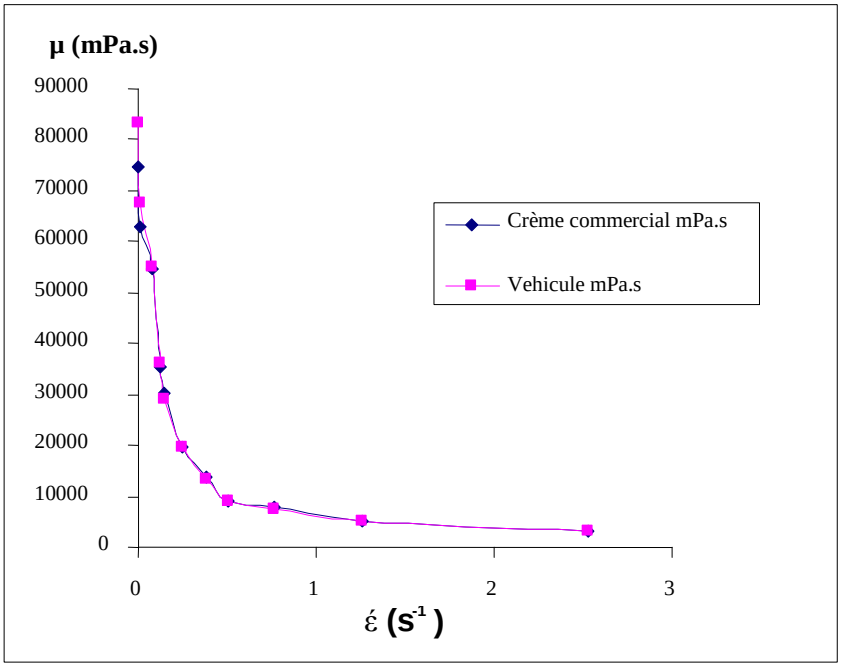


Figure V-1: Étude comparative de la viscosité de véhicule et la crème commerciale

Le véhicule possède un comportement pseudo-plastique, une viscosité élevée aux taux de cisaillement faibles, d'autre part aux taux de cisaillement plus forts, la viscosité apparente diminue.

Le véhicule possède les mêmes propriétés de déformation que la crème commerciale, plus la vitesse de cisaillement est grande, la destruction des formes tend vers une viscosité apparente de 300 mPa.s, et même pour une vitesse de cisaillement faible, il y a une tendance vers la même valeur.

V.4.2 Formulation de la crème cicatrisante :

La MADECASSOL est une crème cicatrisante à 1% de concentration de principe actif. Notre but est de formuler une crème qui possède les mêmes propriétés, essentiellement l'effet cicatrisant de la crème préparée à base de la bave d'escargot au maximum avec une concentration voisine de 1%. Pour cela, on propose les quatre concentrations suivantes : 0.2%, 0.5%, 1% et 2% avec la même composition du véhicule.

V.4.2.1Essai et contrôle préliminaire :

Le Tableau V-7 résume les valeurs du pH, de la conductivité et la stabilité à la centrifugation.

Tableau V-7: Résultats de pH, conductivité et stabilité des formules préparées

Test	pH	Conductivité	Stabilité
Crème 0,2%	7,62	91,7	Stable
Crème 0,5%	7,46	134,6	Stable
Crème 1%	7,31	167,6	Stable
Crème 2%	7,23	182,4	Stable

V.4.2.2 Mesures de la viscosité

L'analyse de la viscosité (Figure V-2) présente une déformation de même nature.

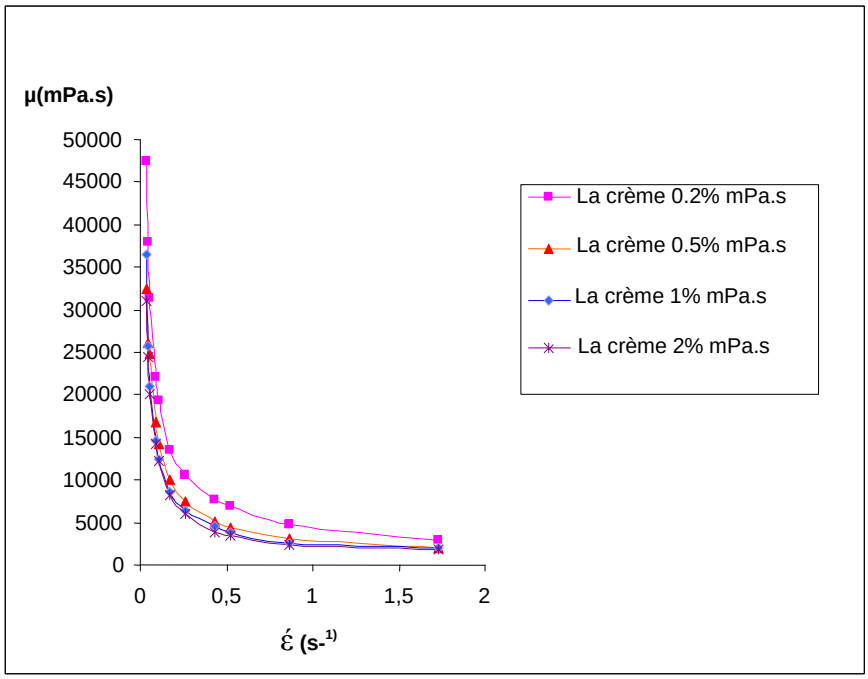


Figure V-2: Etude de variation de la viscosité en fonction de vitesse de cisaillement

La description de la figure montre que l'ajout de la poudre de la bave d'escargot au véhicule diminue la viscosité apparente. Elle passe de 83300 à 47500 mPa.s pour une vitesse de cisaillement de 0.3 s^{-1} pour la crème de 0.2%, et à 32500 mPa.s pour la préparation de 0.5%, et à 36500 mPa.s pour la crème de 1% et en fin à 31000 pour la crème de 2%.

On remarque que pour des vitesses de cisaillement fortes, les préparations suivent le même chemin que le mélange des excipients et pour une vitesse de cisaillement de 1 s^{-1} les viscosités des préparations tendent vers des viscosités de 200 à 300 mPa.s.

Cet effet peut être expliqué par les interactions qui existent entre les molécules de la poudre et celles des excipients, ces interactions sont de type répulsif.

V.4.2.3 Essai de stabilité au cours de temps :

Le contrôle de la stabilité au cours du temps est réalisé en suivant trois paramètres : le pH, la conductivité et la variation de la viscosité.

Le pH :

La mesure de pH des crèmes préparées à différentes concentrations (0.2% ; 0.5% ; 1%) de t1 (après sept jours) à t5 (après quarante-cinq jours), montre que le pH est neutre. Il varie entre 7.15 et 7.56 pour toutes les crèmes à des températures T=4°C, T=25°C et T=37°C.

La conductivité :

Les préparations dermiques sont des émulsions huile dans eau, donc ont une conductivité supérieure à zéro. Le suivi de la variation de la conductivité au cours du temps montre que cette dernière varie entre 75.5 et 121.5 µs/cm.

La viscosité :

Les crèmes préparées présentent une conservation des propriétés d'écoulement sous l'effet du temps et la température. Les allures des courbes (voir annexe IV), montre une ressemblance entre la viscosité mesurée à t0 et après vingt-huit jours.

V.4.2.4 Test de l'activité cicatrisante :

Apres avoir déterminé les propriétés d'écoulement des crèmes préparées, une étude de l'efficacité cicatrisante a été effectuée pour avoir la compatibilité entre la poudre de la bave d'escargot et les excipients afin d'évaluer l'effet cicatrisant.

V.4.2.4.1Lecture macroscopique :

Les résultats macroscopiques obtenus sont résumés dans le Tableau V-8 Les résultats obtenus par le témoin et la crème MADECASSOL sont identiques aux résultats trouvés dans les premières parties.

Tableau V-8: Lecture macroscopique de l'activité cicatrisante des crèmes préparées :

Produit / Jours	Crème 0.2%	Crème 1%	Crème 0.5%	Crème 2%	Mélange d'excipient
Trois	Deux plaies siège d'un produit brunâtre	Deux ulcérations bien visibles brunâtres	Deux plaies siège d'un produit brunâtre	Deux plaies bien visible siège d'un produit brunâtre	Deux ulcérations visibles brunâtres
	Une seule plaie visible	Deus discrète brunâtres	Deux plaies dont l'une devient à	Deux plaies dans l'une se referment	ulcérations visible brunâtres

Sept		(une entrait de cicatrisé)	peine visible		
Dix	Pas de plaie	Trace d'une plaie brunâtre (cicatrisée)	Persistance d'une discrète plaie (cicatrisée)	Plaie refermée	Fente à peine visible
Quatorze	Pas de plaie	Cicatrisation, pas de plaie	Plaie à peine visible) cicatrisée	cicatrisée	Point visible (cicatrisée) à peine visible

V.4.2.4.2. Lecture microscopique

La lecture des coupes histologique présente les résultats suivants :

- La crème de concentration 1% a un effet thérapeutique identique au mélange des excipients, ce qui ressemble aux résultats du témoin.
- Les crèmes préparées à 0.5% et à 0.2% ont présenté un effet cicatrisant similaire à la crème MADECASSOL

A partir de ces résultats, on peut conclure que :

- Le mélange des excipients n'a aucun effet sur la cicatrisation des plaies.
- Le véhicule proposé a présenté une efficacité pour le transfert du principe actif au cite d'application pour des faibles concentrations (pour 0,2 et 0,5%)
- Pour atteindre l'efficacité d'une préparation à usage dermique, il faut assurer la relation concentration/saturation qui peut être expliquée par :

✓ Si le véhicule est un bon solvant du principe actif et si la concentration est loin de la saturation, la forme retiendra le principe actif qui aura peu de chances de diffuser à l'extérieur, si ce n'est à une vitesse trop lente pour que la libération soit significative.

✓ Au contraire, les meilleures conditions de diffusion seront réunies si la quantité dissoute correspond à la concentration à la saturation.

- La diminution de l'activité cicatrisante des crèmes à des concentrations de 1% et 2% peut être due à la quantité dissoute de la poudre de la bave d'escargot qui ne représente pas la compatibilité concentration-saturation, mais cette relation est bien présente dans les crèmes de concentrations 0,2% et 0,5%.

Les figures (V-3 V-4 V-5 V-6) illustrent les résultats trouvés avec une comparaison du développement cellulaire entre la crème à 0,2% et la crème à 1%.

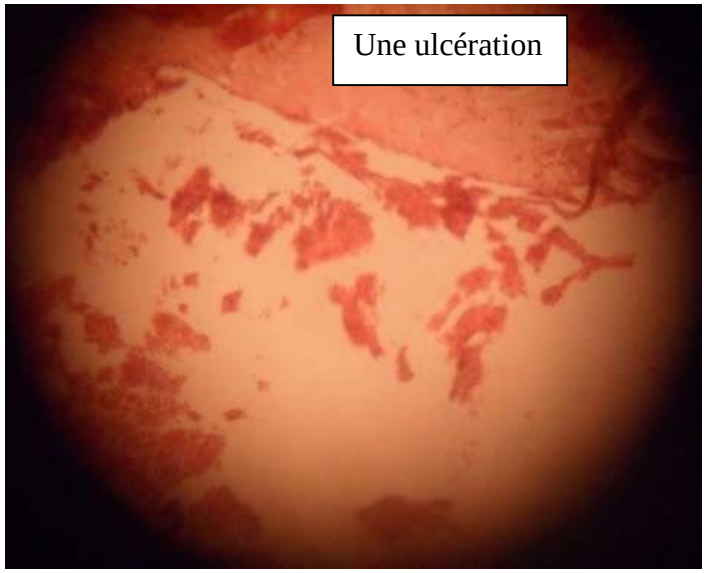


Figure V-3; Une plaie bien visible a prés trois jours

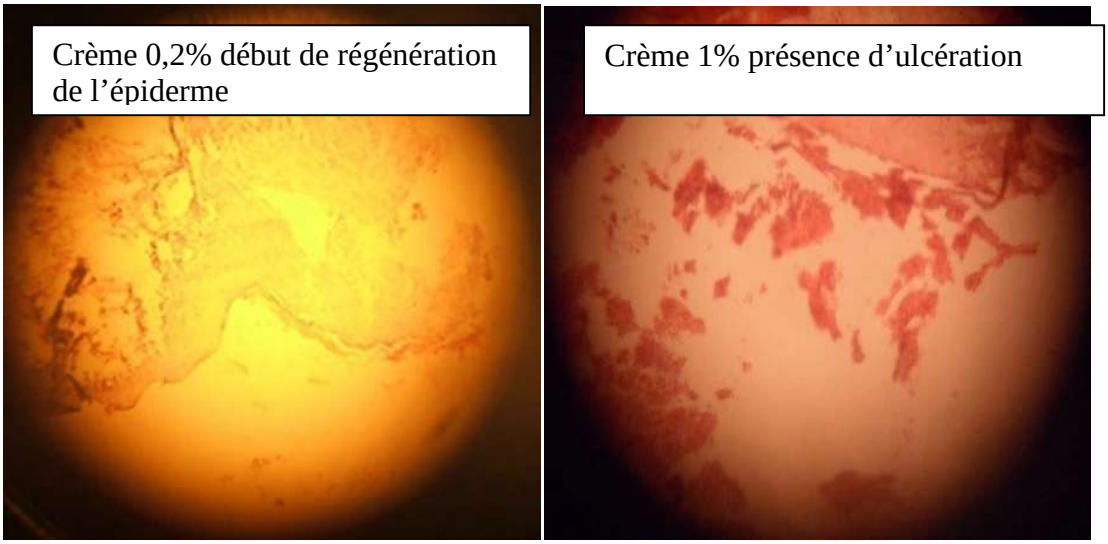


Figure V-4: Le développement cellulaire après six jours

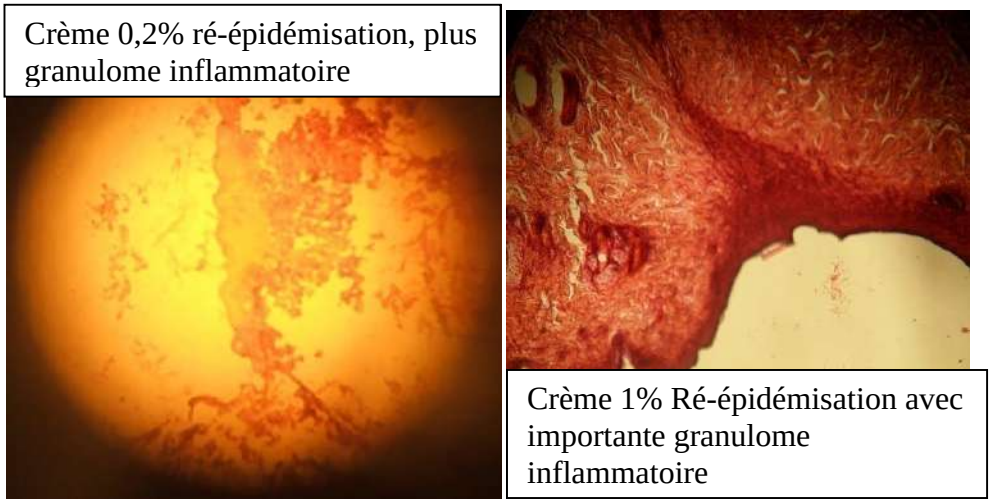


Figure V-5: Après dix jours de traitement

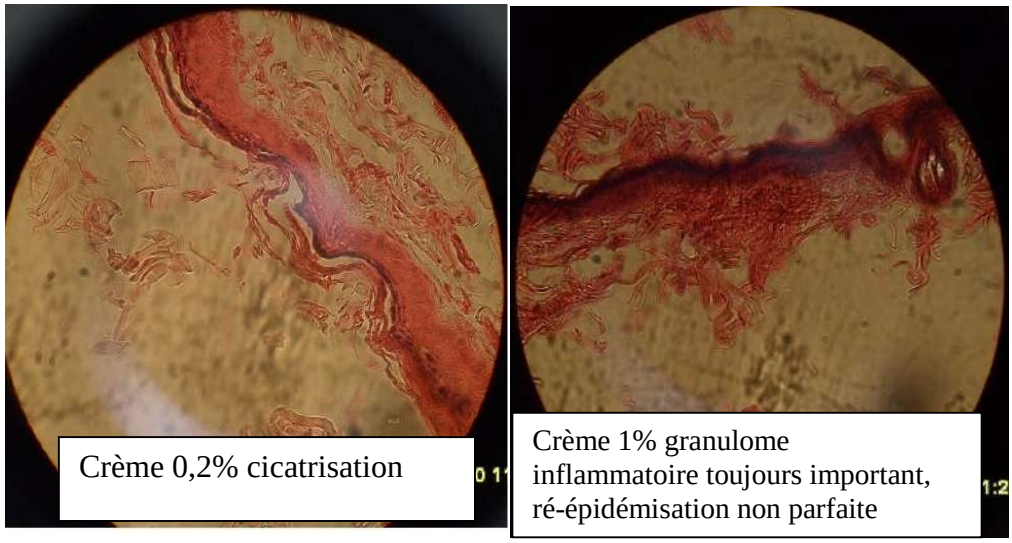


Figure V-6: La fin de traitement

Le traitement effectue par la crème à 0,2% est plus efficace par rapport au traitement avec la crème 1% et identique avec le traitement par la crème MADECASSOL

V.5 Conclusion :

L'optimisation d'un mélange des excipients compatible vis à vis des composants de la poudre à fait appel à une recherche bibliographique et une étude rhéologique ainsi que l'évaluation de l'efficacité cicatrisante de la crème.

La diminution de la viscosité du véhicule par l'ajout de la bave séchée est expliquée par des interactions entre les constituants de la crème conduisant à une crème stable, conforme et efficace.

Conclusion générale

Ces travaux avaient pour objectif de proposer plusieurs méthodes d'analyse pour l'aide à la formulation de nouvelles crèmes à des besoins thérapeutiques ou bien cosmétique.

Les procédures expérimentales proposées sont :

- une stratégie expérimentale et un déroulement chronologique permettant de connaitre les étapes à suivre pour atteindre une matière première stable et utilisable
- des méthodes simples et rapides pour évaluer la composition d'un véhicule pour formulation à usage locale
- un dispositif pour l'étude d'une crème dermique formulée

La bave d'escargot a été choisie comme un modèle pour tester la procédure de développement d'une formule pour l'étude de l'activité cicatrisante

Une méthode pas-à-pas a été mise en place reposant sur l'étude des principaux paramètres physico-chimiques, microbiologiques et pharmacologiques ayant une influence sur la protection de toutes les propriétés

Les résultats ont conduit à la détermination du type d'escargot à étudier et la mise en évidence de la procédure d'excitation. La première étape correspond à une étude statistique de mortalité et la deuxième à une quantification de la bave selon la méthode de récupération. Des expériences ont permis de caractériser le mode adéquat de récupération ainsi d'avoir une idée générale sur les propriétés d'activation.

L'association entre deux procédés de séchage aide à la transformation de la bave liquide à une bave solide sous forme d'une poudre. Le protocole mis en place a montré l'efficacité de séchage qui a été assuré par la conservation des propriétés obtenues par la bave à l'état liquide.

A partir des résultats obtenus, une étude de pré-formulation a été établie. Le protocole utilisé pour l'étude de pré-formulation consiste à avoir une base de données sur la composition des crèmes à base de la bave d'escargot, puis de choisir les excipients communs et de chercher dans la bibliographie les limités d'accessibilité.

Les propriétés de mélange des excipients ont subi une étude de stabilité accélérée par la force centrifugeuse pour atteindre une formule optimale, puis une sélection des rapports massique des excipients .La forme optimisée a subi une étude comparative avec une crème commerciale pour avoir les propriétés de type de fluide.

Les méthodes citées permettent donc de guider à obtenir une matière première et le choix d'un véhicule pour la formulation de nouvelle crème.

Une fois le principe actif est entré dans la formule, les phénomènes de compatibilité et d'écoulement de la forme obtenu ont été déterminés. Une étude de l'influence des constituants de base et de la nature de l'émulsion elle-même, sur l'activité cicatrisante a été contrôlée.

L'étude de l'efficacité de véhicule dans la crème formulée et la comparaison des résultats avec une crème de référence pour avoir l'influence des excipients sur la bave d'escargot a montré une grande compatibilité vis-à-vis du mélange et de la poudre de la bave d'escargot.

Finalement, avec l'atteinte de ces résultats il nous reste à améliorer la composition de la formule et faire une étude d'identification et d'isolation des composants responsables de l'activité cicatrisante de plus l'étude de la possibilité de leur synthèse.

Annexe I

Densité relative d^{20}_{20}

La densité relative $\boldsymbol{d^{20}_{20}}$ d'une substance est le rapport entre la masse d'un certain volume de cette substance à 20°C et la masse d'un volume égale d'eau à la même température.

La densité relative d^{20}_{4}d'une substance est le rapport entre la masse d'un certain volume de cette substance à 20°C et la masse d'un volume égale d'eau à 4°C.

La masse volumique ρ_{20} d'un corps est le quotient de sa masse par son volume à 20°C. Elle est exprimée en Kg/m^3.

Les relations numériques entre la densité relative et la masse volumique exprimée en Kg/m^3 sont les suivantes :

$$\rho_{20} = 998{,}202\ \boldsymbol{d^{20}_{20}} \text{ou} \boldsymbol{d^{20}_{20}} = 1.00180\ .10^{-3}\ \rho_{20}$$

$$\rho 20 = 999{,}972\ \boldsymbol{d^{20}_{4}} \text{ou} \boldsymbol{d^{20}_{4}} = 1.00003.\ l0\text{-}3\ \ \rho 20$$

$$\text{Avec } d^{20}_{4} = 0{,}998230\ \boldsymbol{d^{20}_{20}}$$

Annexe II

Indice de réfraction η^t_λ

L'indice de réfraction η^t_λ d'un milieu rapporté à l'air est égal au rapport du sinus de l'angle d'incidence d'un rayon lumineux dans l'air, au sinus de l'angle de réfraction du rayon réfracté dans le milieu considéré.

Indice d'acide (I_A)

L'indice d'acide I_a est le nombre qui exprime en milligrammes. La quantité d'hydroxyde de potassium nécessaire à la neutralisation des acides libres présents dans 1 g de substance.

Mode opératoire :

Dissolvez 1g de la substance à examiner, dans 50ml d'un mélange à volumes égaux d'Alcool R et d'Ether R. le solvant doit être neutralisé au préalable par l'Hydroxyde de Potassium 0,1M en présence de 0,5ml de solution de Phénophtaléine R1. Après dissolution, titrez par l'Hydroxyde de Potassium 0,1M. Le titrage est terminé lorsque la couleur rose persiste pendant 15s au moins (n ml d'Hydroxyde de Potassium 0,1M).

$$I_A = \frac{5{,}61 * n}{M}$$

5,61: Eq de KOH,

n: Volume de KOH,

M: Pesée de l'échantillon.

Indice de saponification (I_S)

L'indice de saponification I_S est le nombre qui exprime en milligrammes la quantité d'hydroxyde de potassium nécessaire à la neutralisation des acides libres et à la saponification des esters présents dans 1 g de substance.

Mode opératoire :

Dans une fiole de 250ml de verre borosilicaté munie d'un réfrigérant à reflux, introduisez la prise d'essai (1g). Ajoutez 25,0ml d'Hydroxyde de Potassium Alcoolique 0,5M et quelques billes de verre. Adaptez le réfrigérant et chauffez à reflux pendant 30min. Ajoutez 1ml de solution de Phénophtaléine R1 et titrez immédiatement (alors que la solution est

encore chaude) par l'Acide Chlorhydrique 0,5M (n_1 ml d'Acide Chlorhydrique 0,5M). Effectuez un essai à blanc dans les mêmes conditions (n_2 ml d'Acide Chlorhydrique 0,5M).

$$I_s = \frac{28{,}05 \times (n_2 - n_1)}{M}$$

Indice d'ester (I_E)

L'Indice d'Ester I_E est le nombre qui exprime en milligrammes la quantité d'Hydroxyde de Potassium nécessaire à la saponification des Esters présents dans 1g de substance. Il est calculé à partir de l'Indice de Saponification I_S et de l'Indice d'Acide I_A.

Indice d'Ester = Indice de Saponification – Indice d'Acide

$I_E = I_S - I_A$

Indice d'hydroxyle (I_{OH})

L'indice d'hydroxyle I_{OH} est le nombre qui exprime en milligrammes la quantité d'hydroxyde de potassium nécessaire à la neutralisation de l'acide qui se combine par acylation à 1 g de substance.

Annexe III

SPECTROPHOTOMÉTRIE D'ABSORPTION DANS L'INFRAROUGE

a) Principe :

La spectroscopie infrarouge est une technique d'investigation dont dispose les laboratoires d'analyses.

Cette méthode spectroscopique est basée sur la capacité des molécules organiques à absorber une radiation électromagnétique.

La substance à analyser est exposée à une radiation lumineuse de longueur d'onde déterminé ou variable ; une partie de cette lumière incidente est absorbée par cette substance, provoquant de ce fait des changements dans la molécule, l'autre partie de lumière est transmise.

Un détecteur reçoit les deux faisceaux (incident et transmis) et procède au calcul de l'absorbance (A) et les résultats sont enregistrés automatiquement et présentés sous les formes d'une courbe d'absorption (A = f (ύ)) appelé spectre d'absorption

L'Energie absorbée dans le domaine de l'infrarouge (0.8<<300µm) ou (0.1<E<36Kcal) provoque des vibrations, des rotations ou les deux phénomènes à la fois.

b) But :

Les spectres IR sont largement utilisés pour identifier certains groupes d'atomes ; dites fréquences (ou nombre d'onde) bien caractérisées qui apparaissent toujours dans la même région du spectre.

C'est pour cela qu'on les assimile à des « empreintes digitales ».Les fréquences caractéristiques sont actuellement reportées dans des tableaux ou enregistrés sur des fichiers informatiques.

L'étude des fréquences des vibrations d'une substance donnée (fréquences relèves sur son spectre) et leur comparaison avec celles existantes sur les tableaux de donnée, permet ainsi de tirer une conclusion quant à la structure de la molécule de cette substance.

c) Mode opératoire :

1-On dissout quelques grammes de la substance dans l'huile de nujol.

2- Posez une goutte d'échantillon (1) et dispersez cette dernière sur la cellule.

3- Lire les résultats.

d) Appareil utilisé :

PU 9700 séries (PU 9714) infra red spectro photomètre (Philips)

Annexe IV

TAUX D'HUMIDITE (METHODE PERTE A LA DESSICCATION) :

Matériel :

- ✓ Creuset en porcelaine,
- ✓ Dessiccateur,
- ✓ Balance,
- ✓ Etuve.

Mode opératoire :

On pèse 1g de l'échantillon dans un creuset en Porcelaine, en suite on met le creuset dans l'étuve à la température de 105° C pendant 2 heures.

Et puis on met le creuset dans un dessiccateur, puis on pèse le résidu.

Calcule :

P_1 : (creuset +1g de la substance)

P_2 : (creuset après dessiccation)

Taux d'humidité (%)= (P_1-P_2) /m

m = masse de l'échantillon

Annexe V

DETERMINATION DE L'AZOTE TOTAL :

A pour but de déterminer le taux d'Azote de l'huile de gingembre et de s'assurer que cette dernière répond aux exigences de la monographie.

Matériels :

- ✓ Ballon a distillé de 500ml Kjeldahl,
- ✓ Réfrigérant,
- ✓ Thermomètre,
- ✓ Billes de verres,
- ✓ Source de chaleur,
- ✓ Erlen-mayer de 250ml.

Réactifs :

- ✓ Sulfate de Potassium,
- ✓ Sulfate de Cuivre R,
- ✓ Acide Sulfurique R,
- ✓ Eau distillée,
- ✓ Hydroxyde de Sodium 10N,
- ✓ Zinc granulé,
- ✓ Acide Borique,
- ✓ Indicateur mixte (rouge de Méthyle-bleu de Méthylène).

Mode opératoire :

Placer une prise d'essais dans un ballon de 500ml, ajouter 10g de Sulfate de Potassium 0,5g de Sulfate de Cuivre, 20ml d'Acide sulfurique R.

Placer le ballon incliné à 45°, chauffer légèrement à faible température jusqu'à élimination des vapeurs de l'Acide sulfurique, augmenter la chaleur jusqu'à l'ébullition immédiate du mélange et continuer à chauffer jusqu'à l'obtention d'une couleur verte claire ou incolore pendant 30min, laisser refroidir de façon a le garder tiède pour qu'il ne se solidifie pas.

Ajouter 150ml d'eau, bien mélanger et laisser refroidir à température ambiante. Ajouter 150ml d'Hydroxyde de Sodium a 40%(10N),et quelques morceaux de Zinc, relier le ballon au moyen d'une boule de connection Kjeldahl au condensateur avec le tube de distribution qui est plongé dans 50ml d'Acide borique (1/25)N puis distiller le mélange jusqu'au 2/3.

Récupérer le distillat, ajouter 3 gouttes d'indicateur mixte.

Titrer avec l'Acide sulfurique 0,1N jusqu'au virage de vert au violet. Exécuter un titrage à blanc en parallèle.

1ml d'Acide sulfurique correspond à 0,001401g d'Azote.

CALCUL

$$N\ \% = \frac{V_{H2SO4} * Eq * 100 * 100 * f_{H2SO4}}{Masse * (100- humidité)}$$

f_{H2SO4} : facteur de correction de la normalité

PROTEINE :

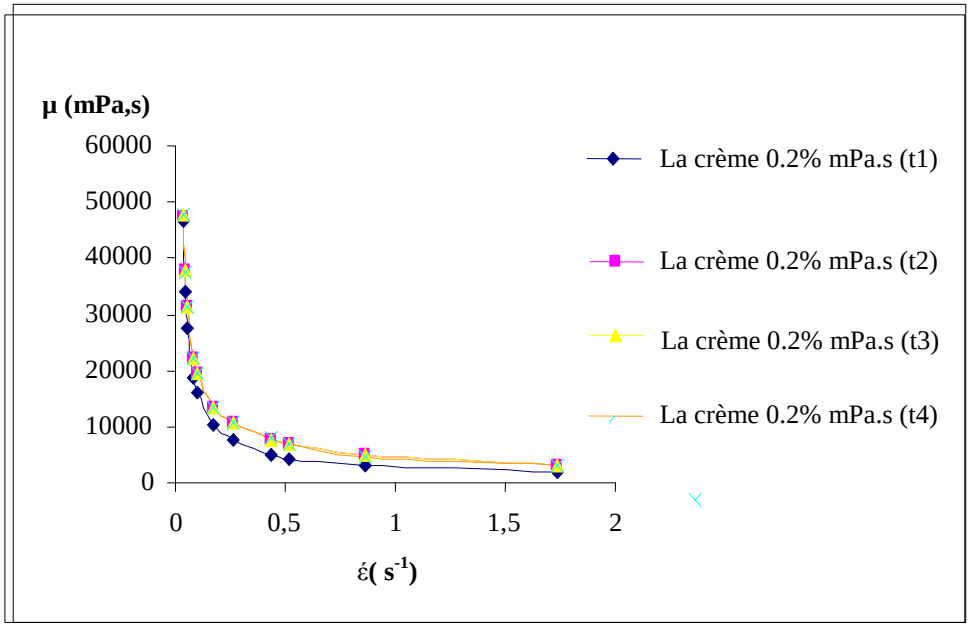
D'après la pharmacopée Européenne, on calcule le pourcentage de protéine comme suit :

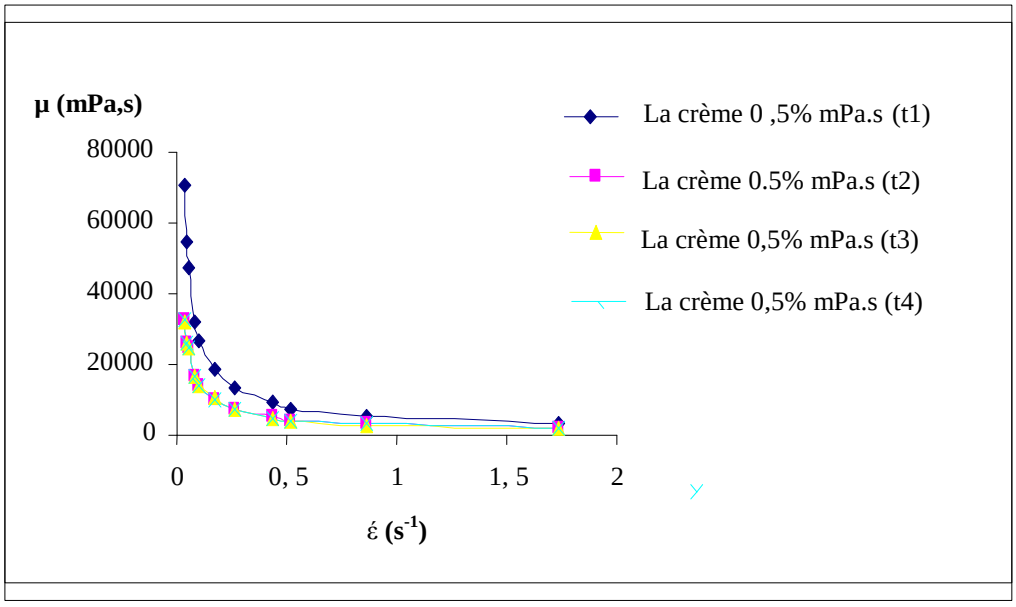
Protéine % = azote totale * 6,25

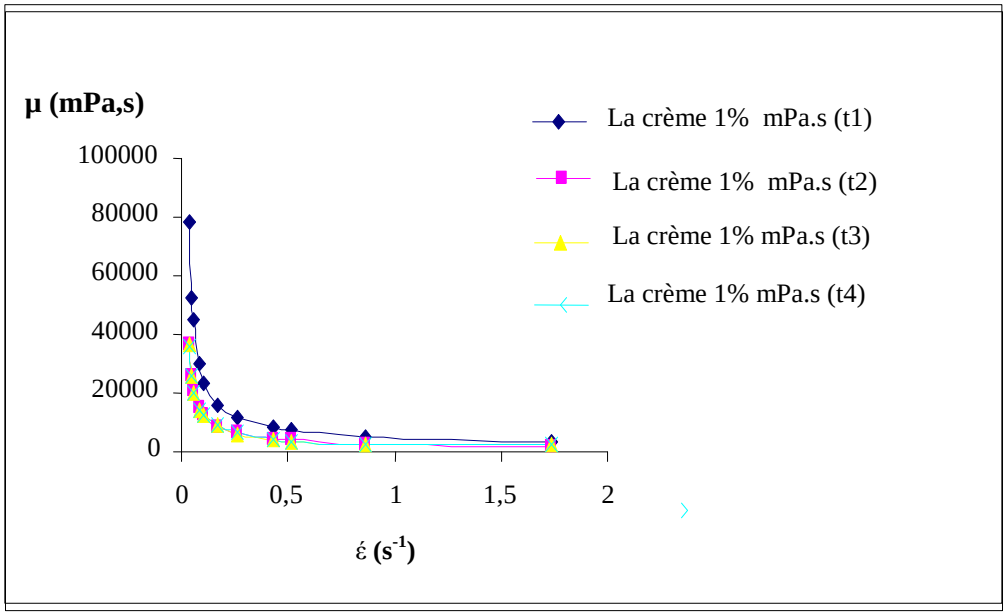
6,25 : facteur de conversion exprime le pourcentage de la protéine

Annexe IV

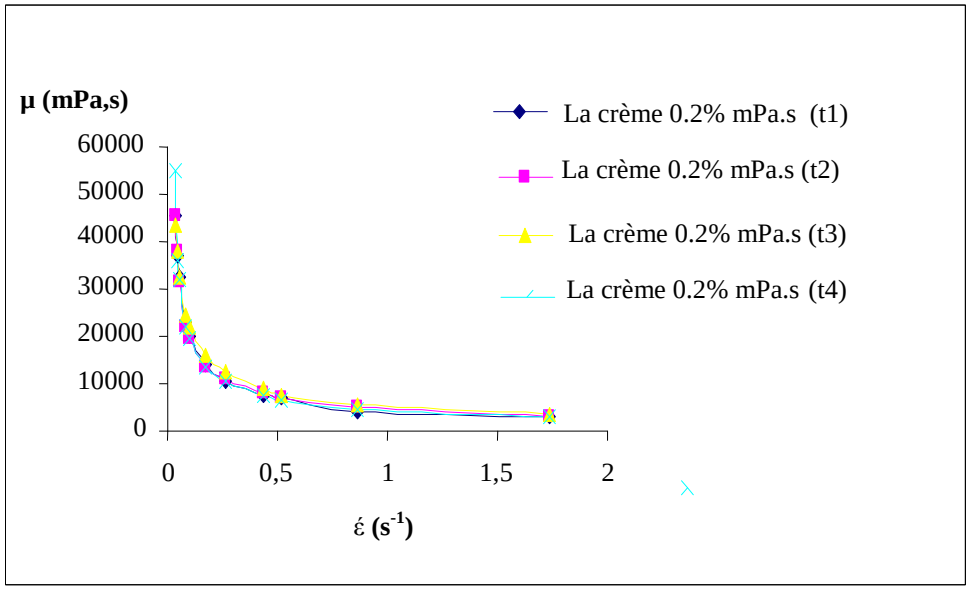
La viscosité à T=4°C

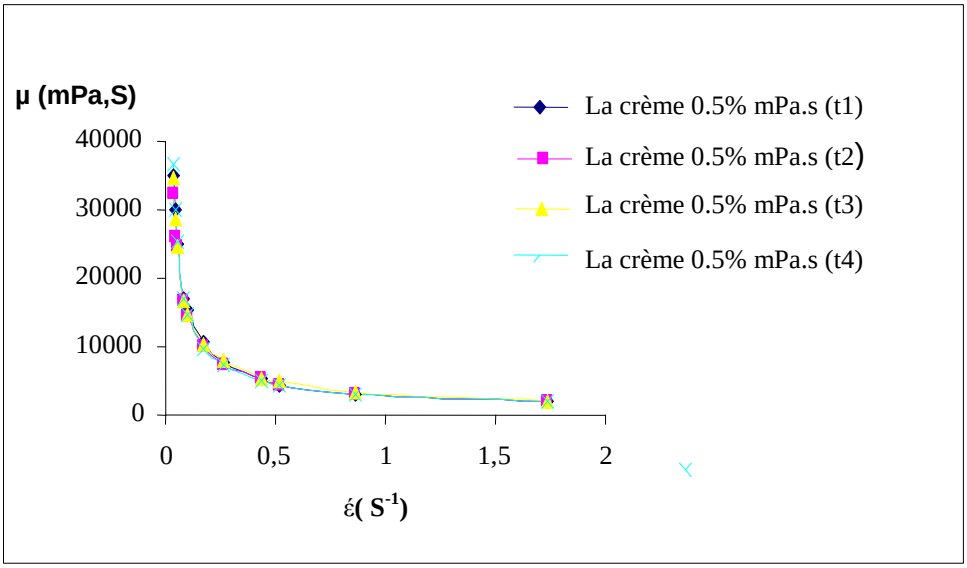


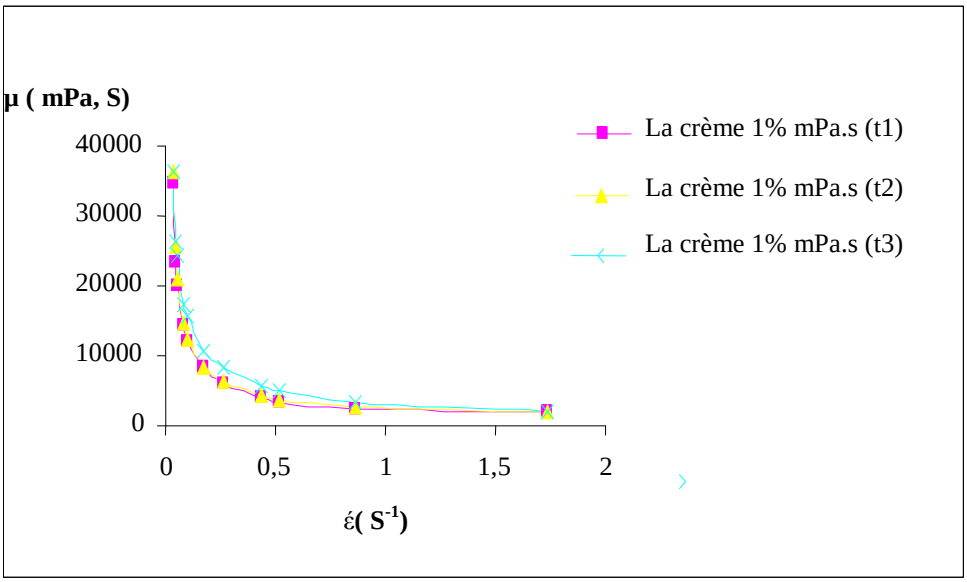




La viscosité à T=25°C




μ (mPa,S)
40000
30000
20000
10000
0
0
0,5
1
1,5
2
ε(S-1)
La crème 0.5% mPa.s (t1)
La crème 0.5% mPa.s (t2)
La crème 0.5% mPa.s (t3)
La crème 0.5% mPa.s (t4)


μ (mPa, S)
40000
30000
20000
10000
0
0
0,5
1
1,5
2
ε(S-1)
La crème 1% mPa.s (t1)
La crème 1% mPa.s (t2)
La crème 1% mPa.s (t3)

Référence

[1]http://en.wikipedia.org/wiki/Gastropoda date de dernière consultation le 05/04/2012

[2] Roux, J.B. La coquille des mollusques. (2005). http://hypo.gedip.etatge.ch/www/math/html/node66.html .date de dernière consultation le 24/01/2010.

[3]http://www.symbiose-nc.com/res_pedago/res_svt/reslyc/images/anatomie.gif&imgrefurl,date de dernière consultation le 24/01/2010.

[4] Stiévenart C Hardouin " manuel d'élevage d'escargot géants africains sous les tropiques" 1990, http://www.pefac.net/pdf/277, Date de dernière consultation le 24/01/2010.

[5]LORVELEC O, DAGUZAN J. "Contribution à l'étude de l'hibernation de l'escargot Petit-Gris (*Helix aspersa* Müller) en conditions expérimentales contrôlées et à différentes époques de l'année." 7e Congrès de la Société Française de Malacologie & Symposium International sur la Biologie appliquée à la conche culture et à l'Héliciculture. Rennes ,1987.

[6]http://www.gireaud.net/escargot_anatomie.htm, Date de dernière consultation le 24/01/2010.

[7]http://65.55.72.167/att/GetAttachment.aspx?file=d8713b5d-a2b8-460e-b2a7-392005feff39.htm .date de dernière consultation le24/01/2010.

[8] Fournie J, Neauport C, Bizet C, Chetail M. "Importance de la capture du calcium au niveau de la sole pédieuse chez Hélix aspersa"1987.

[9] http://www.gireaud.net/heliciculture.htm#elevage.Date de dernière consultation le 02/04/2010.

[10]http://www.gireaud.net/hibernation.htm.Date de dernière consultation le 24/01/2010

[11] Daguzan J, "Contribution a` l'élevage de l'escargot petit-gris Helix aspersa Muller". 1982.

http://ecobio.univ-rennes1.fr/Fiches_perso/Banque/publi5_LMadec.pdf,date de dernière consultation le2424/01/2010.

[12] http://www.gireaud.net/reproduction.htm. Date de dernière consultation le2424/01/2010

[13] http://www.gireaud.net/reproduction.htm. Date de dernière consultation le2424/01/2010

[14] Crêpes S, Manfred L. Karnovsky″L'isolement et la caractérisation d'un mucopolysaccharides sécrétée par l'escargot otezza zactea″ 1967.

[15]Bonnemain B, "Hélices et médicaments: l'escargot au service de la santé depuis l'Antiquité jusqu'à nos jours.", revue historique de la pharmacie, volume 91 : p [211-218].2003,

[16]Williams A.P.″The Chemical Composition of Snail Gelatin, the biochemical journal,volume 74,N° 3,p [304-307],1960.

[17]NamaniN, Adikwu M. “Rheological Studies on Snail Mucin ,Department of Pharmaceutics, Faculty of Pharmaceutical Sciences, University of Nigeria, Nsukka 410001. Nigeria ,Journal of Pharmaceutical Research Vol. 4, No. 4, October 2005: 80-84

[18] Randy H. et al ″Rheological fingerprinting of gastropod pedal mucus and synthetic complex fluids for biomimicking adhesive locomotion ″ journal of Royal Society of Chemistry p [634,635] 2007.

[19] Spellerberg I.F, monitoring ecological chage , second edition , Cambridge 2005

[20] Edwards, C.A., Subler, S., Chen, S.K., Bogomolov, D.M., ″Essential criteria for selecting bio indicator species, processes, or systems to assess the environmental impact of chemicals on soil ecosystems″, Amsterdam, The Netherlands, p. [67-84]. 1996.

[21] Hopkin, S.P. ″In situ biological monitoring of pollution in terrestrial and aquatic ecosystems.″ In: Calow P (Ed). Handbook of ecotoxicology. Blackwell, Oxford, p [397- 427], 1993.

[22] Berger, B, Dallinger, R. ″Teffestrial snails as quantitative indicators of environmental metal pollution.″Environmnental Monitoring Assessment 25, p [65-84],1993.

[23] Cortet, J., Gomot-de Vaufleury, A., Poinsot-Balaguer, N., Gomot, L., Texier, C., Ciuzeau, D. ″ the use of invertebrate soil fauna in monitoring pollutant effects ″Européen Journal of SoilBiology, Volume 35, Number 3, July 1999 , pp. 115-134(20)

[24] Fréderic G: ″cinétiques de transfert de polluants métalliques du sol à l’escargot″ ; thèse doctorat université de franche comté p [5-13].2006

[25] Gomot, L. et Deray, A., ″ Les escargots.″ La Recherche 186, p [302-3 11]. 1987

[26] Scheifler, R., Gomot-de Vaufleury, A., Badot, P.M., ″Transfer of cadmium from plant leaves and vegetable four to the snail Helix aspersa: bioaccumulation and effects. Ecotoxicology and Environrnental″ Safety 53.P [148-153]2002

[27] Chapman, P.M., Wang, F., Janssen, C.R., Goulet, R.R., Kamunde, C.N., ″Conducting ecological risk assessments of inorganic metals and metalloids: current statu″. Human and Ecological RiskAssessment 9, p [641-697]. 2003

[28] Chabicovsky, M., Niederstitter, H., Thaler, R., H5dl, E., Parson, W., Rossmanith, W. Dallinger, R., ″Localization and quantification of Cd- and Cu-specific metallothionein isoform mRNA in celis and organs of the terrestrial gastropod f-Jeux pomatia. Toxicology and Applied Pharmacology 190, p [25-36]. 2003

[29]Gomot, A. et Pihan, F., ″ Comparison of the bioaccumulation capacities of copper and zinc in two snail subspecies (Helix).″ Ecotoxicology and Environmental Safety, 38, p [85-94]. 1997

[30] Cooke, M, Jackson, A, Nickless, G., Roberts, D.J., ″Distribution and speciation of cadmium in the terrestrial snail Helix aspersa.″ Bulletin of Environinental Contamination and Toxicology 23, p [445-451].1979.

[31] Beeby, A, Richmond, L, ″Evaluating Helix aspersa as a sentinel for mapping metal pollution″.Ecological Indicators, p [261-270].2002.

[32]http://www.webmarchand.com/a/liste_produit/idx/10000365/mot/Creme_a_base_de_bave_descargot/liste_produit.htm, date de consultation le 26/01/2010

[33]http://www.beauteetdietes.com/theproducts.cfm?cat=6&master=7466&owner=925

Date de consultation le 26/01/2010

[34]http://www.bodyesthetic.com/pdf/snail_explicativo_ingles.pdf,datede consultation le 26/01/2010

[35]http://fr.wikipedia.org/wiki/Ride, date de consultation le 26/01/2010

[36]http://www.vulgarismedical.com/encyclopedie/cicatrisation-1087.html , date de consultation le 26/01/2010

[37] Thomas de Cantimpré. Liber de IV aturaRerum 9:45. New York. 1973,

[38] Julien P, Charroppin P. L'escargot contre la hernie, Rev Hist Pharm, p [258:259]. 1983.

[39] Figuier O. ″La Composition Chimique des Escargots et sur les Préparations Pharmaceutiques dont ils sont la Base.″ F. Gelly, Montpellier, 1840

[40] Baron Bar heleiny M. ″les Préparations à Base d'Hélicine Admises à l'Exposition Universelle de 1855. Sirop et Bonbons Héliciés″. De Bailly, Divry et Cie, Paris, 1855.

[41]Quevauviller A, Mainil J, Garcet S. Le mucus *d'Hélix* pomatia. Préparation, composition, propriétés thérapeutiques et pharmacodynamiques. Rev Pathol Gen Comp ,p[14:38],1953.

[42] Pons F, Koenig M, Michelot R et al. ″L'effet bronchorelaxant de l'hélicidine, un extrait d'Hélix pomatia, fait intervenir une libération de prostaglandine E2. Pathol Biol;p [47:73 80] 1999.

[43] Dwek MV, Ross HA, Streets AJ et al. ″Helix pomatia aggiutinin lectin binding oligosaccharides of aggressive breast cancer″ .Intjpurnal Cancer,2001, p[95:9-85].

[44]LanzmanPetitthory D. ″Alpha linolenic acid and cardiovascular diseases.″.1 Nutr Health Aging p [79 83] 2001

[45]Webster L, Henderson R, Katz N, Ellis D. ″Characterization of confusion, an adverse event associated with intrathecalziconotide infusion in chronic pain patients″. Pain Mcd2 p [25,34] 2001

[46] Massilia G, Schinina ME Ascenzi P et al. ″Contryphan Vn: a novel peptide from the venom of Mediterranean snail Conusventricosus.″Bio chem. Biophys Res Commun 288: 2001

[47]http://www.teteamodeler.com/sante/soleil/vichy/imagevy/peau4.jpg&imgrefurl date de dernière consultation le 24/04/2010

[48] Prost-Squarcioni C, Heller M, Fraitag S. Histologie et histophysiologie de la peau et de ses annexes**.** Ann DermatolVenereol 2005.

[49] Marty J.P, Bucks D.A, Maibach H.I, percutaneous penetration as method of delivery to muscle and ether tissue New York.1993

[50] Paulsen B.J, Diffusion of drugs from topical Vehicles: an analysis of vehicle effects. Adv, Biol Skin 12, 495-509, 1972

[51] Monique Seiller, Marie Claude Martini, formes pharmaceutiques pour application locale Lavoisier paris cedex.

[52] Rachid Denine cours de pharmacie galénique office des publications universitaires, place centrale de Ben Aknoun Alger, 2008.

[53] Handjani R.M, Rondot B, l'utilisation des diagrammes d'équilibres de phase pour l'étude et la formulation, Lavoisier Ed, Paris, 1983, p [195 :217].

[54] Sagor J contrôle et conditionnement des émulsions dans la galénique, agents de surface et émulsion volume 5, édition Lavoisier technique et documentation paris1983.

[55] Coldman MF et al , Enhancement of percutaneous absorption by the use of volatile and non volatile systems as vehicles, journal pharmaceutical,2009 .

[56] Anonyme 'pureté microbiologique des préparations pharmaceutiques' 1992.

[57] Henri Leclerc, Michel Simont et Jean Louis Gaillard, ''Microbiologie générale, la bactérie et le monde bactérie, Editeur : Doin édition, France ,1999

[58] Dubreuil G et Canivenc R, ''Manuel théorique et pratiques d'histologie, vigot frères, éditeurs, paris, 1967.

[59] Cava E, Diebold J, Cytopathologie pratique, édition vogot, paris, 1998.

[60] Alfred Gottschalk," Glycoproteins: Their Composition, Structure and Function" , Partie 2, Volume 5of *B.B.A.* library, 1972.

[61] Jessica L , Antibacterial Properties in Helix aspersa ,Biology Department, Skyline College, San Bruno CA

[62]Raymond C Rowe,Paul J Skeskey and Sian C Owen, Handbook of pharmaceutical excipients, USA,2006.

[63]Benouniche N , éléments de cosmétologies, édition OPU,1989.

[64] SarfarazK.N, handbook of pharmaceutical manufacturing Formulations semi solid products, volume four ,second edition ,pharmaceutical scientist, inc, Deerfield ,USA,2009.