**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE**
**MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR**
**ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE**
**UNIVERSITE DE YAHIA FARES MEDEA**
**FACULTE DES SCIENCES**

# MEMOIRE DE MASTER

**En vue de l'obtention du Diplôme de**
**Master en Biologie**

**Département :** Science de la nature et de la vie

**Filière :** Biologie

**Spécialité :** Microbiologie appliquée

Study of wound healing antimicrobial and antiacne activity of snail saliva, propolis, clay, application of bio cream formulation

Présenté par :

**HADJADJ Rayane**

**OULD RAMOUL Wassila**

**HEMZEH Nawal**

**Devant les jurys**

| | | | |
|---|---|---|---|
| **Mr. KIRDI Bilal** | **MAA** | **Université de Médéa** | **Président** |
| **Mr. AZIZI Ahmed** | **MCA** | **Université de Laghouat** | **Examinateur** |
| **Mr. HAMOUDI Mounir** | **MAA** | **Université de Khemis miliana** | **Examinateur** |
| **Mr. OTMANINE Khaled** | **MAA** | **Université de Chlef** | **Promoteur** |
| **Mr. AINES Mahfoudh** | **MCB** | **Université de Médéa** | **co-Promoteur** |

**Année universitaire : 2020/2021**

# *Remerciements*

*En tout premier lieu, nous remercions le bon Dieu, tout puissant, qui nous a donné la capacité d'élaborer ce travail, nous a dirigé tout droit vers le bon chemin et nous a donné la volonté, la santé et la patience pour atteindre nos buts.*

*Nous remercions particulièrement notre promoteur Mr OTMANINE Khaled pour l'honneur qu'elle nous a fait en acceptant de diriger ce travail, pour sa disponibilité, sa compréhension, sa gentillesse et son soutien.*

*Nous tenon s'également à remercier les membres du jury, pour l'honneur qu'ils nous ont accordé, en acceptant de juger notre travail.*

*Le travail pratique est effectué au niveau du laboratoire « Physicochimique et microbiologie appliquée » du complexe d'antibiotique Saidal.*

*Nous adressons nos vifs remerciements à Mr zouambia Fouad qui nous a accompagnés tout au long de la réalisation de notre stage pratique, pour ses idées et sa précieuse aide sans oublier les efforts de Mr Noureddine également.*

*Nos remerciements les plus sincères vont également à tous les personnels du laboratoire de la gendarmerie INCC-GN Bouchaoui Alger*

*Nous remercions, également, tous les enseignants spécialement Mr MAZIGHI Walid pour ses conseils très judicieux et les améliorations qu'il a su nous suggérer et les personnes du Département de Biologie qui nous ont beaucoup aidé dans notre travail.*

*En fin, nous tenons à exprimer notre reconnaissance et nos remerciements à tous ceux qui ont contribué de prés ou de loin par leur soutien pour la réalisation de ce modeste travail.*

# Dédicace

*Tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude, l'amour, le respect, la reconnaissance, c'est tout simplement que : Je dédie cette thèse de Master a :*

***A Ma tendre Mère Hakima** : source inépuisable de tendresse, de patience et de sacrifice. Ta prière et ta Bénédiction m'ont été d'un grand secours tout au long de ma vie.*

*Quoique je puisse dire et écrire, je ne pourrais exprimer mon amour, ma grande affection et ma profonde reconnaissance puisse Dieu tout-puissant, te préserve et t'accorder santé, longue vie et bonheur*

***A Mon très cher Père Abderrahmane** : Aucune dédicace ne saurait exprimer mon profond amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours pour vous. Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être. Ce travail et le fruit de tes sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et ma formation le long de ces années.*

*Puisse Dieu vous préserver et vous procurer santé et bonheur*

***A mon très cher mari Sofiane** :*

Aucune dédicace ne pourrait exprimer mon amour et mon attachement à toi tu as partagé avec moi les meilleurs moments de ma vie, aux moments les plus difficiles de ma vie,

Tu étais toujours à mes côtés je te remercie de m'avoir jamais déçu, aucun mot ne pourrait exprimer ma gratitude, mon amour et mon respect

Je remercie le bon Dieu qui a croisé nos chemins, puisse le bon Dieu nous procurent santé et longue de vie.

***A mes chers frères** : Riadh et Akram.*

***A mes chères sœurs** : Amel, Sihem.*

***A mes chers** beaux-parents.*

*A mes beaux-frères et ma belle-sœur.*

***A monsieur Otmanine.***

***A tous les membres de ma promotion**.*

*A tous mes enseignants depuis mes premières années d'études.*

*A tous ceux qui me sens chers et que j'ai omis de citer.*

*WASSILA*

# *Dédicace*

*Je dédie ce travail en signe de respect et de reconnaissance :*
*A celle qui a tout donné, tout sacrifié, à la femme qui règne*
*Sur mon cœur, "Ma Mère Hafida".*

*A celui qui m'a toujours dirigé, guidé, aidé et encouragé afin de me Voir affronter la vie avec sérénité et courage, à l'homme qui a toujours Souhaité me voir à la hauteur, "Mon Père Riadh".*

*A mes frères « Ismail, Mouhamed, Zaki » et ma sœur « Rania ».*
*A tout nombre de ma famille paternelle et maternelle grand et petit*

*A mes chères amies proches d'Annaba Rayane, Nour, Meyssa*
*A mes chères amies proches de Médéa Wiam, Ines, Assia*
*Et à tous mes amis.*

*A la fin, je dédie très chaleureusement ce travail à*
*Mon trinôme Wassila et Nawel*

*Rayane*

# Dédicace

*A l'aide d'ALLAH tout puissant, qui m'a tracé le chemin de ma vie, j'ai pu réaliser ce travail que je dédie :*

*A Ma Très Chère Mère MESSOUDA : Je te remercie pour toutes les nuits dans lesquelles tu restais réveillée pour prendre Soin de moi Tu es mon soutien dans les moments difficiles Merci pour ton sourire qui est la lanterne qui éclaire mon chemin, pour tous les moments de bonheur que tu m'apporte quel que soit le terme et quel que soit L'expression, rien ne pourra exprimer mon amour telle que mon cœur le ressent, que dieu te garde et te protège.*

*A Mon Très Cher Père SAAD ALLAH : Je vois en toi le courage l'amour et toutes les qualités requises chez un père …Tu es mon soutien dans les moments difficiles, et la source intarissable de mon inspiration J'espère que tu trouveras dans ce travail toute ma reconnaissance et tout mon amour. Que dieu vous garde et protège.*

*Je dédie également à tous ceux qui m'aiment et spécialement A ma sœur LINDA ; Et mon chère frère HAMZEH*

*A toute ma famille HAMZEH ET BERKANI sans exception.*

*A mon encadreur MR OTHMANIN qui mérite tous mon respect et tribut*

*Pour mes chéries amies : rayan et leur travaille dans ce projet fin d'étude et a mes chéries wiam, ines, assia*

*NAWEL*

## Résumé

La valorisation et la caractérisation des gastropodes ont suscité un intérêt général et devenu un sujet très pertinent d'actualité, parmi lesquelles les escargots, la plus enceins connue dans le traitement de différentes maladies. La propolis et ses extraits ont été largement utilisés dans la dermatologie et le cosmétique ses effets sur la régénération et la rénovation des tissus ont été bien étudiés. Avec ses caractéristiques bactéricides et fongicides, et L'argile sont des ingrédients d'origine minérale, aux propriétés naturellement purifiantes, apaisantes et adoucissantes. Elles sont fréquemment utilisées dans des masques ou des cataplasmes pour les soins du visage et du corps.

Elles offrent de nombreux bénéfices dans diverses applications avec le développement de la science, son utilisation a été démontrée dans de nombreux domaines, tels que les cosmétiques et les médicaments, grâce à leur richesse en principe actif.

Cette étude portait sur la formulation de crème dermique, à partir de la bave d'escargot, la propolis et l'argile, plusieurs tests microbiologique et physico chimique et biologique ont été appliquer afin de prouver leur efficacité. Pour la crème elle était soumise au test de tolérance cutanée après application sur la peau du lapin, elle n'est pas irritante pour la peau. Parmi les tests de contrôle de qualité et d'évaluation de l'efficacité thérapeutiques à travers son application sur les plaies de lapin, nous en avons conclu que la crème était une thérapeutique spéciale et efficace dans la cicatrisation des plaies et anti-inflammatoire selon le résultat de notre test inflammatoire.



**Mots-clés :** escargot, propolis, crème, cicatrisation des plaies, acné, argile.

## Abstract

The valuation and characterization of gastropods have aroused general interest and become a very relevant topical subject, among which snails, the most pregnant known in the treatment of various diseases. Propolis and its extracts have been widely used in dermatology and cosmetics, its effects on tissue regeneration and renovation have been well studied. With its bactericidal and fungicidal characteristics, and Clay are ingredients of mineral origin, with naturally purifying, soothing and softening properties. They are frequently used in masks or poultices for face and body care.

They offer many benefits in various applications with the development of science, its use has been demonstrated in many fields, such as cosmetics and drugs, thanks to their richness in active principle.

This study focused on the formulation of dermal cream, from snail slime, propolis and clay, several microbiological and physicochemical and biological tests were applied in order to prove their effectiveness. for the cream was subjected to the skin tolerance test after application to the skin of the rabbit, it is not irritating to the skin. Among the quality control tests and evaluation of therapeutic efficacy through its application on rabbit wounds, we concluded that the cream was a special and effective therapy in wound healing and anti-inflammatory according to the result of our inflammatory test.

**Keywords:** snail, propolis, cream, wound healing, acne, clay.

**ملخص**

في الآونة الأخيرة ظهر اهتمام عالمي واسع بخصائص و مميزات القواقع , بفضل قيمتها و فوائدها , و أصبح هذا الموضوع له اهتمام كبير، و من بين هذه القواقع الحلزون , المستعمل على نطاق عالمي واسع و المعروف منذ القدم في علاج مختلف الأمراض. و مع تطور العلم ظهر استعماله في عدة مجالات كمستحضرات التجميل و الأدوية و ذلك بفضل لعابه لما يحتويه من ثروة غنية بمكونات فعالة وقد تمت دراسة تأثيره على تجديد الأنسجة وتجديدها. بفضل خصائصه المبيدة للجراثيم والفطريات، يعتبر الطين مكونات من أصل معدني ، مع خصائص تنقية وتلطيف وتليين بشكل طبيعي. كثيرا ما تستخدم في الأقنعة أو الكمادات للعناية بالوجه والجسم.

ركزت هذه الدراسة على صناعة كريم بيو موضعي جلدي من لعاب الحلزون والعكبر والصلصال، حيث استخدمت العديد من الاختبارات المكروبيولوجية والفيزيائية والكيميائية والبيولوجية لإثبات فعالية الكريم. بما فيها اخضاع البيو الكريم لاختبار تحمل الجلد بعد وضعه على جلد الأرنب حيث أثبتنا أنه لا يسبب تهيجا للجلد واختبارات مراقبة وتقييم الفعالية العلاجية من خلال تطبيقه على جروح الأرانب، خلصنا الى أن الكريم كان علاجًا جيدا وفعالًا في التئام الجروح مقارنة مع المستحضر الصيدلاني ماديكاسول، ومضادًا للالتهابات وفقًا لنتيجة اختبار التأثير المضاد للالتهاب المطبق على جرذان التجارب.

**الكلمات المفتاحية**: الحلزون، العكبر، البيو كريم، التئام الجروح، حب الشباب، الصلصال.

# LISTE DES FIGURES


| N° | Titre | Page |
|---|---|---|
| **Figure 1** | Escargot Helix aspersa | **5** |
| **Figure 2** | Forme sénestre (à gauche) et dextre (à droite) du Petit-Gris | **8** |
| **Figure 3** | Les deux paires de tentacules d'un escargot | **10** |
| **Figure 4** | Schéma en coupe de l'anatomie d'un escargot | **11** |
| **Figure 5** | Orifice respiratoire chez l'escargot | **11** |
| **Figure 6** | Ondes de contraction sur la face ventrale des pieds d'escargots | **12** |
| **Figure 7** | Structure de la peau | **15** |
| **Figure 8** | Les principales cibles de l'acné (schéma) | **19** |
| **Figure 9** | Acné à prédominance rétentionnelle | **20** |
| **Figure 10** | Acné à prédominance inflammatoire | **20** |
| **Figure 11** | Acné sévère | **20** |
| **Figure 12** | Acné du jeune enfant | **21** |
| **Figure 13** | Les abeilles produisent l'entrée de la ruche par la propolis | **22** |
| **Figure 14** | Récolte de la propolis par raclage et grattage | **25** |
| **Figure 15** | Récolte de la propolis par des grilles | **25** |
| **Figure 16** | Composition moyenne de la propolis a l'état brute | **27** |
| **Figure 17** | Formule chimique de l'acide Caféique | **30** |
| **Figure 18** | Les flavonoïdes identifiés dans la propolis | **31** |
| **Figure 19** | Formule chimique de la Pinocembrine | **32** |
| **Figure 20** | Photo origine de propolis | **33** |
| **Figure 21** | Représentation schématique de l'empilement des feuillets unitaire dans une argile (cas d'une smectite). | **36** |
| **Figure 22** | Représentation des tétraèdres et des octaèdres | **37** |
| **Figure 23** | Représentation des empilements de tétraèdres siliceux et d'octaèdres alumineux d'un minéral de type TO | **39** |
| **Figure 24** | Représentation schématique des empilements de tétraèdres Siliceux et d'octaèdres alumineux d'un minéral de type TOT | **39** |
| **Figure 25** | Représentation des empilements de tétraèdres siliceux et d'octaèdre alumineux d'un minéral de type TOTO | **40** |

| | | |
|---|---|---|
| **Figure 26** | Images représentatives prises par microscopie optique de monocouches de fibroblastes non traités ou traités à l'HelixComplex ou à l'acide glycolique (0,1 mM) à 48 heures. Grossissement 100x | **45** |
| **Figure 27** | L'évaluation de la prolifération cellulaire | **46** |
| **Figure 28** | HelixComplex favorise la migration cellulaire et la réparation des plaies. Suivi dynamique des fibroblastes, migration en réponse au traitement HelixComplex (400 µg/ml) par xCELLigence et scratch assays | **48** |
| **Figure 29** | La bave d'escargot stimule la régénération et la cicatrisation | **49** |
| **Figure 30** | Lapin de race local **(Médéa original, 2021)** | **65** |
| **Figure 31** | Méthode de récupération par picage. (**Original de Médéa, 2021)** | **67** |
| **Figure 32** | Réalisation de l'antibiogramme laboratoire microbiologie SAIDAL, Médéa. | **73** |
| **Figure 33** | Réduction du radical libre DPPH en DPPHH | **74** |
| **Figure 34** | Préparation de DPPH. (Laboratoire de physico-chimique, SAIDAL MEDEA) | **74** |
| **Figure 35** | Schéma de montage d'un appareil GC/MS | **76** |
| **Figure 36** | Appareil GC-MS laboratoire INCC-GN Bouchaoui, Alger | **78** |
| **Figure 37** | La mesure des pattes des souris à l'aide d'un pied à coulisse**. (Original de medea,2021)** | **90** |
| **Figure 38** | La bave récupérer avant le séchage | **92** |
| **Figure 39** | La bave récupérer après le séchage | **92** |
| **Figure 40** | Variation du taux d'humidité en fonction du temps | **93** |
| **Figure 41** | Poudre de la bave d'escargot **(Original medea saidal, 2021)** | **94** |
| **Figure 42** | Zone d'inhibition par l'extrait de propolis sur Staphylocoques aureus | **96** |
| **Figure 43** | Zone d'inhibition de l'extrait de propolis sur Bacillus subtilis | **97** |
| **Figure 44** | Zone d'inhibition de l'extrait de propolis sur Escherichia coli | **97** |
| **Figure 45** | Zone d'inhibition de l'extrait de propolis sur Pseudomonas aeruginosa | **98** |
| **Figure 46** | Les étapes d'activité antioxydant par DPPH | **99** |
| **Figure 47** | Pouvoir antioxydant d'extrait de propolis | **99** |
| **Figure 48** | GCMS d'extrait de propolis par macération | **101** |
| **Figure 49** | GCMS d'extrait de propolis. Deux légendes représentent les deux molécules molécules Galangine, Pinostrobine | **102** |

| | | |
|---|---|---|
| **Figure 50** | GCMS d'extrait de propolis. Deux légendes représentent les deux molécules Acide férulique Acide iso-férulique | **102** |
| **Figure 51** | GCMS d'extrait de propolis. Une légende représente la molécule acide 3,4 -dimethoxynamique | **103** |
| **Figure 52** | GCMS d'extrait de propolis. Une légende représente la molécule d'Acide caféique | **103** |
| **Figure 53** | Spectre de masse de l'acide caféique dont le temps de rétention 14.861 mn | **104** |
| **Figure 54** | Spectre de masse d'acide férulique dont le temps de rétention 29,529 mn | **105** |
| **Figure 55** | Spectre de masse de pinocembrine dont le temps de rétention 29,361 mn | **106** |
| **Figure 56** | Spectre de masse de pinostrobine dont le temps de rétention 23,285 mn | **107** |
| **Figure 57** | La dispersion des globules d'huiles dans l'émulsion sous microscope*10 | **110** |
| **Figure 58** | Graphe qui montre l'évolution des épaisseurs des pattes, pour les 6 lots | **112** |
| **Figure 59** | Resultat test irritation cutanée après 72h | **117** |

# LISTE DES TABLEAUX


| N° | Titre | Page |
|---|---|---|
| **Tableau 1** | Composition chimique et microbiologique de la bave d'escargot | **14** |
| **Tableau 2** | Structure chimique de la barrière épidermique | **16** |
| **Tableau 3** | Les composants essentiels de la propolis purifié | **28** |
| **Tableau 4** | Classification des minéraux argileux selon la proportion et la composition des couches T et O | **38** |
| **Tableau 5** | Souches utilisées pour l'étude du pouvoir antimicrobien (Groupe SAIDAL Médéa) | **65** |
| **Tableau 6** | Les réactifs utilisé (Saidal Medea, 2021) | **66** |
| **Tableau 7** | Les souches utilisées | **71** |
| **Tableau 8** | Caractéristiques des excipients utilisés (Médéa original Saidal, 2021) | **81** |
| **Tableau 9** | Les lectures consistent à apprécier l'érythème et l'œdème selon l'échelle numérique | **88** |
| **Tableau 10** | Caractères organoleptiques **(Original medea Saidal, 2021)** | **94** |
| **Tableau 11** | Les résultats des indices d'ester, acide et saponification. **(Original medea Saidal ,2021)** | **95** |
| **Tableau 12** | Poudre de la bave d'escargot | **95** |
| **Tableau 13** | Diamètres d'inhibitions des souches par l'extrait de propolis | **98** |
| **Tableau 14** | Calcule de "IC50" | **100** |
| **Tableau 15** | Tableau d'essai de formulation | **109** |
| **Tableau 16** | Les résultats de la stabilité de notre formule dans la centrifugeuse | **111** |
| **Tableau 17** | Tableau représente la différence entre lapin traité par medicasol et notre crème | **113** |
| **Tableau 18** | L'effet cicatrisant sur lapin traité par medicasol et notre crème | **115** |
| **Tableau 19** | Tableau représente la différence entre lapin traité par notre crème et lapin non traité | **115** |
| **Tableau 20** | Comparaison entre notre crème et le témoin non traité | **117** |
| **Tableau 21** | Resultat test irritation cutanée après 72h | **118** |

# Contents

Introduction ..... 2

I.1 Helix Aspersa ..... 5

I.1.1 Définition ..... 5

I.1.2 Historique ..... 6

I.1.3 Classification ..... 6

I.1.4 Helix Aspersa Müller (Petit-Gris) -Distribution géographique ..... 7

I.1.5 Description morphologique ..... 7

I.1.6 Description anatomique ..... 10

I.1.7 Déplacement ..... 12

I.1.8 Composition de la bave d'escargot ..... 13

I.1.9 Généralités sur la peau et l'épidémiologie de l'acné ..... 14

Introduction ..... 14

I.1.9.1 La peau ..... 15

I.1.9.2 Composition chimique de la peau ..... 16

I.1.9.3 Le pH de la peau ..... 16

I.1.9.4 Les trois types de plaies ..... 17

I.1.9.5 Phénomènes de cicatrisation de la peau ..... 17

I.1.10 Épidémiologie ..... 18

I.1.10.1 Facteurs étiopathogéniques ..... 18

I.2 Propolis ..... 22

I.2.1 Histoire de la propolis ..... 22

I.2.2 Récolte de la propolis ..... 23

I.2.2.1 Récolte de la propolis par les abeilles ..... 23

I.2.2.2 Récolte de la propolis par l'homme ..... 24

I.2.2.3 Origine de la propolis ..... 25

I.2.3 Conservation de la propolis ..... 32

I.3 L'Origine d'Argile ..... 33
I.3.1 L'héritage ..... 33
I.3.2 La transformation ..... 33
I.3.3 La néoformation ..... 34
I.3.4 Formation des argiles ..... 34
I.3.5 Structure minéralogique des agriles ..... 35
I.3.5.1 Minéraux argileux ..... 35
I.3.6 Classification des minéraux argileux ..... 37
I.3.7 Histoire de l'argile ..... 40
I.4 Conclusion ..... 42
Introduction ..... 44
II.1 Helix Aspersa ..... 44
II.1.2 le rôle de la bave d'escargot dans la prolifération cellulaire ..... 45
II.1.3 la bave d'escargot favorise la migration cellulaire et la réparation des plaies ..... 47
II.2 La propolis ..... 50
II.2.1 Cosmétique ..... 50
II.2.2 Médecine ..... 50
II.2.3 Technologie alimentaire ..... 51
II.2.4 Effet biologique ..... 51
II.2.4.1 Effet antibactérien ..... 51
II.3 L'argile ..... 55
II.3.1 Utilisation comme excipient ..... 55
II.3.2 Utilisation comme immuno-stimulant ..... 56
II.3.3 Utilisation comme purifiant intestinal ..... 56
II.3.4 Le mécanisme d'action des smectites agit sur différentes cibles ..... 56
II.3.5 Pour les peaux grasses et acnéiques ..... 62
Introduction ..... 65

III.1 Matériel....65
III.1.1 Matériel biologiques....65
III.1.1.1 Matériel animale....65
III.1.1.2 Animaux de test....65
III.1.2 Matériel microbiologique....66
III.1.3 Matériels non biologiques....67
III.1.3.1 Appareillages....67
III.1.3.2 Les Produits chimiques et réactifs....67
III.1.4 La méthode de récupération de la bave d'escargot....67
III.1.5 les tests physico-chimiques....68
III.1.5.1 Taux d'humidité....68
III.1.5.3 Détermination du rendement....68
III.1.6 Caractérisation de poudre de bave d'escargot....69
III.1.6.1 Analyse organoleptique....69
III.1.6.2 Analyse physique....69
III.1.6.3 Détermination du différent indice....70
III.2 Extraction de propolis....71
III.3 Antibiogramme par diffusion sur milieu gélosé....73
III.4 Spectrophotométrie d'absorption dans l'ultraviolet et le visible....76
III.5 Chromatographie en phase gazeuse- spectrométrie de masse GC-MS....77
III.5.1.1 Analyse GC-MS....77
III.6 Test contrôle qualité....80
III.7 Formulation de la crème....80
III.7.1 Généralité....80
III.7.2 Caractérisation des excipients d'utilisées....81
III.7.4 Contrôle de qualité des crèmes....85
III.7.5 Le contrôle macroscopique....85

III.7.6 Le contrôle microscopique ..... 85
III.7.5.3 Contrôle physique ..... 86
III.7.5.4 Détermination du pH ..... 86
III.7.6 Détermination des types d'émulsion ..... 86
III.7.7 Les essais de stabilité ..... 87
III.8 Les tests biologiques in vivo ..... 87
III.8.1 Activité cicatrisante ..... 87
III.8.2 Induction de la cicatrisation ..... 88
IV.1 Helix Aspersa ..... 93
IV.1.1 Le Rendement de la bave récupérée ..... 93
IV.1.2 Le taux d'humidité ..... 94
IV.1.3 Caractérisation organoleptiques de la bave d'escargot ..... 95
IV.1.4 Les paramètres physicochimiques ..... 96
IV.2 Propolis ..... 96
IV.2.1 Activité antibactérienne ..... 96
IV.2.2 Activité antioxydante ..... 99
IV.2.3 Les conditions opératoires ..... 101
IV.3 Argile ..... 108
IV.3.1 Résultat de test de métaux lourd ..... 108
IV.3.2 Formulation de la crème ..... 109
IV.4 La formulation ..... 109
IV.4.1 Contrôle de qualité de la crème formulée ..... 109
IV.4.1.1 Examen de la caractérisation macroscopique et microscopique ..... 109
IV.5 Discussion Générale ..... 119
Conclusion ..... 124
Référence Bibliographique ..... 127

# INTRODUCTION

## Introduction

Tout au long de l'histoire, les mollusques ont fourni une vaste gamme de ressources pour l'humanité, y compris nourritures, coquillages, teintures et médicaments**.** De nombreuses cultures, les gastéropodes à coquille sont considérés comme un objet délicat mais aussi comme aliment sain. Ils sont également sources d'une gamme de remède naturel traditionnel. **(D. G Heberta et al, 2003)**

L'espèce Helix Aspersa (petit Gris), qui ce sont des escargots de la famille des Helicidae**)** La sécrétion d'escargot, ou mucus d'escargot, est une substance muqueuse qui recouvre toute la surface externe de l'animal et est sécrétée par des glandes épidermiques salivaires particulières situées au niveau de la patte de l'escargot (glandes pédieuses). Le mucus a différentes fonctions pour la vie de l'animal, ayant des propriétés adhésives, émollientes, hydratantes, lubrifiantes, protectrices et même des propriétés réparatrices. **(Newar, J et al, 2015**) Pour soutenir toutes ces activités biologiques, le mucus d'escargot de Helix Aspersa Müller espèce a une composition complexe et encore mal caractérisée. **(Greistorfer, S. *et al,* 2017)** Les substances actives présentes dans ce mucus en font un produit naturel unique non reproductible en laboratoire avec des composés chimiques de synthèse.

Depuis l'Antiquité, les propriétés biologiques du mucus d'Helix Aspersa Müller ont été exploitées pour traiter des troubles humains notamment de la peau, par simple application de mucus rugueux. Plus récemment, l'utilisation d'Helix Le mucus d'Aspersa Müller s'est répandue dans le monde entier en tant que constituant de produits cosmétiques et il a été proposé pour la formulation de produits parapharmaceutiques pour la prise en charge des plaies. **(Tsoutsos, D et al, 2009)** et pour le traitement des bronchites. (**Pons, F et al, 1999)** Bien que l'énorme diffusion commerciale des produits à base de mucus Helix Aspersa Müller, une description de sa composition chimique et l'étude de ses caractéristiques biochimiques et biologiques spécifiques les effets ne sont soutenus que par peu de données scientifiques. **(Gomot.A, 1998)**

La propolis, ou « colle d'abeille », est l'un des produits de la ruche, autre que le miel bien connu des apiculteurs. La propolis a montré son efficacité contre une variété de bactéries, de virus, de champignons et de moisissures. Elle s'est même avéré être un immunostimulant non spécifique **(Castaldo et al., 2002)**

Dès l'Antiquité, la propolis était employée comme moyen thérapeutique contre les affections de la peau, les plaies et les suppurations. Égyptiens, Grecs, Romains, Mayas utilisaient les produits issus de la ruche à des fins préventives, curatives et alimentaires. La

propolis avait un rôle religieux dans l'Égypte ancienne (3200 à -1100 ans av JC), les Egyptiens utilisaient cette résine pour embaumer les morts, elle était réputée pour ses propriétés conservatrices et son arôme. On l'employait aisément lors de la momification **(Crane, 1999).** Les Grecs (700 à -600 ans av JC), ont observé que cette substance résineuse se situait à l'entrée de la ruche comme barrière de protection contre les prédateurs. **(Golder, 2004)**

Le terme argile trouve son origine dans le mot grec argilo dérivé d'Argos qui signifie blanc, puis sa traduction en latin : argile.

L'argile brute contient généralement des particules élémentaires dont le diamètre des grains est inférieur à 2 micromètres (2 Um) qui représente les individus cristallins (phase minérale pure) appelés minéraux argileux responsable de ses propriétés tel que le gonflement, la plasticité et les propriétés d'adsorption. Mais dans les sols, ces particules élémentaires sont en général liées entre elles par des ciments de nature très diverse (carbonates, composés organiques, composés minéraux amorphes ou oxydes et hydroxyde de fer et d'aluminium, quartz feldspaths) au sein d'agrégat de tailles beaucoup plus grandes**.**

La cicatrisation cutanée est un phénomène biologique très complexe, dynamique, qui se met en place après une blessure de manière à rétablir le plus rapidement possible l'intégrité et l'homéostasie de la peau. La fermeture correcte d'une lésion est possible grâce à la coopération entre de nombreux médiateurs solubles (facteurs de croissance et cytokines), la mise en jeu de différents types cellulaires (cellules inflammatoires, endothéliales, sanguines, épithéliales et immunitaires) et les interactions avec la matrice extracellulaire. 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. **(Z. Mammeri –Habibatni et al ,2014)**

L'objectif de ce travail consiste à la préparation d'une crème bio à base de la bave d'escargot, la propolis et l'argile.

# *Chapitre I*

# *Généralité sur les composants et la peau*

# I.1 Helix Aspersa

## I.1.1 Définition

Helix Aspersa **(Muller, 1774)**, appelé communément « petit gris » et décrit par le zoologue danois Otto Friedrich Müller en 1774, est une espèce d'escargot très répandue sur la façade méditerranéenne algérienne. Son aire de répartition éco-biogéographique s'étend surtout dans les pays méditerranéens de l'Europe, de l'Afrique du nord et du Moyen Orient. On le trouve aussi dans l'Amérique Latine, particulièrement en Chili et en Argentine et dans l'Afrique du sud. Il s'agit d'un escargot très éclectique, qui s'adapte à n'importe quelle condition climatique. De ce fait, il présente un grand polymorphisme dans la forme, dans la dimension et dans la coloration de la coquille. **(Avagnina, 2009)**

La coloration et le système de bandes de la coquille sont d'origine génétique mais le biotope a peut-être une action secondaire sur leur variation. **(Chevallier, 1977)**

Le Petit-Gris mesure entre 2,8 et 3,5 cm pour un poids adulte compris entre 7 et 15 g. Il porte une coquille calcaire, globuleuse, ventrue, très convexe en dessus, bien obliquement bombée en dessous à motifs variables mais le plus souvent brune rayée de noir (1 à 4 bandes sombres). Spire un peu haute, de 4 à 5 tours à croissance rapide ; solide, un peu mince (Chase, 1986). La couleur de la chaire est verdâtre tirant sur le sombre, mais elle devient plus claire lorsque l'escargot est en captivité. **(Avagnina, 2009)**



**Figure 1 :** Escargot Helix Aspersa. (Original Médéa, 2021)

### I.1.2 Historique

Bien que l'utilisation de nombreux gastéropodes dont les escargots pour l'alimentation ait été démontrée par de nombreuses découvertes archéologiques, il est beaucoup plus difficile de prouver leur utilisation en thérapeutique et en médecine **(Meyer-Rochow VB et al ,2017)**

Le jardin marron l'escargot, Helix Aspersa, est utilisé en médecine humaine depuis l'Antiquité ; la première application des sécrétions de mucus d'escargot en médecine remonte aux Grecs de l'Antiquité. Hippocrate aurait utilisé des escargots pour soulager les affections cutanées inflammatoires. De plus, le père de la médecine occidentale a recommandé l'escargot mucus pour le traitement du protocole. Celse a affirmé que l'escargot brut avec sa coquille avait une guérison remarquable propriétés, tandis qu'après ébullition, il a également acquis une capacité émolliente. Pline a déclaré que les préparations d'escargots pouvaient être utilisées dans tous les types de plaies, telles que les brûlures, les abcès et les saignements de nez. Galien a recommandé le mucus d'escargots contre l'anasarque fœtal **(Bonnemain B, 2005)**

La préparation dermatologique à base de mucus d'escargot a été utilisée au XVIIIe siècle pour traiter les troubles dermatologiques et les symptômes associés à la tuberculose et à la néphrite. Au XIXe siècle, il a été un regain d'intérêt pour l'utilisation pharmaceutique et médicale des escargots avec de plus en plus de préparations. Ce l'intérêt pour les escargots s'est poursuivi au siècle suivant avec l'acquisition de nouvelles données analytiques sur les composants du mucus. Récemment, des rapports anecdotiques sur les propriétés génériques de régénération cutanée du mucus d'Helix Aspersa ont été explorés ; cela a abouti à la production commerciale d'une préparation topique prétendument « cicatrisation des plaies » ainsi que des propriétés anti-âges. Ces préparations ont été testées sur des patients brûlés et alors qu'ils ont noté qu'une gamme de bactéries pathogènes ont été isolées des plaies avant le traitement, ce n'était pas suivi d'une culture d'échantillons post-traitement **(Tsoutsos D et al, 2009)**

### I.1.3 Classification

Helix Aspersa est une espèce herbivore, qui s'alimente la nuit de végétaux variés. C'est un animal hermaphrodite à reproduction croisée de 5 ans de longévité. Sa position systématique est la suivante

**Règne** Animalia. **(Linnaeus, 1758)**

**Embranchement** Mollusca. **(Cuvier, 1795)**

| | |
|---|---|
| **Classe** | Gastropoda. **(Cuvier, 1797)** |
| **Ordre** | Stylommatophora. **(Schmidt, 1856)** |
| **Famille** | Helicidae. **(Rafinesque, 1815)** |
| **Genre** | *Helix*. **(Linnaeus, 1758)** |
| **Espèce** | *Helix Aspersa*. **(Müller, 1774)** |
| **Sous-espèce** | *Helix Aspersa*. **(Müller, 1774)** |

### I.1.4 Helix Aspersa Müller (Petit-Gris) -Distribution géographique

L'escargot « petit-gris », Helix Aspersa, est une espèce adaptée à un climat de type océanique ou de type méditerranéen. On le trouve sur une grande partie du territoire français, mais sa présence est plus importante dans les régions littorales. On le rencontre également en Grande-Bretagne, en Espagne et dans tout le bassin méditerranéen. Son diamètre varie de 30 à 40mm pour un poids vif adulte se situant entre 6 et 15g. **(Bonnet et al., 1990)**

### I.1.5 Description morphologique

L'escargot Petit-Gris Helix Aspersa est un mollusque sourd et quasiment aveugle mais ses tentacules sont équipés de deux épithéliums olfactifs très puissants. Simplement en balançant ses tentacules pour détecter les odeurs qui l'entourent, l'escargot peut repérer une cible à plus d'une centaine de mètres. Il est Littérature Scientifique 8 adulte à deux ans mais peut vivre plus de cinq ans. 99% de l'activité de l'escargot, y compris ses "repas", a lieu de nuit avec un pic de 2 à 3 heures après la tombée de la nuit. La fraîcheur nocturne et la rosée facilitent ses déplacements. **(Chase, 1986)**

La bordure située à l'ouverture de la coquille est appelée péristome. La forme, l'épaisseur et la couleur du péristome ont une grande importance dans l'identification des espèces des gastéropodes. La coquille est toujours hélicoïdale. La plupart du temps, l'hélice s'enroule vers la droite, et on parle alors d'escargot à coquille dextre. Il existe également, mais de manière plus rare et anormale, des escargots à coquille sénestre, c'est-à-dire dont la coquille tourne vers la gauche, voir la figure 2.



**Figure 2 :** Forme sénestre (à gauche) et dextre (à droite) du Petit-Gris**. (Descouens, 2012)**

Les Petit-Gris adultes ont un péristome (blanc, gris ou noir) réfléchi composant la partie inférieure de la coquille, on dit alors qu'ils sont "bordés". Chez les Gros-Gris (Helix Aspersa maxima) d'élevage, le péristome est le plus souvent noir. On rencontre 1 sénestre sur environ 20 000 escargots. Le terme péristome, vient directement de la langue grecque et veut dire « autour de la bouche », est employé Littérature Scientifique 9 pour décrire diverses structures entourant l'ouverture d'un organe chez certains invertébrés comme les mollusques. **(Grégoire, 1961).**

Chez les escargots et les autres gastéropodes pourvus d'une coquille spiralée, il s'agit du rebord de l'ouverture de la coquille entourant le manteau. Le péristome est composé des dernières spires d'accroissement de la coquille. Un escargot est dit "bordé" lorsqu'il a le péristome réfléchi. Ses dernières spires sont alors concentrées et forment une bordure coquillière épaisse et légèrement relevée à la perpendiculaire des spires d'accroissement de coquille dite « juvénile ». La forme, l'épaisseur et la couleur du péristome ont souvent une grande importance dans l'identification des espèces de gastéropodes. Le bourrelet palléal (avec lequel on confond parfois le péristome) est ce qui reste visible à l'intérieur du péristome quand l'escargot est rentré dans sa coquille. **(Bellono et al., 1971)**

L'importance du manteau est considérable, son rôle est double : en premier lieu il intervient dans la fabrication de la coquille ; en effet sa face externe est recouverte d'un tissu secrétant différentes couches d'une substance organique : la conchyoline 1 **(Bellono et al., 1971)** ou perlucine **(Grégoire, 1961),** abondamment imprégnée de sels calcaires. En second lieu, la surface interne du manteau délimite, avec la surface contiguë du corps, une cavité : la

cavité palléale (du latin pallium, manteau) que l'on dénomme aussi parfois : cavité respiratoire. La coquille est conoïde globuleuse, ventrue, très convexe en dessus, bien obliquement bombée en dessous, sans ombilic. Son coloris est fauve brun, jaunâtre ou grisâtre orné de zigzags plus clairs que le fond, sans bandes ou avec 1 à 4 bandes sombres. Spire un peu haute, de 4 à 5 tours très convexes à croissance rapide ; test 2 solide, un peu mince **(Chase, 1986)**

La coquille se compose à 99 % de matière minérale.

Elle grossit avec l'escargot durant toute sa croissance. Lorsqu'il est devenu adulte le bord de la coquille durcit et l'escargot est alors "bordé". Il est à signaler que la coquille représente le tiers du poids d'un escargot adulte. **(APIA, 2004)** Une torsion de 180° (en sens inverse des aiguilles d'une montre) a ramené la cavité palléale en avant (juste en arrière de la tête). Conséquence de cette torsion : ploiement en "U" du tube digestif, anus rapproché de la bouche, poumons en avant du cœur, organes de droite passés à gauche et inversement, système nerveux croisé en "8". La symétrie bilatérale est inversée, mais non détruite. Conséquence de cet enroulement : atrophie, puis disparition de l'oreillette et du rein du côté droit. **(APIA, 2004)**

L'animal devient asymétrique **(Thompson D'Arc, 2005).** La coquille 3 est sécrétée par un épais pli de peau, appelé le manteau 4. Elle est composée principalement de carbonate de calcium (CaCO3). Les gastéropodes ont donc besoin d'une alimentation riche en calcium (Ca). À la naissance, Helix aspres à une coquille qui constituera l'apex de la coquille adulte. (Apex est à l'origine un mot latin signifiant « sommet » ou « pointe ».

L'adjectif correspondant est apical : qui se trouve près du sommet, ou de l'extrémité. Le pluriel est apices. Apex, le point de départ, et donc le sommet, de la coquille des mollusques en malacologie et en conchyliologie. À partir de ce point, la croissance n'est ni ne continue, ni régulière. Elle peut ralentir voire s'interrompre lors des périodes d'inactivité et de jeûne de l'animal, notamment en hiver ou en cas de sécheresse prolongée : estivation. Ces irrégularités se manifestent par la formation de stries de croissance souvent visibles en surface. Le muscle columellaire maintient le gastéropode dans la coquille **(Thierry, 2006).** Helix Aspersa dispose de deux paires de tentacules rétractiles, appelés « cornes » ou « antennes » dans le langage familier. Dans la partie supérieure de la tête la première paire de « cornes » abrite les yeux mais la vue est un sens peu utilisé. Ils possèdent surtout un bulbe olfactif sous l'œil et la deuxième paire de tentacules est un organe olfactif et tactile (épithélium) qui est en revanche très utilisé. **(Dcschmidt, 2008).**



**Figure 3 :** Les deux paires de tentacules d'un escargot. **(Dcschmidt, 2008)**

Le Petit-Gris, comme de nombreux autres mollusques, dispose de neurones géants permettant l'implantation d'électrodes intracellulaires largement utilisées en recherches neurologiques pour mieux comprendre le mode de fonctionnement des neurones humains Principales caractéristiques de l'escargot Petit-Gris : coquille conoïde globuleuse, ventrue, très convexe en dessus, bien obliquement bombée en dessous, sans ombilic ; spire un peu haute, de 4 à 5 tours très convexes à croissance rapide ; test solide, un peu mince, fauve brun, jaunâtre ou grisâtre orné de zigzags plus clairs que le fond, sans bandes ou avec 1 à 4 bandes sombres. Longueur : 20 à 40 mm ; Diamètre : 25 à 45 mm ; Longévité : 5 ans. **(Sejnowski et Delbruck, 2013**).

### I.1.6 Description anatomique

Le corps d'un escargot consiste en un pied unique, une tête et une masse viscérale enroulée qui est placée dans la coquille. Le mouvement a lieu grâce à l'expansion et l'extraction de muscles dans le pied. Des glandes placées dans la partie antérieure du pied sécrètent le mucus. Il y a aussi des glandes de mucus sur le reste du corps protégeant l'escargot contre la perte d'eau. Deux paires de tentacules sont placées sur la tête. La paire supérieure porte les yeux. La coquille est sécrétée par un épais pli de peau, appelé le manteau. La coquille est reliée au corps par un puissant muscle qui est attaché à la columelle (ou axe d'enroulement des coquilles de mollusques gastéropodes). Il a des "ramifications" à la tête et aux tentacules. La contraction de ce muscle permet à l'escargot de se retirer dans sa coquille. À l'intérieur de la coquille, se trouve la cavité du manteau, qui contient le cœur, le rein et le poumon. **(Quibik, 2007).**

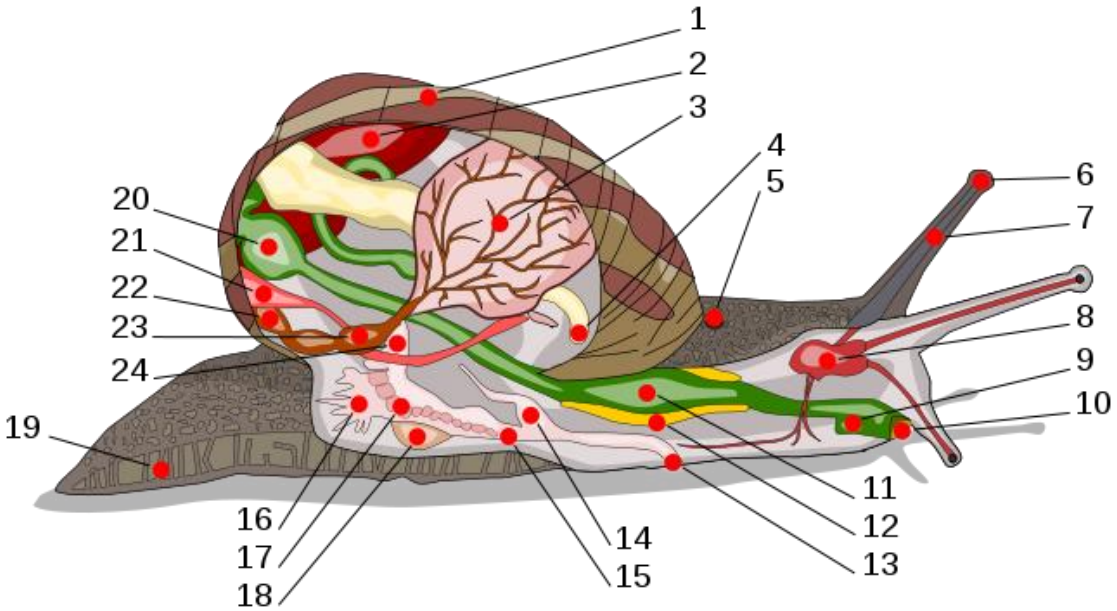



**Figure 4 :** Schéma en coupe de l'anatomie d'un escargot **(Quibik, 2007).**

**1** : Coquille. **2** : Foie. **3**: Poumon. **4**: Anus. **5**: Pore respiratoire. **6**: Œil. **7**: Tentacule. **8**: Cerveau. **9**: Conduit salivaire. **10**: Bouche. **11**: Panse. **12**: Glande salivaire. **13**: Orifice génital. **14**: Pénis. **15**: Vagin. **16**: Glande muqueuse. **17**: Oviducte. **18**: Sac de dards. **19**: Pied. **20**: Estomac. **21**: Rein. **22**: Manteau. **23**: Cœur. **24**: Canal déférent.

L'escargot possède une respiration pulmonaire. Le poumon est formé par la cavité palléale, espace situé entre la masse viscérale et le manteau qui recouvre l'intérieur de la coquille. Il s'ouvre à l'extérieur par l'orifice respiratoire dont on peut observer aisément les mouvements rythmiques d'ouverture et de fermeture. **(Pol, 2006)**



**Figure 5 :** Orifice respiratoire chez l'escargot **(Pol, 2006)**

### I.1.7 Déplacement

Helix Aspersa se déplace, seulement vers l'avant, grâce à son pied, qui est en fait un gigantesque muscle qui se contracte et s'allonge alternativement. Sa vitesse moyenne pour un adulte est d'un 1 mm/s soit 3,6 m/h.

L'escargot arrive à déplacer 170 fois son poids, autrement dit un escargot qui pèse 10 g par exemple peut déplacer un poids d'environ 1,5 kg.

Ses glandes sécrètent différents types de mucus (la « bave ») contenant de nombreux composés (allantoïne, collagène, élastine) qui lui permettent à la fois d'avancer plus facilement en glissant sur les obstacles et de se fixer même verticalement sur certaines parois.

Le mucus sert aussi à se débarrasser de certaines substances, comme les métaux lourds, et 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 (Fig.6).

Les mucus sont différentes sécrétions visqueuses et translucides, produites par divers organismes, et chez ceux-ci par divers organes ou muqueuses. Les escargots produisent des mucus externes ayant des fonctions de protection et parfois de facilité de déplacement, voire de communication. **(Pol, 2001)**



**Figure 6** : Ondes de contraction sur la face ventrale des pieds d'escargots **(Pol, 2001).**

### I.1.8 Composition de la bave d'escargot

**- Allantoïne**

L'allantoïne est un composé chimique azoté, de formule C4H6N4O3. D'origine organique ou végétale, elle soigne les plaies et les brulures, a des vertus adoucissantes et anti-acnéiques. Elle ralentit le processus de vieillissement cutané. **(Bonnemain, 2003)**

**- Elastine**

L'élastine est une protéine secrétée par les fibroblastes et a des propriétés élastiques, ce qui permet aux cellules de se lier et aux tissus biologiques de se former. C'est une chaîne polypeptidique longue de 830 acides aminés, elle est constituée majoritairement de prolines et de glycines. C'est un allié indispensable de la souplesse et de l'élasticité de la peau, Il gomme les rides, réduit les vergetures et atténue l'acné. **(Bonnemain, 2003)**

**- Collagène**

Le collagène est une protéine qui confère aux tissus une résistance mécanique à l'étirement. Il est inextensible et résiste bien à la traction et est également indispensable à la cicatrisation. **(Bonnemain, 2003)**

**- Vitamines A, C et E**

Elles ont un pouvoir protecteur, nourrissant, anti-inflammatoire et antioxydant pour les vitamines C et E. **(Bonnemain, 2003)**

**Autres composants**

Tels que les peptides antimicrobiens qui sont des antiseptiques naturels détruisant les bactéries, les glycoprotéines enzymatiques qui ont une action réparatrice favorisant la régénération de la peau animale (traitements des cicatrices), l'acide glycolique qui aide à détruire les bactéries et stimule la production de collagène. **(Bonnemain, 2003).**

**Tableau 1 :** Composition chimique et microbiologique de la bave d'escargot (**Sticozzi C et al, 2010**)

| Spécification | Valeurs | Unité de mesure |
|---|---|---|
| Aspect | Claire | |
| Couleur | Vert-jaunâtre | |
| Odeur | Inodore | |
| PH | 7.0 | |
| Densité | 1.1 | |
| Résidu sec | 3.2 | g/L |
| Rendement % | 0.12 | |
| Minérales | 350 | mg/L |
| Métaux lourds | Absent | |
| Protéines | 250 | mg/L |
| Acide glycolique | <200 | mg/L |
| Allantoïne | <200 | mg/L |
| Polyphénol | 80 | mg/L |
| Sucres | 0.027 | g/L |
| Collagène | 80 | mg/L |
| Gram + | 0 | UFC |
| Gram - | 0 | UFC |
| Fungi | 0 | UFC |

### I.1.9 Généralités sur la peau et l'épidémiologie de l'acné

#### Introduction

La peau constitue un organe complexe. Cette partie donne un aperçu de la structure des principaux compartiments de la peau et des annexes cutanées. Cette partie comprend également le différent type de brulure sur la peau et leur cicatrisation. **(F, Balaguer et al, 2010)**

### I.1.9.1 La peau

La peau est l'organe le plus gros de l'organisme, avec une surface d'environ 2 m2 pour un poids moyen représentant 15 % du poids total d'un adulte, elle est constituée du derme, de l'épiderme et de l'hypoderme. **(F, Balaguer et al, 2010)**

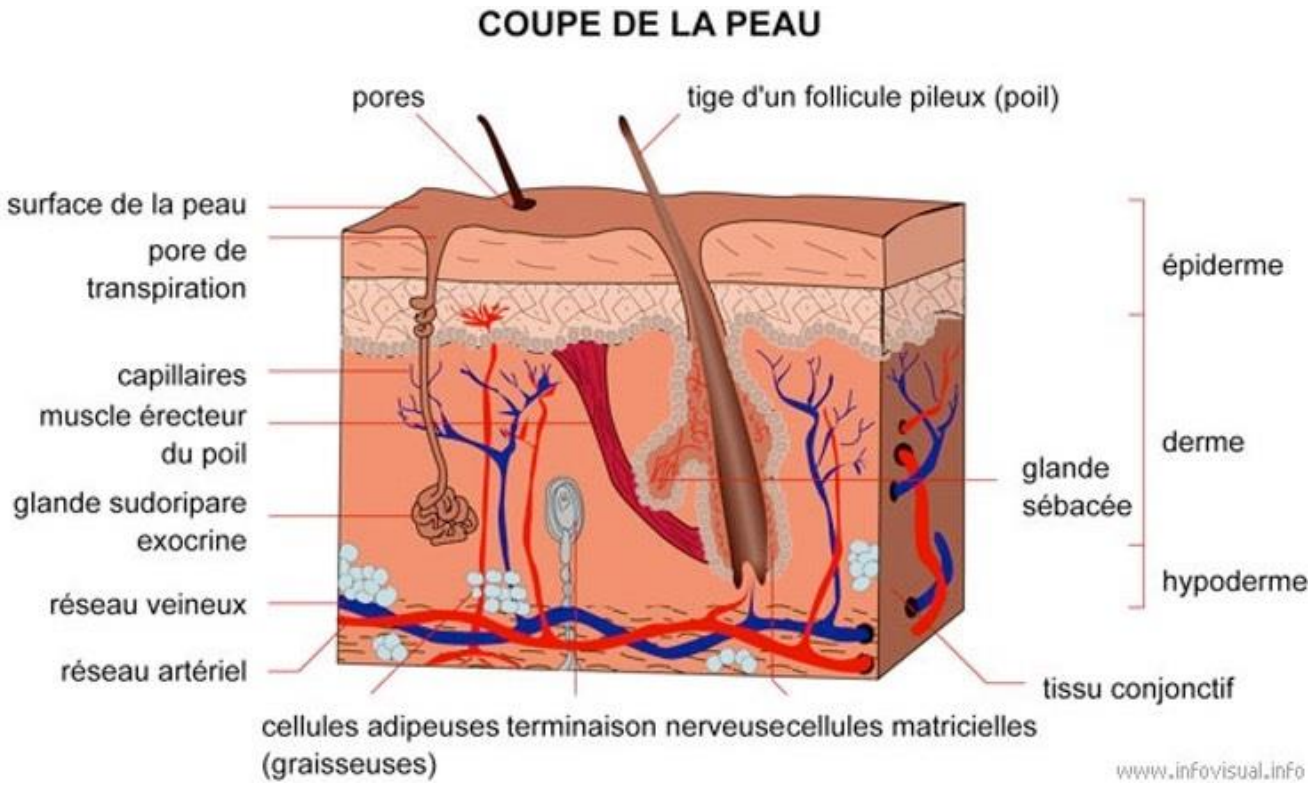



**Figure 7 :** Structure de la peau. **(F, Balaguer et al, 2010)**

#### a) L'épiderme

C'est un tissu épithélial pluristratifié d'origine ectodermique correspondant à la couche la plus externe de la peau. Une de ses principales fonctions est celle de barrière entre l'organisme et son environnement extérieur **(F, Balaguer et al, 2010)**

#### b) le derme

Le derme permet non seulement d'apporter les nutriments, l'immunité et d'autres supports à l'épiderme mais aussi d'avoir un rôle dans la régulation de la température, de la pression et de la douleur. Le derme a une épaisseur de 0,1 à 0,5 cm. C'est un tissu conjonctif compose de fibres de collagène (70%) et de fibres élastiques dans une matrice extracellulaire riche en protéoglycanes et glycoprotéines. **(F. Coudane, 2009).**

**c) L'hypoderme**

C'est la couche la plus profonde et la plus épaisse de la peau. L'hypoderme est un tissu graisseux ou tissu adipeux blanc, rattaché à la partie inferieur du derme, essentiellement compose d'adipocytes, cellules spécialisées dans le stockage des lipides, regroupés en lobules et sépares par du tissu conjonctif. Il joue le rôle d'isolant thermique, de réserve énergétique et de protection contre les chocs. **(M. Manon, 2007)**

### I.1.9.2 Composition chimique de la peau

La surface épidermique n'est pas uniforme, puisqu'elle donne passage aux conduits excréteurs des glandes sudoripares, au système pileux accompagné de la voie d'excrétion des glandes sébacées. Ces voies trans épidermiques sont des voies de passages directes vers le derme où logent ces organes (Tableau 2). La glande sudoripare a un conduit étroit qui ne permet guère un passage, par ailleurs repoussée par le flux de sueur. **(L. Amirouche, 2011)**

**Tableau 2 :** Structure chimique de la barrière épidermique. **(L. Amirouche, 2011)**

| **Membrane** | **Composition** |
|---|---|
| Membrane cellulaire | 5¨%<br>Lipides<br>Protéines non fibrillaires |
| Membrane intracellulaire | 85%<br>Lipides (20 %)<br>Protéines a (50 %)<br>Protéines b (20 %)<br>Protéines non fibrillaires<br>(± 10 %) |
| Membrane Extracellulaire | 10%<br>Lipides<br>Protéines<br>Mucopolysaccharides |

### I.1.9.3 Le pH de la peau

Le pH de la peau est plus important qu'on ne puisse le croire, puisqu'il conditionne l'ionisation et la capacité d'absorption des principes actifs. Ce pH est variable sur les divers endroits divers du corps, mais aussi en fonction de la sueur, de sécrétions séborrhéiques, ou d'états pathologiques de la peau. Voisin d'un pH 5 légèrement acide, il peut être facilement influencé par le pH du véhiculeur. **(L. Amirouche, 2011)**

### I.1.9.4 Les trois types de plaies

#### A. Les plaies du premier degré

Les blessures du premier degré ne concernent que l'épiderme. Elles se manifestent par une suppression des kératinocytes situés à la surface de la plaie, l'épiderme se trouve alors plus ou moins aminci. Elles ne sont douloureuses que quelques jours et le pronostic évolutif est rapidement favorable. Ces lésions proviennent la plupart du temps d'une légère brûlure, d'un coup de soleil ou d'une petite abrasion. **(Ko Yeon. Choo et al, 2015)**

#### B. Les plaies du deuxième degré

Les blessures du second degré sont caractérisées par la destruction de l'épiderme, de la membrane basale et d'une partie du derme. La blessure ayant touché les corpuscules basaux, les vaisseaux et d'autres cellules importantes, les terminaisons nerveuses de la douleur s'activent. Les blessures du second degré sont donc souvent très douloureuses.

Ce type de blessure est généralement causé par une brûlure importante, une abrasion de la peau ou une coupure. **(KoYeon.Choo et al, 2015)**

#### C. Les plaies du troisième degré

Les blessures du troisième degré sont les plus graves : elles se manifestent par une destruction complète de l'épiderme et du derme avec bien souvent atteinte de l'hypoderme. Ces lésions sont très graves car de nombreuses structures sont touchées et bien souvent détruites.

Ces blessures résultent dans la majorité des cas d'une brûlure importante, d'une coupure ou abrasion profonde. **(KoYeon.Choo et al, 2015)**

### I.1.9.5 Phénomènes de cicatrisation de la peau

L'épiderme guérit par régénération, grâce au renouvellement naturel des kératinocytes. Le derme guérit par réparation, le tissu d'origine étant remplacé par un nouveau tissu non spécifique avec formation d'une cicatrice. **(KoYeon.Choo et al, 2015)**

Dès qu'une lésion atteint le derme, les vaisseaux sanguins sont endommagés. Il se produit alors un épanchement de sang dans la plaie. Afin de refermer la blessure et de limiter les pertes sanguines, de nombreux mécanismes visant à stopper ou retenir l'hémorragie se mettent en place : on nomme l'ensemble de ces mécanismes l'hémostase. Cette hémostase est précédée d'un phénomène d'inflammation. **(KoYeon.Choo et al, 2015)**

L'acné est une pathologie inflammatoire chronique du follicule pilosébacé évoluant par poussées. Elle touche 70 à 80 % des adolescents et peut être à l'origine de cicatrices. Elle apparaît à la puberté et disparaît le plus souvent à l'âge adulte. Dans l'apparition de l'acné, trois facteurs jouent un rôle essentiel : une production excessive de sébum sous l'influence notamment d'un facteur hormonal et de neuromédiateurs libérés par le stress, une kératinisation anormale de l'épithélium folliculaire et une réaction inflammatoire du follicule pilosébacé associée à la présence au sein de ce dernier de *Propionibacterium acnes.* Si le diagnostic est en général facile, la prise en charge thérapeutique doit être adaptée au type d'acné rétentionnelle ou inflammatoire et sa sévérité. Maladie chronique, elle nécessite un traitement d'entretien.

### I.1.10 Épidémiologie

L'acné touche les adolescents entre 12 et 18 ans avec une prévalence en France supérieure à 80 %. Les jeunes adultes de plus de 20 ans, particulièrement les femmes, peuvent être également atteints. La survenue de lésions acnéiques peut avoir un retentissement psychologique majeur qui n'est pas toujours corrélé à la sévérité clinique. L'acné représente donc un motif de consultation fréquent. Cependant, on estime aujourd'hui que moins de 50 % des sujets acnéiques consultent un médecin. **(Pawin H ,2007)**

Plusieurs facteurs influençant l'acné ont été identifiés et notamment, la notion de terrain génétique : l'existence d'antécédents familiaux d'acné chez le père ou la mère est plus volontiers associée à des acnés plus précoces, sévères ou résistantes au traitement. Parmi les facteurs acquis, le tabac influencerait notamment la formation de lésions rétentionnelles. Cela pourrait s'expliquer par le fait que les kératinocytes présentent des récepteurs nicotiniques à l'acétylcholine pouvant induire une hyperkératinisation lors de forte concentration de nicotine. **(Pawin H ,2007)**

#### I.1.10.1 Facteurs étiopathogéniques

« Séborrhée » : l'acné est associée à une hyperménorrhée (Fig.1). Le lien entre androgènes (testostérone et dihydrotestostérone), production de sébum et survenue d'acné est bien démontré.

Mais récemment, d'autres récepteurs dont l'activation qui stimule la production de sébum ont été identifiés à la surface de la glande sébacée : récepteurs à la substance P (activés par le stress), au CRH et à l'alpha MSH (rôle dans la pigmentation), à l'histamine, aux PPAR (activés par le cholestérol), activés par l'insuline. L'identification de ces deux derniers types de

récepteurs amène à rediscuter le lien entre acné et alimentation, mais aucune preuve formelle à ce jour n'a encore été établie. **(Pawin H ,2007)**

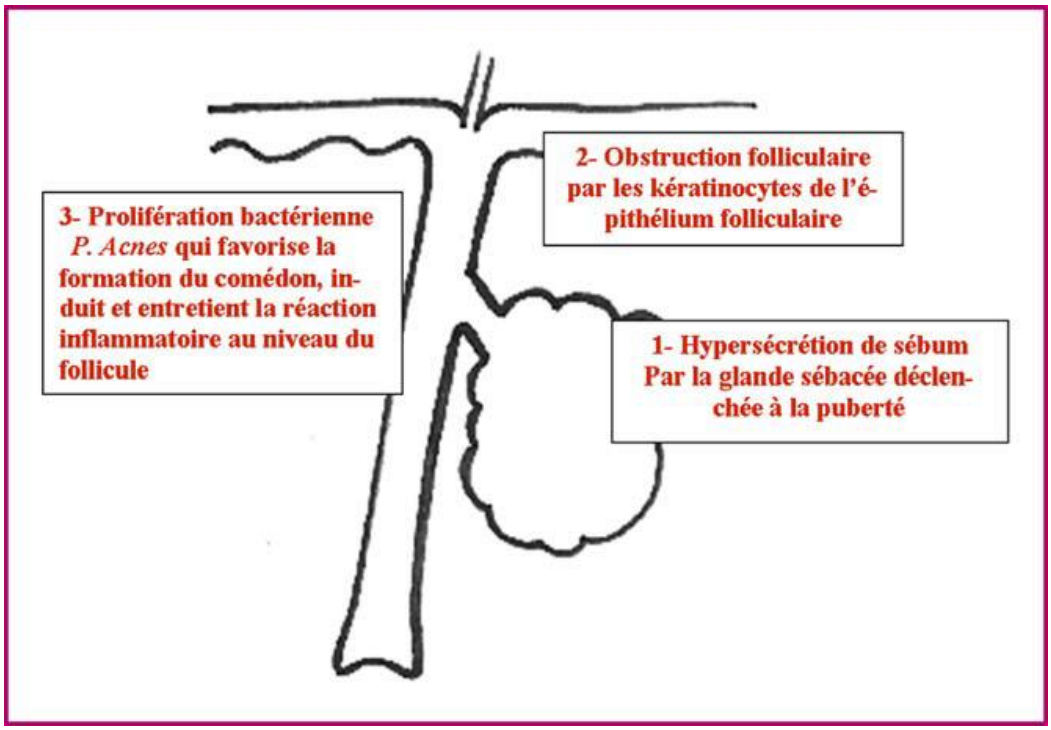



**Figure 8 :** Les principales cibles de l'acné (schéma). **(B. Dreno, 2010)**

**Anomalies de la kératinisation du follicule pilosébacé aboutissant à son obstruction**

L'hyperprolifération des kératinocytes et une desquamation anormale des cornéocytes constituent le comédon. Les principaux facteurs inducteurs connus à ce jour de ces anomalies Kératinocytaires sont : l'interleukine 1 qui est une cytokine kératinocytaire produite sous l'effet d'une irritation, les acides gras libres du sébum et Propionibacterium acnés (P. Acnés) lui-même qui stimule la prolifération des kératinocytes et leur différentiation terminale.

Inflammation induite par Propionibacterium P. acnés active l'immunité innée en induisant la sécrétion de peptides antimicrobiens, de cytokines pro-inflammatoires, par les kératinocytes et les monocytes via l'activation de récepteurs de l'immunité innée (TLR2). De plus, P. acnés secrète de nombreuses substances pro-inflammatoires qui entretiennent la réaction inflammatoire. **(Revuz J et al, 2008)**

**Clinique**

Une prise en charge correcte de l'acné juvénile nécessite de définir préalablement le type d'acné (rétentionnelle, inflammatoire, mixte) et sa sévérité (minime, modérée, sévère) sur l'extension des lésions et la présence de nodules. **(Revuz J et al, 2008)**

• la séborrhée est la condition préalable au développement de lésions acnéiques. Elle débute aux alentours de la puberté donnant un aspect brillant à la peau avec des pores cutanés dilatés,

• les lésions rétentionnelles (Fig. 2) sont constituées par les comédons ouverts et fermés (microkystes) ;



**Figure 9 :** Acné à prédominance rétentionnelle. **(B. Dreno, 2010)**

• les lésions inflammatoires comprennent les papules et les pustules (Fig. 3) considérées comme des lésions inflammatoires superficielles



**Figure 10 :** Acné à prédominance inflammatoire. **(B. Dreno, 2010)**

• les nodules (diamètre supérieur à 5 mm), lésions inflammatoires profondes (Fig. 4).



**Figure 11 :** Acné sévère. (**B. Dreno, 2010)**

• Les nodules (diamètre supérieur à 5 mm), lésions inflammatoires profondes (Fig. 4).

Les lésions d'acné en disparaissant laissent souvent un érythème transitoire et/ou une pigmentation, qui chez les patients de phototype foncé peut être définitive. L'évolution vers des cicatrices hypertrophiques ou surtout atrophiques est possible. Ces dernières sont d'autant plus intenses que la composante inflammatoire est intense et la mise en route du traitement retardée. Le visage est en général atteint en priorité mais les lésions peuvent s'étendre au niveau du dos, des épaules et du décolleté. L'évolution même en l'absence de traitement est spontanément favorable et l'acné guérit dans 90 % des cas vers 18 à 20 ans.

**L'acné néonatale**

Elle est le plus souvent une acné transitoire. Elle apparaît dès la naissance et régresse spontanément vers un à trois mois. Elle survient chez près d'un nourrisson sur cinq avec une prédominance masculine (70 à 80 %) et se présente sous forme de comédons et papules sur les joues et sur le front. Elle est liée au sevrage des hormones maternelles déclenchant une stimulation hypophysaire du nouveau-né et une sécrétion excessive d'androgènes surrénaliens et gonadiques.

L'acné du jeune enfant peut prendre un caractère nodulaire (Fig. 5).



**Figure 12 :** Acné du jeune enfant. **(B. Dreno, 2010)**

L'utilisation abondante de cosmétiques pour camoufler les lésions entretient encore cette acné.

## I.2 Propolis

Le mot est dérivé du grec pro (avant) et polis (ville). La propolis est utilisée comme bouclier protecteur à l'entrée de la ruche **(Figure 13).** Elle est également utilisée pour combler les fissures dans la ruche, pour rattacher les coins des cadres aux rainures dans la ruche, et aussi pour polir les cellules du nid d'abeilles. Les cadavres des intrus qui ne peuvent être évacués tels que lézards, serpents et souris sont embaumés avec de la colle d'abeille, protégeant ainsi la colonie contre la flore désagréable et la flore bactérienne des cadavres en putréfaction **(Ghisalberti et al., 1978)**



**Figure 13 :** Les abeilles produisent l'entrée de la ruche par la propolis

### I.2.1 Histoire de la propolis

Dès l'Antiquité, la propolis était employée comme moyen thérapeutique contre les affections de la peau, les plaies et les suppurations. Égyptiens, Grecs, Romains, Mayas utilisaient les produits issus de la ruche à des fins préventives, curatives et alimentaires. La propolis avait un rôle religieux dans l'Égypte ancienne **(3200 à -1100 ans av JC),** les Egyptiens utilisaient cette résine pour embaumer les morts, elle était réputée pour ses propriétés conservatrices et son arôme. On l'employait aisément lors de la momification **(Crane, 1999).** Les Grecs **(700 à -600 ans av JC),** ont observé que cette substance résineuse se situait à l'entrée de la ruche comme barrière de protection contre les prédateurs **(Golder, 2004).**

Dans la Rome Antique, les soldats romains, eux, partaient au combat avec un morceau de propolis pour cicatriser leurs futures plaies. La propolis était réputée pour réduire les œdèmes, apaiser les douleurs nerveuses et guérissait les plaies cutanées ou encore les abcès **(Ransome, 1937).** Durant la même période, en Amérique du Sud, les Incas utilisaient la propolis comme antiseptique. Hippocrate recommandait la propolis pour la guérison des plaies et des ulcères **(Viel et Dore, 2003).**

Les Arabes connaissaient aussi la propolis. Avicenne a parlé de deux sortes de cire : la cire propre et la cire noire, cette dernière étant probablement la propolis. Il a dit : « par sa forte odeur, elle fait éternuer… » et « Elle a la qualité de faire éliminer les pointes des flèches et des épines, raréfie, nettoie facilement et amollit fortement »

Au XVIème siècle, elle servait à cicatriser les blessures de flèches. C'est surtout au XVIII et XIXème siècle que la propolis fut utilisée pour panser les plaies. Elle était très répandue sur les champs de batailles notamment lors de la guerre des Boers en Afrique du Sud pour soigner les soldats et accélérer le processus de cicatrisation. Elle était reconnue pour son action antiseptique, anesthésique et cicatrisante **(Ransome, 1937 ; Fearnley, 2001).**

### I.2.2 Récolte de la propolis

#### I.2.2.1 Récolte de la propolis par les abeilles

La propolis est le nom donné à la substance résineuse qui est collectée par les abeilles à partir de différentes parties des plantes **(branches, fleurs, pollen, bourgeons) (A. dos Santos Pereira et al., 1998)** tout dépendant de la localisation géographique **(G.A. Burdock 1998) (AS. Pereira et al., 2000).** Sa couleur varie du jaune pâle au brun foncé dépendant de la source et de son âge. Les abeilles ouvrières collectent cette résine dans les bourgeons d'arbres tels que le bouleau, le peuplier, le pin, l'aune, le saule et le palmier. Elle peut aussi provenir des substances sécrétées par les plantes, des substances lipophiles sur les feuilles, des mucilages, des gommes, des résines et des treillages.

Après avoir collecté cette résine des fissures dans les écorces des arbres et des bourgeons, les abeilles la mastiquent, des enzymes salivaires sont ajoutées et le produit partiellement digéré est mélangé avec de la cire et utilisé dans la ruche **(G.A. Burdock 1998) (S. Castaldo 2002).**

Cette récolte ne répond pas à des règles bien définies et constantes, elle dépend de nombreux facteurs, parmi lesquels nous pouvons dégager et analyser les plus **notables (Eric Debuyser., 1984, Docteur Yves Donadieu 1981).**

***a) L'âge de l'abeille***

Il semble que ce soient les abeilles les plus âgées donc les plus expérimentées qui récoltent la propolis. L'étude histologique montre que leurs glandes cirières sont totalement atrophiées, l'âge minimal est de dix-huit jours.

***b) La race***

La tendance à propoliser dépend de la race d'abeille. Il est reconnu que l'abeille grise des montagnes appelée encore Caucasienne (Apis mellificacaucasia) et certaines autres races d'Asie Mineure (celle d'Anatolie centrale en particulier) propolisent en général davantage que les autres, c'est le cas de l'abeille carniolienne (Apis mellificacarnica) et l'abeille Tellienne (Apis mellifira) **(Marcucci, 1995).** Mais dans de nombreux autres cas, les données d'information en ce qui concerne ce facteur sont encore insuffisantes pour établir des comparaisons précises ;

***c) La saison***

La récolte a lieu, soit, en début de printemps, mais le plus souvent à la fin de la miellée, ou à l'approche d'automne au moment où la colonie commence ses préparatifs d'hivernage ;

***d) Le climat (la température)***

Les abeilles récolteuses de propolis déploient en général leur activité au cours des journées chaudes (température le plus souvent supérieure à 20°C et en outre, pendant les heures les mieux exposées, à cette chaleur (soit entre 10 h et 15 h 30 en moyenne), ceci du fait que les substances ramassées sont trop dures pour être exploitées en dehors de ces horaires ;

***e) La géographie***

C'est ainsi, entre autres, que les ruches situées dans les régions boisées propolisent davantage que les ruches de plaine.

**I.2.2.2 Récolte de la propolis par l'homme**

La propolis peut être récoltée selon des techniques diverses :

Par raclage et grattage des cadres ou des parois de la ruche **figure 14**, de préférence à une température assez basse, la propolis, alors dure et friable, se détachant mieux

Par des grilles spécialement conçues à cet effet **figure 15**. Ce procédé donne une propolis de meilleure qualité **(Eric Debuyser., 1984)**



**Figure 14 :** Récolte de la propolis par raclage et grattage



**Figure 15 :** Récolte de la propolis par des grilles

On élimine les déchets les plus grossiers et elle est ensuite dissoute à froid dans l'alcool éthylique à 70 % ce qui permet l'élimination de la cire **(Docteur Yves Donadieu 1981).**

### I.2.2.3 Origine de la propolis

Deux théories avaient été énoncées quant à l'origine précise de la propolis.

**Théorie de l'origine interne :** la propolis est un résidu issu de la première phase de digestion du pollen dans un petit organe situé entre le jabot et l'intestin moyen appelé le gésier à pollen. La propolis serait ensuite régurgitée par l'abeille. Cependant des grandes divergences de composition chimique entre le pollen et la propolis rendent cette hypothèse peu vraisemblable **(Hegazi, 1997).**

**Théorie de l'origine externe :** la véritable propolis est collectée par les abeilles de différentes plantes. Ces dernières la rapportent à la ruche, et la modifient en partie par l'apport de certaines de leurs sécrétions propres (cire et sécrétions salivaires essentiellement). La propolis provenant des arbres est utilisée à des fins moins importantes telles que le rétrécissement du trou de vol ou l'embaumement de prédateurs **(Valeic et al., 1999).**

- **Description organoleptique et physicochimique de la propolis :**

➢ **Couleur :** elle varie selon l'âge et l'origine botanique et géographique, du brun vert au brun jaune, brun rouge a rouge foncé **(Bogdanov et al., 2016, Bufalo et al., 2007).**

➢ **Odeur :** elle possède une odeur variable suivant son origine, en général arome agréable douceâtre, mélange à celui de miel ; de la cire et d'autre produits (cannelle, vanille, etc.…) **(Tosi et al., 2006).**

- **Saveur :** sa saveur est souvent acre, parfois elle peut être amère **(Popova et al., 2010).**
- **Consistance :** de façon caractéristique, elle une substance lipophile, dur et fragile à froid, mais douce, souple et très collante a chaude, d'où le nom de beeglue. **(Bogdanov et al., 2006, Bufalo et al., 2007).**

Son point de fusion est variable, il se situe vers 60 °C à 70°C en moyenne mais peut attendre 100°C et plus **(Debuyser 1983, Krell 1996).**

- **Solubilité :** la dissolution totale de ces constituants se fait par un mélange approprié de solvants, les plus utilisés sont : l'éther, l'éthanol, l'acétone, et benzène, elle est insoluble dans l'eau **(Marcucci 1995).**
- **Densité :** elle est de l'ordre de 1.2 en moyenne. **(Tosi et al., 2006)**

**Composition :**

**a) Composition de la propolis brute :**

L'origine géobotanique dont sera issue la propolis, la flore locale près du site de collecte, la race d'abeille ainsi les modifications générées à travers les sécrétions hypopharyngiennes de l'abeille influent d'une façon principale sur la composition **(Apimondia, 2001).**

La composition de la propolis brute diffère de celle de la propolis pure. Toutefois, un échantillon de propolis est généralement composé de :

- 50 à 55% de résine, de baume composé de flavonoïdes et d'acides phénoliques ou de leurs esters **(Bankova et al., 1987).**
- 25 à 35% de cire (1987). Mélange de cire verte d'origine végétale et de cire d'abeille) (Papay, 10% d'huiles essentiels **(Tosi et al., 2006).**
- 5% de pollen **(Gabrys, 1986).**
- 5% de matières diverses (organiques et minérales) **(Bankova et al., 1987).**

La figure ci-dessous résume le pourcentage des différents composés chimique de la propolis brute :

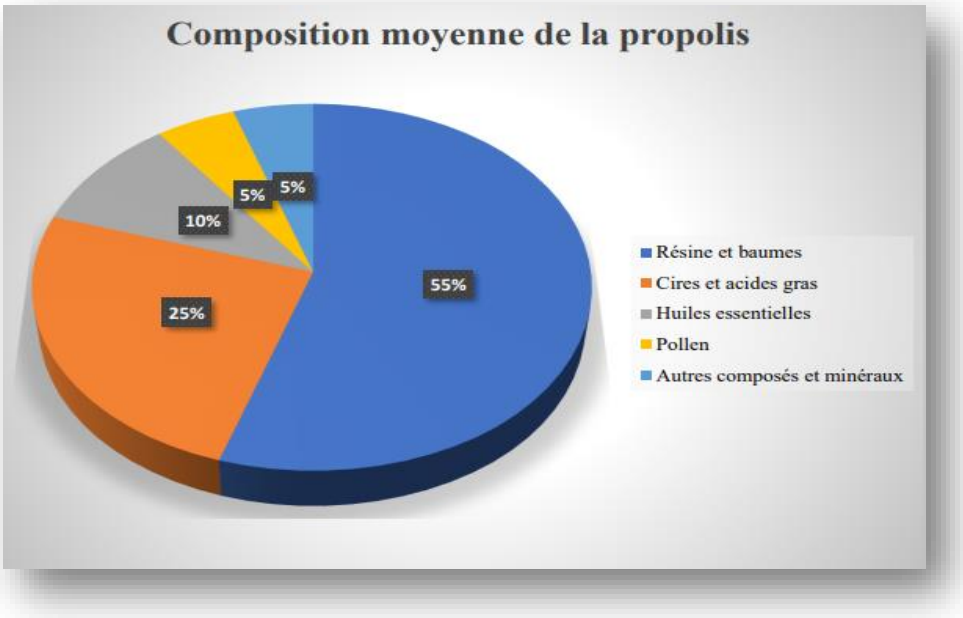



**Figure 16 :** Composition moyenne de la propolis a l'état brute. (Gabrys, 1986 ; Bankova et al., 1987 ; Papay, 1987 ; Tosi et al., 2006)

**b) Composition de la propolis purifiée**

La composition de la propolis dépend directement de la flore locale au niveau des sites de collecte. Ceci engendre donc une réelle diversité de composition chimique de cette dernière. Actuellement il a été identifié plus de 300 composants différents de la propolis par les méthodes **(Kumazawa et al ,2004 ; Agra et al., 2006 ; Donadieu, 2008**) d'analyse modernes chromatographie en phase gazeuse et spectrométrie de masse.

Le tableau ci-dessous présente les composants essentiels de la propolis purifié :

**Tableau 3 :** Les composants essentiels de la propolis purifié

| **Constituants** | **Eléments composants** | **Reference** |
|---|---|---|
| Composés phénoliques | - Flavones : la pinostrobine.<br>- Flavanols : la galangine, la quercetine.<br>-L'acide caféique, l'acide cinnamique, l'acide et l'alcool benzoïque, ainsi que l'acide férulique.<br>-Les substances à l'origine des émissions odorantes : Elles englobent plusieurs familles chimiques de molécules, ainsi des alcools, des aldéhydes (notamment vanillique et isovanillique) et des cétones, des acides, des esters interviennent dans l'odeur de la propolis.<br>-Acides aromatiques (dérivés de l'acide benzoique et cinnamique).<br>-Esters d'acides (cinnamique, coumarique, férulique, isoferulique et caféique).<br>- Acides aliphatiques (notamment les acides | **(kumazawa et al., 2004)**<br>**(Agra et al ., 2006)**<br>**(Amoros et al., 1992)**<br>**(Genya et al., 2005)**<br>**(Shiva et al., 2006)**<br>**(Apimondia, 2001)**<br>**(Gharbi, 2001)**<br>**(Apimondia, 2001)**<br>**(Gharbi 2011)** |

| | | |
|---|---|---|
| | arachidonique, linoléique, linolénique, oléique, palmitique, lactique). | |
| **Eléments minéraux** | On retrouve surtout le fer, le cuivre et le manganèse : Aluminium, argent, baryum, bore, calcium, chrome, cobalt, cuivre, étain, fer, magnésium, manganèse, nickel, phosphore, plomb, sélénium, silicium...etc. | **(Donnadieu, 2008)** |
| **Les vitamines** | - Les vitamines du groupe B (B1, B2, B3, B6, B8, B12).<br>- La provitamine A qui se transforme en vitamine A dans l'organisme. | **(Krell, 1996)**<br><br>**(Donnadieu, 2008)** |

Les constituants de la propolis du point de vue de l'activité pharmacologique sont :

- **Les polyphénols :**

Les composés phénoliques (appelés aussi polyphénols) sont des composés organiques possédant un ou plusieurs noyaux aromatiques. Ces derniers semblent les plus dominants dans 9 Synthèse bibliographique la composition de la propolis, en plus ce sont les principaux composés responsables des activités biologiques de la propolis.

Les phénols présentent dans la propolis sont principalement : l'acide caféique (au fort pouvoir antioxydant), l'acide cinnamique (antiseptique et antifongique), l'acide et l'alcool benzoïque, ainsi que l'acide férulique (puissant antioxydant et antiinflammatoire) **(Amoros et al., 1992).**

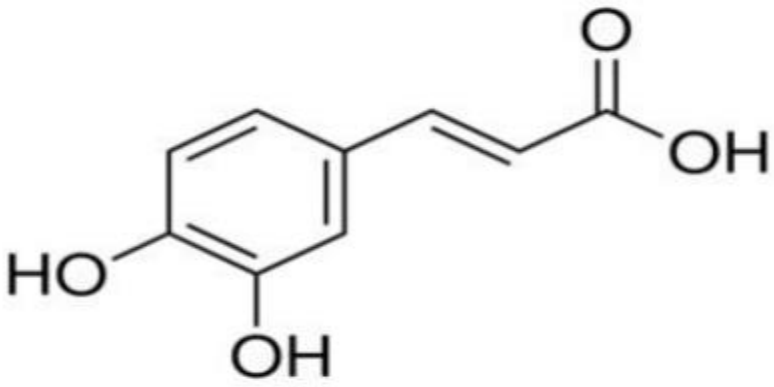



**Figure 17 :** Formule chimique de l'acide Caféique **(**http://www.mpbio.com (5/8/2018)

- L'acide caféique (composé phénolique et aromatique également à visée analgésique et anti-inflammatoire et qui a aussi des propriétés antioxydants)

- **Les flavonoïdes :**

Les flavonoïdes constituent un groupe de plus de 6000 composés naturels qui sont quasiment universels chez les plantes vasculaires **(Ghedia, 2005. Erlund, 2004).** Ils constituent des pigments responsables de la coloration jaune, orange et rouge de différents organes végétaux **(Havsteen, 2002).**

Les flavonoïdes sont des composés qui possèdent un noyau flavone Cis (Co-C3-C6) **(Ghedia, 2005).** Ils sont composés de deux cycles benzéniques (A et reliés par le biais d'un cycle pyrone (oxygène contenu au niveau d'une pyrane (**Häkkinen, 2000. Rice-Evans et al., 1996).**

Ils sont des métabolites secondaires synthétisés par les plantes comme une réponse au stress environnemental et les infections microbiennes (**Kalogeropoulos et al., 2009**). La propolis comporte pas mal de substances comme la Galangine, Kaempherine, Quercétine, Pinocembrine, La Chrysine, l'Acacétine, Papavérine... etc. (Tableau 3) **(Marcucci, 1995, Stefan, 1998, Pellati et al., 2011, Kalogeropoulos et al., 2009).**

Les Galangines, Pinocembrine et Pinostrobin ont été reconnue comme les plus efficaces agents des flavonoïdes contre les bactéries (Cushine et al., 2007, Yang et al., 2011). Tandis que la cytotoxicité a été évaluée pour la chrysine, le kaempférol, acacetin, galangine et la quercétine **(Nolkemper et al., 2009)** et l'activité antifongique pour pinobanksine, pinocembrine, chyrsine et galangine **(Yang et al., 2011).**

En 2001, Chirumbolo a marqué que la Chrysine et le kaempférol ont été identifiés comme les principaux composants antiallergiques dans EEP.

Les flavonoïdes ont été signalés qu'ils présentent un large éventail d'activités biologiques, y compris antibactériennes, anti-inflammatoires, antiallergiques, vasodilatatrices et antivirales contre la grippe, les atteintes de la sphère ORL, herpès simplex, adénovirus, coronavirus et rotavirus **(Domerego, 2003, Kalogeropoulos et al., 2009).** En outre, les flavonoïdes inhibent la peroxydation lipidique dans la membrane cellulaire **(Mani et al., 2006)**. L'agrégation plaquettaire, la perméabilité capillaire et la fragilité, et l'activité des systèmes enzymatiques dont la cyclo-oxygénase et la lipoxygénase. Sans oublier les effets cardioprotecteurs qui ont également été signalés pour les flavonoïdes par Mani et al., 2006.

D'autre part, Kedzia et al., (1990) a signalé que le mécanisme de l'activité antimicrobienne est compliqué et pourrait être attribuée à une synergie entre les 20 flavonoïdes, les hydroxyacides et les terpènes**. (Scheller et al., 1977 et Krol et al., 1993)** ont également observé cet effet

| Nom des flavonoïdes | %TIC |
|---|---|
| - 5-Hydroxy-7-Metoxy flavanone (pinostrobine) | 0.51 |
| - 5,7- Dihydroxy flavanone (pinocembrine) | 2.62 |
| - 2,6- dihydroxy-4-méthoxydihydro chalcone | 0.07 |
| - 5,6-dihydroxy-3-acetylooxyflavanone(pinobankcine-3-acetate) isomer 1 | 0.17 |
| - 5,7-Dihydroxy-3-acetyloxyflavanone(pinobanksin-3-acetate)(isomer2) | 2.29 |
| - 5,7-dihydroxy flavone (chrysine) | 0.3 |
| - 3,5,7-trihydroxy flavanone (piobankine) | 0.9 |
| - 3,5,7-trihydoxy flavone (galangine) | 0.06 |
| - 2',4',6'- trihydoxy chalcone (pinocembrine chlcone) | 0.13 |
| - 3,5,7,4'-tetrahydroxy flavone (Kaempferol) | 0.11 |
| - 5,7- dihydroxy flavone (chrysine) | 0.69 |
| - 5,7'dihydroxy-3-propanoyloxyflavanone (pinobankcine-3-propanoate) | |
| - 3,5,7- trihydroxy flavone (galangine) | 0.17 |
| - 5,7-dihydroxy-3-(iso)butanoyloxyflavanone (pinobankcine-3-isobutanoate) | 0.73 |
| - 5,7-dihdroxy-3-(iso)pentanoyloxyflavanone (pinobankine-3-isopentanoate) | 0.05 |
| - 5,7,4'-trihdroxy flavanone(naringenine) | 0.04 |
| - 3,5,7,3',4'- pentahdroxy flavone (quercetine) | 0.07 |
| - Quercetine methyl ether | 0.13 |
| - 3,5,7,3',4'- pentahydroxy flavones | 0.12 |
| | 0.15 |

**Figure 18 :** Les flavonoïdes identifiés dans la propolis. **(Shiva et al., 2006)**

**Remarque : TIC :** caractérise la substance mais il ne permet pas de quantifier.

L'étude réalisée par **(Kumazawa et al., 2004),** confirme que la teneur en flavonoïdes dépend de la région botanique comme il le démontre le tableau suivant.

Résultats approuvés lors d'une autre étude réalisée sur la propolis de la Kerrie, qui montre une teneur en flavonoïdes totale allant de 16 – 136 mg EQ / g de propolis **(katalinic et al., 2006).**

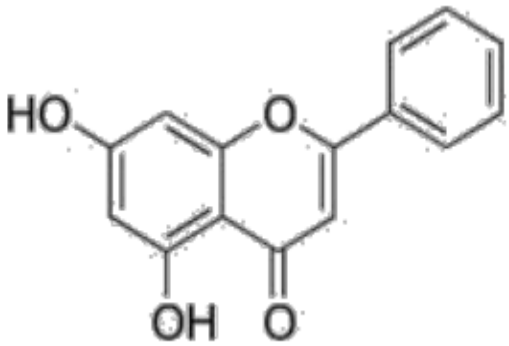



**Figure 19 :** Formule chimique de la Pinocembrine **(**http://miel-et propolis.e-monsite.com (5/8/2018)

- Les principaux composants responsables de l'activité antifongique et l'activité antibactérienne sont : - les flavonoïdes tels que la Pinocembrine ou encore la Pinobanksine.

### I.2.3 Conservation de la propolis

La propolis se conserve assez facilement, dans de bonnes conditions, sans précautions.

Avant extraction, la propolis est généralement conservée au congélateur (-18°C) avant d'être pulvérisée **(Popova et al., 2005)** ou simplement conservée à température ambiante à l'obscurité **(Barbarić + et al., 2011).**

Après extraction, les échantillons sont conservés secs, soit dans des récipients opaques, bien fermés et à l'abri de la lumière et de la chaleur (à 10 ou 12°C de préférence), soit au réfrigérateur (4°C) **(Ahn et al., 2007 ; Barbarié et al., 2011),** ou soit encore au congélateur (20°C) **(Raghukumar et al., 2010).**

De nombreuses expériences ont montré que le stockage de longue durée de la propolis ne diminue pas sa teneur en composants chimiques, ni ses activités biologiques.

**Définition**

Le terme argile trouve son origine dans le mot grec argilo dérivé d'Argos qui signifie blanc, puis sa traduction en latin : argilla. Cette nomination par les anciens est semble-t-il due à la couleur du matériau utilisé en céramique.

L'argile brute contient généralement des particules élémentaires dont le diamètre des grains est inférieur à 2 micromètres (2 um) qui représente les individus cristallins (phase minérale pure) appelés minéraux argileux responsable de ses propriétés tel que le gonflement, la plasticité et les propriétés d'adsorption. Mais dans les sols, ces particules élémentaires sont en général liées entre elles par des ciments de nature très diversee (carbonates, composés organiques, composés minéraux amorphes ou oxydes et hydroxyde de fer et d'aluminium, quartz felspaths) au sein d'agrégat de tailles beaucoup plus grandes**.**



**Figure 20 :** Photo origine de propolis

## I.3 L'Origine d'Argile

### I.3.1 L'héritage

Le minéral argileux est directement issu de la roche mère sans modification de ses caractéristiques cristallochimiques. C'est un minéral argileux primaire (micas et illite de plusieurs dizaines de microns ; chlorite trioctaédrique). **(H. Fabien. 2008)**

### I.3.2 La transformation

Les conditions de surface entrainent une modification des caractéristiques cristallochimiques du minéral argileux, néanmoins sa structure de base originelle reste conservée. **(H. Fabien. 2008)**

### I.3.3 La néoformation

Les conditions de surface entraînent la dissolution des minéraux primaires contenus dans la roche mère (argileux et/ou non argileux). Les cations et anions issus de cette dissolution passent dans la solution du sol. Si les conditions de nucléation et de croissance d'un minéral argileux sont réunies, un nouveau minéral argileux est formé dans le sol. Le minéral argileux est dans ce cas un minéral argileux secondaire néoformé (kaolinite des sols latéritiques, smectite des vertisols en bas de topo séquence). **(H. Fabien. 2008)**

### I.3.4 Formation des argiles

Les argiles naissent du sol en constant mouvement. Elles apparaissent selon trois grands processus de formation, juxtaposables. Le premier est relatif à la simple décomposition des roches par érosion. Les phénomènes caractérisant une érosion des sols sont nombreux. La pluie, le vent, le gel, le dégel, les vagues et bien d'autres sont autant de phénomènes naturels à l'origine de la formation des argiles. Le deuxième processus est appelé néoformation. Ceci correspond à la formation du minéral. Par combinaison, des substances transportées par l'eau du sol vont, par combinaison, s'arranger pour former une structure minérale. Le troisième mécanisme correspond au processus de transformation des minéraux évoluant par dégradation (perte d'équilibre du sol) ou aggradation (accumulation de sédiments dans un cours d'eau par excès de transport par l'eau) d'ions minéraux argileux **(F. Villieras, 2008)**

Les roches argileuses sont présentes presque partout à la surface de la planète, mais leurs propriétés et leur composition diffèrent selon les conditions dans lesquelles elles se sont formées. L'altération de diverses roches, de part les temps géologiques, sont à l'origine des différentes argiles. C'est un ensemble qui caractérise l'argile, le type de roche dont elle est issue, le climat, la topographie du sol, … Un climat froid provoquera une altération faible de la roche. Les minéraux argileux auront donc une composition similaire à celle des minéraux provenant de la roche d'origine. C'est le cas des illites et des chlorites. Un climat à la fois chaud et humide va entrainer une forte hydrolyse voyant l'obtention des kaolinites et des smectites. Un climat tempéré verra un processus d'altération dit modérer s'opérer sur la roche. Il en résultera la création d'argiles de types illites, chlorites ou encore vermiculites. La topographie des sols peut également jouer un rôle dans la composition de l'argile. Une zone pentue prévoit un fort drainage de l'eau, entraînant la formation de kaolinite. Inversement, un milieu confiné, comme retrouvé dans les cuvettes, produira des smectites par phénomène de concentration. Ces

différents processus de formation des argiles sont dits d'altération. Les argiles provenant de la dégradation des roches sont des argiles résiduelles. Les roches vont s'accumuler par érosion éolienne ou hydrique entrainant la formation des argiles**. (P. Andrianne, 2003)**

Les argiles fibreuses quant à elles proviennent de croutes de calcaires. Ces zones présentant un climat sec, sont riches en sels. Elles peuvent se former en solution, par une richesse ionique**. (P. Andrianne, 2003)**

Une argile néoformée peut évoluer avec son milieu. La transformation va se réaliser par soustraction ou fixation d'ions. Une kaolinite peut donc devenir un chlorite et des smectites, des illites. **(P. Andrianne, 2003)**

### I.3.5 Structure minéralogique des agriles

#### I.3.5.1 Minéraux argileux

Les minéraux argileux sont des silicates hydratés (il s'agit généralement de silicates d'aluminium mais parfois de silicates de magnésium) dont la structure feuilletée permet de les ranger dans la famille de phyllosilicate. **(M. Mohamed, 2005)**

Les phyllosilicate sont pour la plupart des aluminosilicates (oxydes de silicium et d'aluminium). Comme le sont également les zéolites et sont classés en fonction de leur structure microscopique obtenue par diffraction de rayon X. **(R. Benjamin ,2007)**

La figure 21 explicite la terminologie utilisée pour définir la structure des argiles.

On distingue quatre niveaux d'organisation :

- Les plans : sont constitués par les atomes.
- Les couches : association de deux plans d'atomes d'oxygène et/ou d'hydroxyle formant des couches de tétraèdre ou des couches d'octaèdre.
- Les feuillets correspondent à des combinaisons de couches.
- L'espace interfoliaire : c'est le vide séparant deux feuillets de même structure, il peut être occupé par des cations (éventuellement hydratés).
- Le cristal : résulte de l'empilement de plusieurs couches**. (B.Mohamed Réd, 2010)**

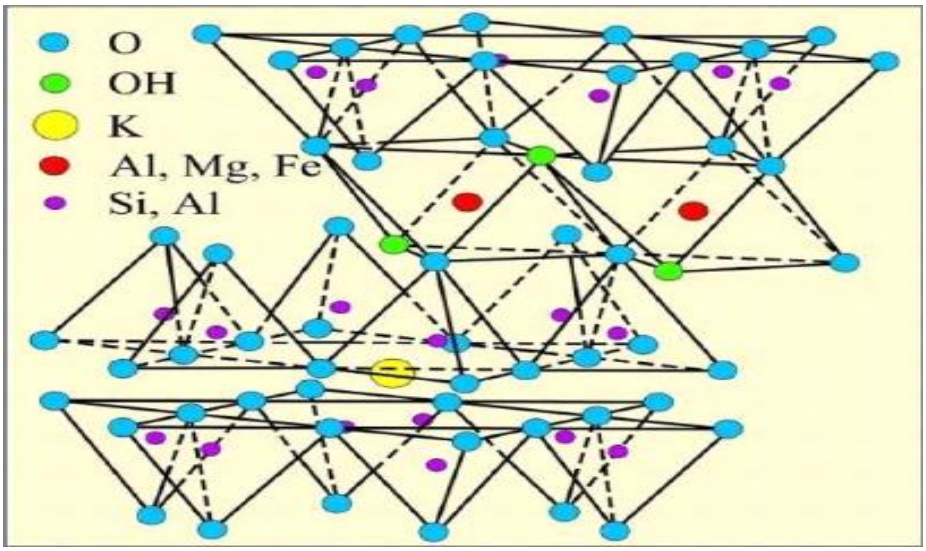



**Figure 21 :** Représentation schématique de l'empilement des feuillets unitaire dans une argile (cas d'une smectite). **(M. Mohamed, 2005)**

### *a) La couche du tétraèdre de silice*

Dans l'élément tétraédrique, l'ion central est la silice (Si+4) qui est entouré par 4 ions d'oxygène (O-2) (figure 21). Les tétraèdres sont liés ensemble par leurs bases en partageant un ion d'oxygène entre deux tétraèdres pour former une couche tétraédrique. La formule générale de cet ensemble est n [(Si2O5) -2]. **(M.Lakhdar, 2006)**

### *b) La couche d'octaèdre d'aluminium*

Dans l'élément octaédrique, l'ion central est soit un ion d'aluminium (Al+3), soit un ion de magnésium (Mg+3). Ces derniers sont entourés par six ions d'hydroxyde (OH-) (Figure 22). Les unités octaédriques sont liées ensemble de telle sorte que chaque groupement fonctionnel (OH-) est partagé entre 3 unités octaédriques. La formule générale de ce groupement est n [Al2(OH) 6] ou n[Mg3(OH)6]. **(M.Lakhdar, 2006)**

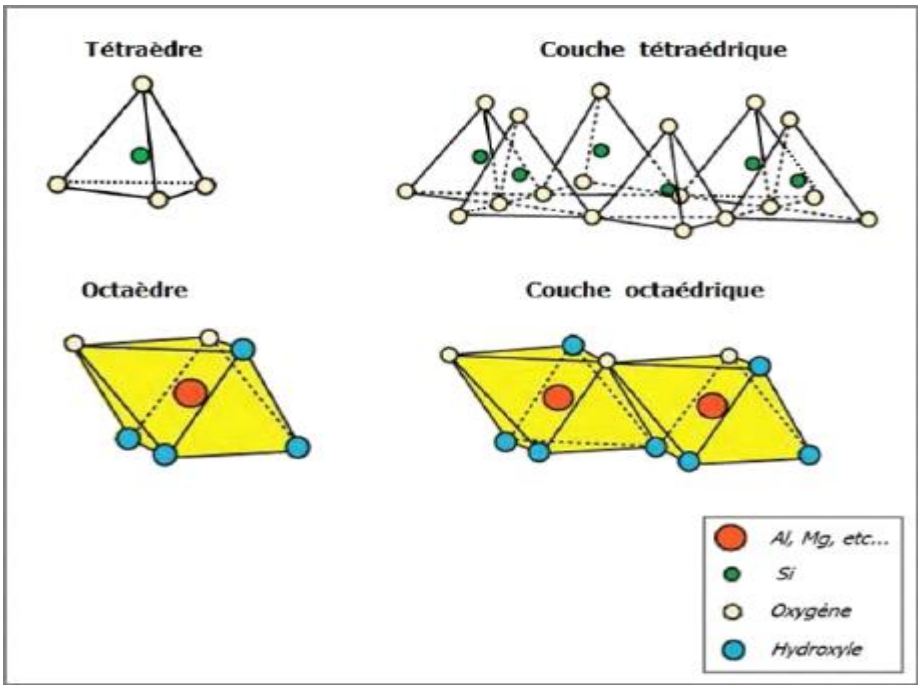



**Figure 22 :** Représentation des tétraèdres et des octaèdres **(G. Mathieu, 2008)**

### I.3.6 Classification des minéraux argileux

La classification des argiles et leur nomenclature dépendent de leurs compositions chimiques et de l'ordre structural. La classification adoptée par le comité de nomenclature de l'Association Internationale pour l'Etude des Argiles (AIPEA) varie avec les données structurales. Suivant le mode d'agencement des tétraèdres et des octaèdres on distingue 2 grandes familles de minéraux : 1) Les minéraux fibreux qui sont des espèces à pseudo feuillets, par exemples les palygorskites (attapulgite) et les sépiolites. 2) Les minéraux phylliteux à structures lamellaires. Ces derniers sont les plus répandus et les plus étudiés. Leur classification est basée sur le mode d'association des couches structurales et le degré d'occupation des sites de la couche octaédrique (di ou tri octaédrique). Selon la séquence d'empilement des couches tétraédriques et octaédriques on distingue des minéraux de type 1/1 (T-O), 2/1 (T-O-T) et 2/1/1(T-O-T-O) (tableau 4). (**K. Charradi, 2010).**

**Tableau 4 :** Classification des minéraux argileux selon la proportion et la composition des couches T et O. **(S.DROUIN, 2007)**

| Type d'argile | Formule structurale | Charge à compenser | Groupe | Famille |
|---|---|---|---|---|
| | M2-3 Si2O5 (OH) 4 | 0 | Kaolinite Serpentine | Dioctaédrique Trioctaédrique |
| 2 / 1 | M2-3 Si4 O10 (OH) 2 | 0 | PyrophylliteTalc | Dioctaédrique Trioctaédrique |
| | | 0.25-0.6 | Smectite | Dioctaédrique Trioctaédrique |
| | | 0.6-0.09 | Vermiculite | Dioctaédrique Trioctaédrique |
| | | 1 | Mica | Dioctaédrique Trioctaédrique |
| | | 2 | Mica cassant | Dioctaédrique Trioctaédrique |
| 2 / 1 / 1 | M2-3 SiO10 (OH) 2 -M- (OH) 2-3 | Variable | Chlorite | |

**1-Minéraux de type TO**

Le feuillet est formé par la juxtaposition d'une couche tétraédrique et une couche octaédrique. Les cristallites des minéraux de type TO ont leurs feuillets successifs empilés de telle sorte que le plan des atomes d'oxygène d'un feuillet se trouve en face de celui des groupements d'hydroxyles du feuillet voisin. Des liaisons hydrogènes inter feuillets stabilisent alors l'empilement (figure 23). Cet assemblage peut se faire pour différentes positions des deux plans, ce qui entraine des déplacements relatifs des feuillets et détermine le système cristallin du minéral **(B. Mohamed Réda, 2010)**

L'ensemble des charges est reparti de telle sorte que le feuillet est électriquement neutre. La cohésion des feuillets est assurée par des ponts hydrogènes. Dans ce sous-groupe d'argiles, on peut citer la famille des kaolinites (la kaolinite, la dickite et la nacrite) et l'halloysite. **(G. Mathieu, 2008).**

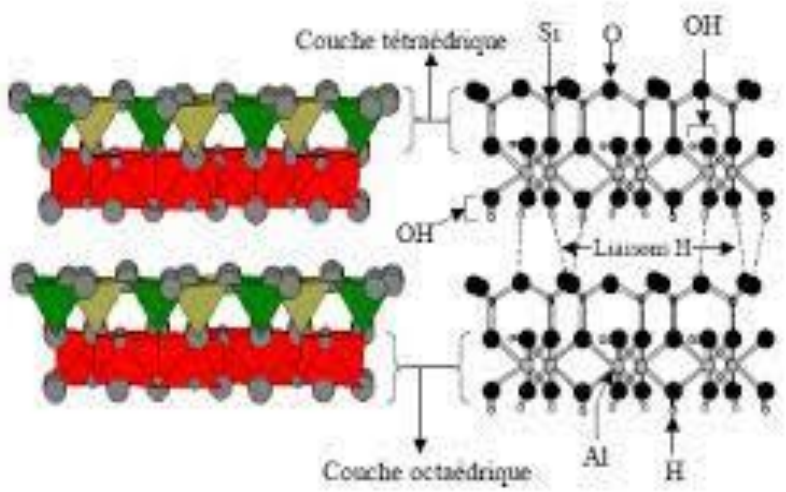



**Figure 23 :** Représentation des empilements de tétraèdres siliceux et d'octaèdres alumineux d'un minéral de type TO. **(B. Mohamed Réda, 2010)**

**2-Minéraux de type TOT**

Ce type de minéraux résulte de la combinaison d'une couche octaédrique placé entre deux couches tétraédrique (figure 24). Les minéraux présentant cette structure sont très nombreux, car les substitutions sont fréquentes aussi bien dans la couche tétraédrique que dans la couche octaédrique, ce qui entraine la présence de déférents cations nécessaires à la neutralisation électrique. La nature de ces cations et leur liaison plus ou moins intime avec le feuillet qu'ils relient, multiplient l **(B. Mohamed Réda, 2010).**

Les espèces chimiques et modifient les propriétés physicochimiques des minéraux et l'équidistance caractéristique varie de 9.4 à 15A selon le contenu de l'inter feuillet et a ce type correspond les groupes du talc, des smectite, des vermiculites et des micas. **(B. Mohamed Réda, 2010).**

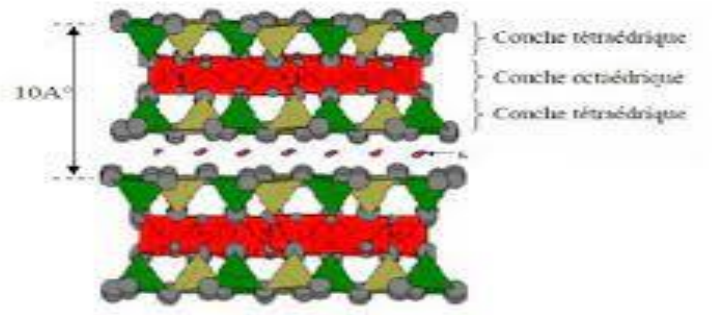



**Figure 24 :** Représentation schématique des empilements de tétraèdres Siliceux et d'octaèdres alumineux d'un minéral de type TOT **(B. Mohamed Réda, 2010)**

**3-Minéraux type TOTO**

Ces minéraux sont issus de la combinaison de deux couches octaédriques avec deux couches tétraédriques. La charge du feuillet est compensée par une couche interfoliaire d'octaèdre contenant des atomes d'aluminium et/ou de magnésium (figure 25). **(B.Mohamed Réda, 2010)**

L'équidistance caractéristique est alors d'environ 14A°, à ce type correspond le groupe du chlorite**. (A. Leila, 2011)**

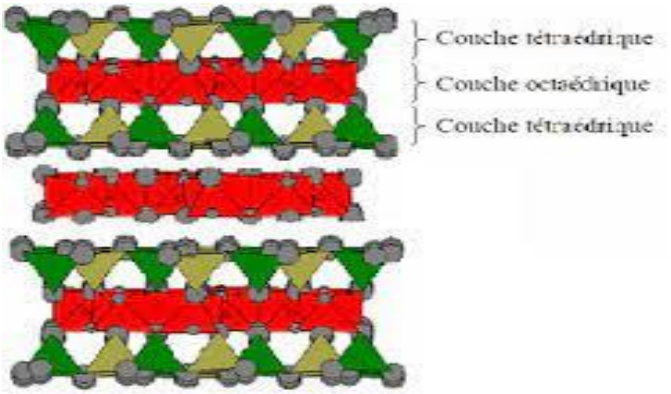



**Figure 25** : Représentation des empilements de tétraèdres siliceux et d'octaèdre alumineux d'un minéral de type TOTO. **(B. Mohamed Réda, 2010)**

**I.3.7 Histoire de l'argile**

A travers les âges mais aussi les continents, l'argile semble avoir impacté l'ensemble des Hommes, que ce soit à des fins médicinales ou pour d'autres réalisations du quotidien d'ailleurs, constructions, objets décoratifs, poterie ou bien supports d'écriture… Elles ont clairement accompagné le développement des sociétés humaines. Elles faisaient l'unanimité jusqu'à l'arrivée des imposantes industries pharmaceutiques entre le 19ème et le 20ème siècle. C'est avec bonheur que l'on assiste à un authentique retour aux sources si l'on peut dire ! Les argiles, ces produits naturels que nous offre Dame nature, ont tant à nous offrir. Et en plus, par chance, on les retrouve un peu partout sur la planète… **(Hernot, F. 2006).**

- **Avant J.-C.**

Dans l'Egypte ancienne, l'utilisation des argiles était déjà une coutume. En raison de ses propriétés purifiantes, absorbantes et assainissantes, les égyptiens l'utilisaient pour la momification des corps. **(Hernot, F. 2006).**

La fameuse “boue du Nil” était une matière largement utilisée lors de cette pratique. Avant les égyptiens, il semblerait que les premières momies connues soient les “chinchorros” en provenance du Chili. **(Hernot, F. 2006).**

Environ 7000 ans avant Jésus-Christ, la momification chilienne consistait à éviscérer le corps du défunt et à vider son crâne avant d’enduire ses os d’argile. Cette reconstitution de la morphologie initiale est l’une des premières empreintes des argiles dans l’Histoire ! **(Hernot, F. 2006).**

De ce temps, l’argile était également présente dans la pharmacopée comme en témoigne les papyrus retraçant histoires de l’humanité et remèdes ô combien naturels ! Brûlures, plaies, maux d’estomac, diarrhées, l’argile, parmi tant d’autres remèdes, a su faire sa place pour soulager de nombreux maux. **(Hernot, F. 2006).**

Au temps de l’Antiquité Grecque et Romaine, Hippocrate le Grand (460 à 370 avant J.-C.), père de la médecine, mentionne l’utilisation de la terre de Lemnos, une île située à l’est de la Grèce au cœur de la mer Egée. Cette terre particulière s’est révélée être composée d’argiles… Et sa conquête de la notoriété était loin d’être finie **(Hernot, F. 2006).**

- **Après J.-C.**

Au 1er siècle après J.-C., notre fameuse argile fût mentionnée une nouvelle fois en tant que terre de Lemnos, par Pline l’ancien (23 à 79 après J.-C.), un naturaliste romain et écrivain, dans sa fameuse encyclopédie “Histoire naturelle”. Puis après de nombreuses apparitions dans des traités de médecine et de pharmacologie, entre le 10ème et le 13ème siècle, ce sont de grands naturopathes allemands qui ont participé, bien plus tard, à une véritable renaissance de l’argile à des fins médicinales ! Au 19ème siècle, Sébastien Kneipp (1821 à 1897) un prêtre allemand s’est fait connaître grâce à ses thérapies naturelles. Parmi elles, on retrouve les cataplasmes à base d’argile et de vinaigre… De nos jours, la méthode Kneipp, axée sur 5 grands piliers que sont l’hydrothérapie, la phytothérapie, l’activité physique, un régime sain et le rétablissement d’un équilibre, est largement reprise dans des établissements de bien-être et de santé. D’autres naturopathes allemands comme Louis Kuhne (1835 à 1901) ou encore le pasteur Emanuel Felke (1856 à 1926), ont perpétué, au fil des années, le recours à des remèdes naturels comme les argiles. D’ailleurs, un autre allemand, (décidément ils sont en avance sur nous à ce niveau…) Julius Strumpf médecin berlinois, utilisa avec succès de l’argile blanche pour traiter une forme de choléra asiatique. **(Hernot, F. 2006).**

- **De nos jours**

Aujourd'hui, après des années mises de côté, C'est le cas pour les pays comme la France pratiquant la médecine dite moderne car pour d'autres pays l'usage de l'argile n'a jamais disparu… En effet, à Madagascar par exemple, (oui c'est un exemple qui nous est cher) la médecine traditionnelle est toujours pratiquée et les marchés malgaches recèlent de remèdes que l'on pourra qualifier de "locaux". Dans d'autres pays comme au Maroc, c'est le Rhassoul, une argile surtout utilisée pour des soins de beauté, qui fait partie intégrante de la culture. Plus largement, elle est traditionnellement utilisée en Afrique du nord lors du rituel du hammam. **(Hernot, F. 2006).**

Si l'on s'attache à la médecine actuelle dite moderne, en France l'argile a sobrement fait sa place. Et oui, le fameux Smecta® par exemple n'est autre qu'un médicament composé d'une sorte d'argile : la diosmectite. Aussi, un tout récent moyen d'employer l'argile à (re)vu le jour. Il s'agit de la fangothérapie, autrement dit le traitement par les boues. **(Hernot, F. 2006).**

## I.4 Conclusion

Avant de choisir les composants et les principes actifs il faut étudier leurs propriétés et leur effet sur la peau, et pour produire une crème anti-acné il faut savoir les problèmes liés à là de cicatrisation et l'acné pour les résoudre.

La propolis, ou « colle d'abeille », est l'un des produits de la ruche, autre que le miel bien connu des apiculteurs. La propolis a montré son efficacité contre une variété de bactéries, de virus, de champignons et de moisissures. Elle s'est même avéré être un immunostimulant non spécifique **(Castaldo et al., 2002).**

# *Chapitre II*

# *Propriétés pharmacologique et toxicologique*

## Introduction

Dans ce chapitre on va mentionner et étudier les propriétés pharmacologiques ainsi que toxicologique des différents composants afin de savoir les principes actifs responsable de ces propriétés et ces mécanismes d'action.

## II.1 Helix Aspersa

Mucus H Aspersa Müller a déjà été rapporter comme ayant différents propriétés, telles que l'activité cicatrisante**. (Bortolotti D et al, 2016)** et la réparation des plaies**. (Trapella C et al, 2018).**

L'analyse biochimique de H. Aspersa mucus a montré la présence de mucopolysaccharide qui permet une grande liaison hydrogène avec les molécules d'eau adjacentes, ce qui conduit efficacement à l'hydratation des tissus environnants. **(Trapella C et al, 2018).**

De plus, il stimule la synthèse endogène d'hyaluronate, entraînant une augmentation de la capacité de rétention d'eau et de la viscoélasticité de la peau. En outre, la présence de mucopolysaccharide pourrait améliorer l'adhérence du mucus à la peau et agir comme une barrière pour empêcher les agressions des cellules épithéliales dues à la pollution et la présence des polyphénols pourraient conférer au mucus la capacité de prévenir et de contrer les dommages cutanés oxydatifs induits par la pollution. **(Trapella. C et al, 2018) ; (Lopez Angulo.DE et al, 2016).**

Le mucus de H. Aspersa Müller aurait plusieurs propriétés thérapeutiques, stimule la prolifération des fibroblastes et réarrangement du cytosquelette d'actine. Mécanismes supplémentaires impliqués dans l'effet régénérateur de la bave inclus la stimulation de l'assemblage de la matrice extracellulaire et la régulation des activités métalloprotéinases. L'ensemble, ces effets fournissent un éventail de mécanismes moléculaires sous-jacents la régénération cellulaire induite par la bave et postulent son utilisation dans régénération des tissus blessés. Le vieillissement cutané est le résultat d'un processus complexe, des facteurs génétiques, chronologique et environnementale (en particulier le rayonnement UV) sont impliqués. Le vieillissement cutané se manifeste par des rides, une intégrité structurelle diminuée et la cicatrisation des plaies altérées en raison d'altérations de processus de

remodelage de la matrice extracellulaire (MEC). Le collagène et l'élastine confèrent la force et leur dégénérescence avec le temps fragilise la peau, et vieilli en apparence.

**(MC Daniel. D et al, 2018) ; (Valacchi. G et al, 2012) ; (Weber. SU et al, 2001)**

De nombreux facteurs peuvent affecter la régénération de la peau. La présence d'agents pathogènes dans la lésion peut nuire à la régénération, et d'autres facteurs tels que les espèces réactives de l'oxygène peuvent également jouent un rôle négatif dans ce processus**. (Valacchi. G et al ,2015)**

De plus, les fibroblastes dermiques doivent proliférer et migrer dans le tissu lésé, recouvrant la lésion et manipulant la MEC (« remodelage de la matrice ») pour assurer la formation de cicatrices et favoriser la cicatrisation, un processus compromis par le vieillissement cutané. **(Br. J Dermatol, 2011)**

### II.1.2 le rôle de la bave d'escargot dans la prolifération cellulaire

Pour étudier le rôle possible de la bave sur la prolifération cellulaire un examen microscopique de cultures de cellules ensemencées à faible densité, les monocouches de fibroblastes traitées avec Helix Complex (400 g/ml) ont atteint une confluence complète après 48 heures, tandis qu'au même moment, les cultures non traitées apparaissaient toujours comme des monocouches sous-confluentes **(Fig.18)**

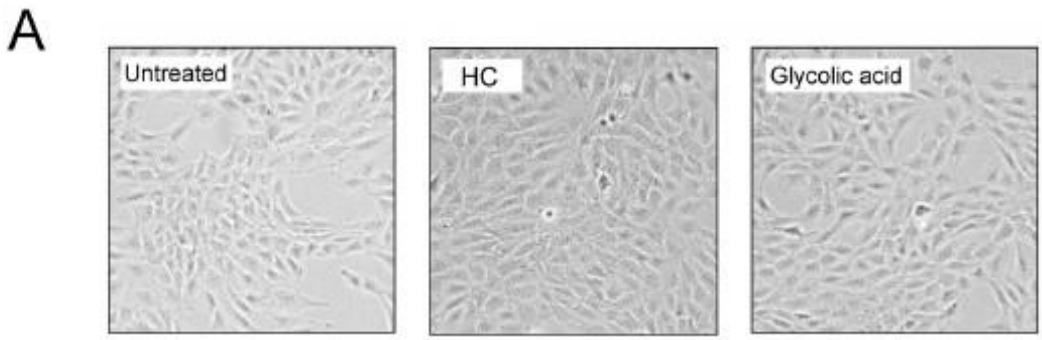



**Figure 26 :** Images représentatives prises par microscopie optique de monocouches de fibroblastes non traités ou traités à la bave d'escargot ou à l'acide glycolique (0,1 mM) à 48 heures. Grossissement 100x (**Claudio Trapella et al, 2018)**

La capacité à favoriser la prolifération cellulaire a été finement évaluée en utilisant une analyse en temps réel basée sur le xCELLigence technologie (Roche). Comme le montre la figure 26, aux moments examinés, la bave d'escargot (400 g/ml) a induit une prolifération des fibroblastes significativement plus élevée par rapport aux cultures non traitées ($p < 0,05$) et est restée plus élevée 24/48 heures de traitement jusqu'à confluence monocouche. **(Kim S. J et al, 1998)**

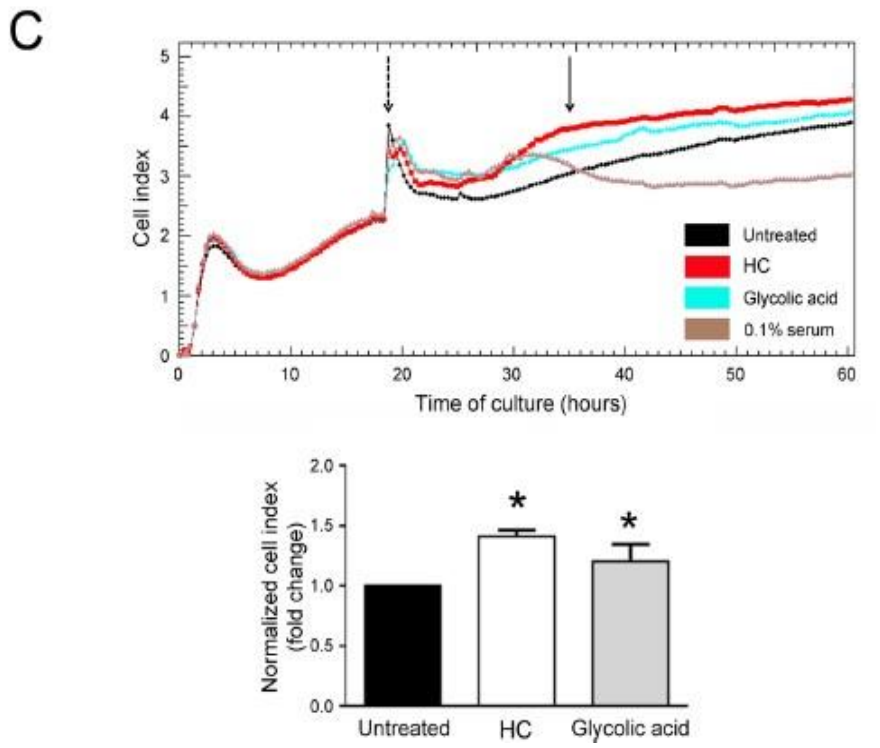



**Figure 27 :** L'évaluation de la prolifération cellulaire. **(Claudio Trapella et al ,2018)**

Les fibroblastes ont été traités avec la bave d'escargot ou glycolique acide et surveillé pour la prolifération avec le système xCELLigence. Panneau supérieur : tracé représentatif de l'indice cellulaire des fibroblastes traités avec HelixComplex ou l'acide glycolique. Des fibroblastes cultivés dans un milieu de famine (0,1 % de sérum) ont été utilisés comme contrôle négatif de la prolifération. **(Deb, A et al, 2014)**

La flèche en pointillé indique le temps pendant lequel les traitements ont été ajoutés aux cultures cellulaires. La flèche indique l'heure à laquelle l'indice de cellule a été quantifié. Panneau inférieur : Quantification de l'indice cellulaire à 16 heures après le traitement (normalisé par rapport à 0 heure) et exprimé en pli de modulation par rapport aux cultures non traitées fixées à 1. (**Claudio Trapella et al, 2018).**

En parallèle, des fibroblastes ont été cultivés avec de l'acide glycolique (0,1 mM) utilisé comme contrôle positif pour sa capacité connue à induire la prolifération cellulaire11. Fait intéressant, les effets induits par l'HelixComplex en termes de prolifération des fibroblastes étaient comparables, voire supérieurs, à ceux induits par l'acide glycolique.

### II.1.3 la bave d'escargot favorise la migration cellulaire et la réparation des plaies

Dans les expériences suivantes, nous avons exploré les effets potentiels de HelixComplex sur la motilité cellulaire. Les résultats de l'expérience de migration réalisée à l'aide de l'analyseur en temps réel xCELLigence ont clairement indiqué que les fibroblastes ont répondu à HelixComplex en tant que stimulus attractif d'une manière dépendante du temps induisant une réponse de migration cellulaire plus efficacement ($p < 0,05$) que le contrôle. **(Shah, J. M et al ,2012)**

Considérant que la migration des fibroblastes est un processus pertinent se produisant pendant la réparation de la plaie, nous avons ensuite effectué des tests de grattage classiques pour évaluer davantage le potentiel de cicatrisation de HelixComplex (**Fig. 19 B).**

Les données obtenues à partir de ces expériences ont renforcé les données de migration, montrant une fermeture plus rapide de la rayure, avec un nombre significativement plus élevé ($p < 0,05$) de cellules présentes dans la zone de rayure dans les cultures exposées à la bave d'escargot. **(Shah, J. M et al ,2012)**

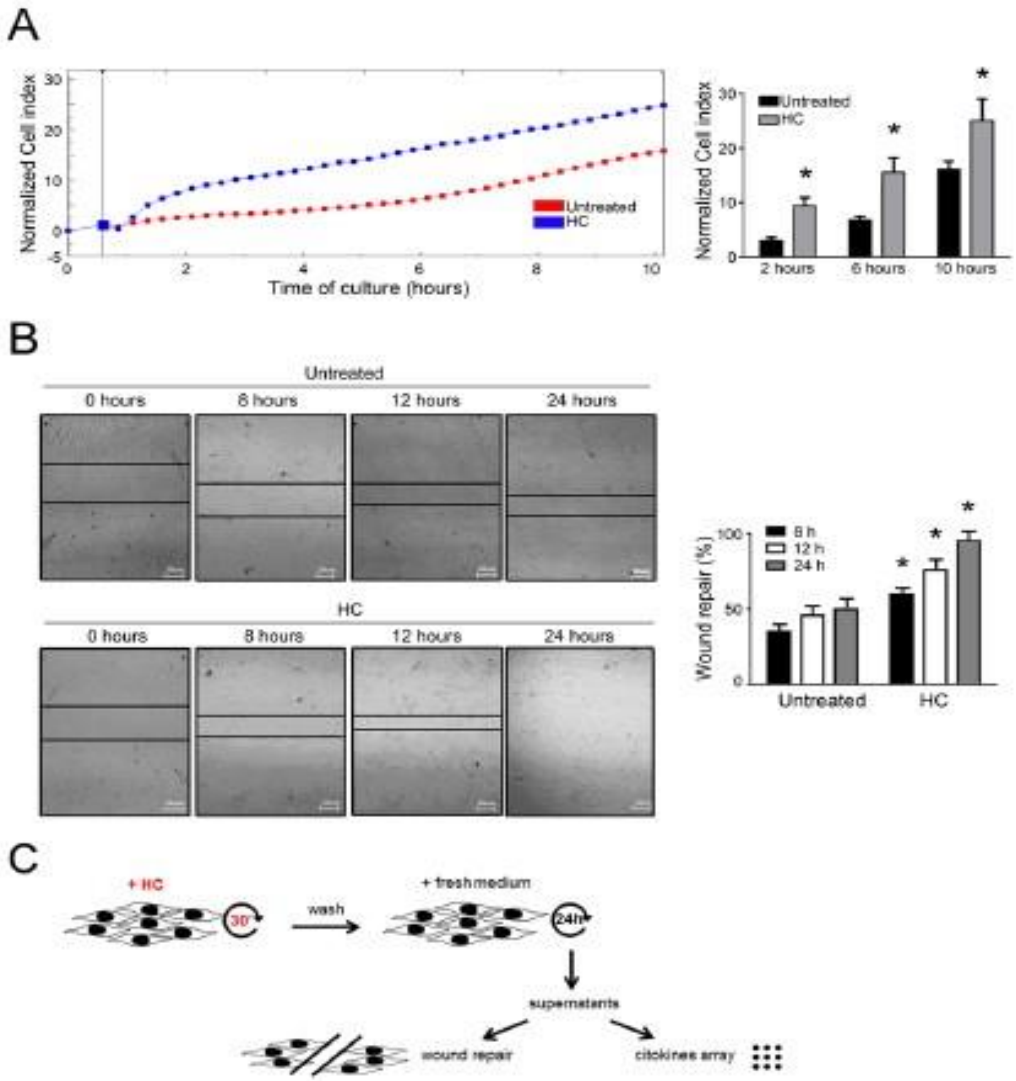



**Figure 28 :** HelixComplex favorise la migration cellulaire et la réparation des plaies. Suivi dynamique des fibroblastes, migration en réponse au traitement HelixComplex (400 µg/ml) par xCELLigence et scratch assays. **(Claudio Trapella et al ,2018)**

Dans (**A**) les fibroblastes ont été ensemencés dans la chambre supérieure et surveillés pour la migration à travers la chambre inférieure en réponse à HelixComplex avec le système xCELLigence. Panneau de gauche : un graphique représentatif de l'indice de cellule (Normalisé à la première lecture de la plaque) des fibroblastes migrés est montré. Panneau de droite : Index des cellules quantification à différents moments après le début de la migration (normalisée à la première lecture). **(Deb, A et al, 2014)**

En (**B**) essai de cicatrisation par éraflure. Panneau de gauche : images représentatives prises aux points de temps indiqués après les blessures sont affichées. Panneau de droite : quantification de la réparation de la plaie aux moments indiqués exprimés en pourcentage de réparation de la plaie par rapport au point de temps de 0 heure. En (**C**) une représentation schématique de les expériences réalisées avec des surnageants de fibroblastes brièvement exposés HelixComplex. (**Claudio Trapella et al, 2018)**

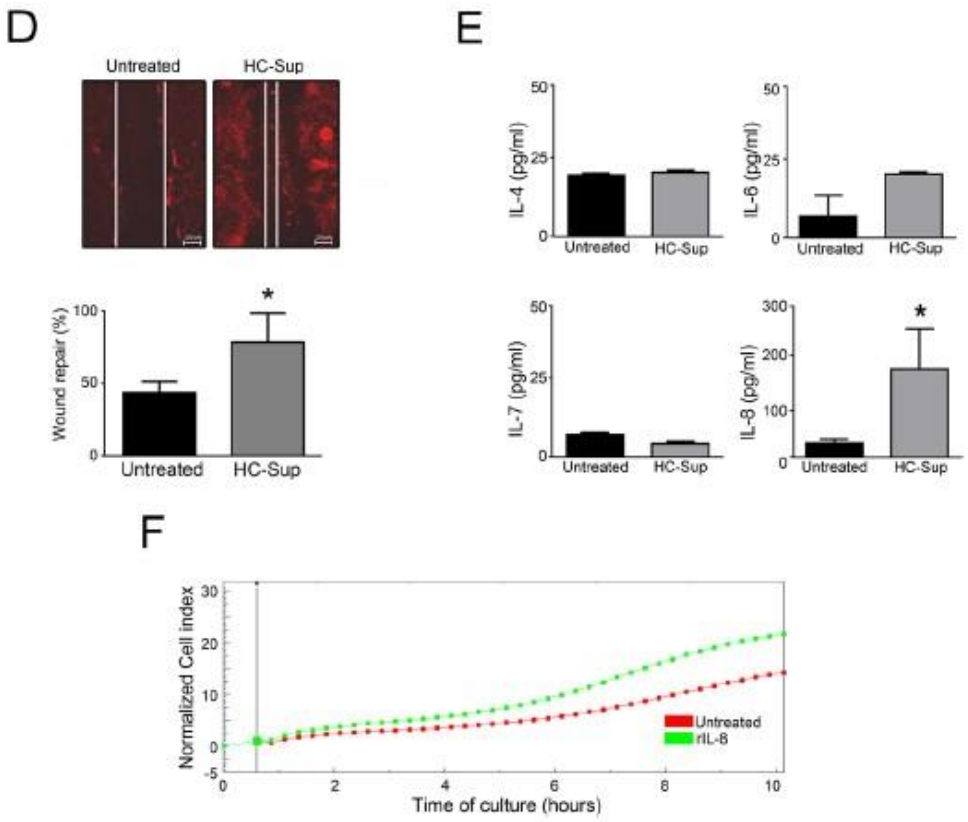



**Figure 29 :** La bave d'escargot stimule la régénération et la cicatrisation. (**Claudio Trapella et al, 2018)**

En **(D)** rayé les fibroblastes ont été traités avec des surnageants de cultures de fibroblastes brièvement exposés à la bave d'escargot .Et observé 24 heures après la blessure. Panneau supérieur : images d'immunofluorescence de migrations actives fibroblastes colorés pour l'actine endogène (coloration rouge). Les lignes indiquent l'étendue de la fermeture de la plaie. Barres d'échelle 20 µm. **(Kim, S. J et al ,1998)**

Panneau du bas : quantification de la réparation de la plaie exprimée en pourcentage de réparation par rapport à la Point de temps de 0 heure. En (E) les histogrammes représentent les cytokines détectables dans les surnageant de fibroblastes 24 heures après une courte exposition à HelixComplex. Dans (F) les fibroblastes ont été ensemencés dans la chambre supérieure et surveillés pour migration à travers la chambre inférieure en réponse à l'IL-8 humaine recombinante (rIL-8) avec le xCELLigence système ; un tracé représentatif de l'indice cellulaire (normalisé à la première lecture de la plaque) des fibroblastes migrés est montré. Les données sont rapportées sous forme de moyenne ± SD des résultats d'au moins trois expériences indépendantes. L'astérisque indique $p < 0,05$ par rapport aux cultures non traitées. **(Kim, S. J et al ,1998)**

## II.2 La propolis

La propolis est largement utilisée dans plusieurs domaines tels que :

### II.2.1 Cosmétique

La propolis et ses extraits ont été largement utilisés dans la dermatologie et la cosmétique **(Lejeune. B et al., 1988)** Ses effets sur la régénération et la rénovation des tissus ont été bien étudiés. Avec ses caractéristiques bactéricides et fongicides, elle offre de nombreux bénéfices dans diverses applications **(R. KRELL., 1996).**

### II.2.2 Médecine

La propolis est utilisée dans divers traitements tels que :

- Les problèmes cardio-vasculaires
- Appareil respiratoire (pour diverses infections)
- Soins dentaires
- Les ulcères
- Les infections des muqueuses et les lésions
- Le cancer

Elle est utilisée aussi dans le soutien et l'amélioration du système immunitaire **[Neumann. D et all., 1986].**

### II.2.3 Technologie alimentaire

Les activités antioxydantes, antifongiques et antibactériennes de la propolis lui offre une place de choix dans ce domaine. Les résidus des propolis semblent avoir un effet généralement bénéfique sur la santé humaine. Cependant, seulement très peu d'études ont été faites sur les effets secondaires possibles sur la plus grande consommation des propolis. D'après la littérature, certains composants identifiés dans les propolis peuvent être très préjudiciables à la santé humaine **(R. KRELL., 1996).**

La propolis peut être utilisée comme préservatifs en matériel d'emballage de nourriture. Elle est aussi utilisée pour la prolongation de la vie d'entreposage en congélation des poissons **(Mizuno. M et all., 1987).**

### II.2.4 Effet biologique

#### II.2.4.1 Effet antibactérien

L'activité bactéricide de la propolis et/ou de ses constituants est la plus largement documentée. Cette activité à large spectre a été démontrée sur des bactéries Gram et Gram (de type anaérobie et aérobie) mais avec une plus grande efficacité sur les souches Gram+ **(koo H et al., 2000).**

Parmi les bactéries inhibées, on retrouve des streptocoques (Streptococcus mutans responsable des caries dentaires), des staphylocoques (Staphylococcus aureus) **(Kim et al., 2011)**, des Bacilles (cereus et subtilis), des Salmonella **(Donadieu, 2008)**, des microcoques et ainsi sur Helicobacter pylori (responsable d'ulcères gastroduodénaux**) (Farseni et al., 2009)**.

On attribue cette activité au groupe de flavonoïdes, aux composés phénoliques, mais aussi aux molécules aromatiques, aux acides diterpéniques, acides caféique, férulique, gallique, salicylique...etc. **(Bankova et al., 1996 : Boukrai et Sulaiman. 2009 : Ramanauskiene et Inkénienė, 2011).**

Cependant, le mécanisme d'action est encore mal compris. Des chercheurs japonais pensent que l'inhibition de la croissance bactérienne serait due à la destruction de leur paroi empêchant ainsi leur division cellulaire **(Domerego et al., 2009).**

Des tests cliniques in-vitro ont montré que la propolis stimulait l'activité des bactériophages des phagocytes et les rendait deux fois plus actif. Cette action ne rencontre pas de résistance naturelle de la part de ces souches courantes **(Senne, 2010).**

Il a également été montré que la propolis, lorsqu'elle est prise en association avec certains antibiotiques (comme l'amoxicilline, l'ampicilline, la gentamycine, le chloramphenicol, etc.), augmente l'efficacité de ces derniers **(Sforcin et Bankova, 2011).**

**a) Action antivirale :**

L'action antivirale de la propolis a été montrée sur les poliovinus, les virus de type herpès (par des esters de l'acide caféique), les adénovirus **(Donadieu, 2008)**, le vinis de la grippe HINI **(Apimondia, 2001 : Takemura et al., 2011)**, de l'hépatite B **(Apimondia. 2001)** et de la stomatite vésiculaire **(Donadieu, 2008)**.

Il existe des propolis ne contenant que peu de flavonoides mais ayant néanmoins une action antivirale. Ce serait plutôt les naphtoquinones et les sesquiterpenes qui seraient responsables de cette action **(Apimondia, 2001)**

**b) Action antifongique et antimycosique :**

Les effets antimycosiques de la propolis résultent de l'activité de substances multiples telles que la Galangine, le Kaempférol, la Pinocembrine et l'acide caféique. Cette activité s'exerce sur plusieurs espèces de champignons parasites générateurs de mycoses, notamment ; le genre Candida et, plus particulièrement, le Candida albicans les Trichophytons les Microsporum Canis et Cryptococcus **(Apimondia, 2001 ; Donadieu, 2008)**.

Les mécanismes ne sont pas complètement élucidés. La principale hypothèse évoque une action antifongique par inhibition de la réplication de l'ADN et donc une inhibition de la division cellulaire. De plus il existe une action antifongique indirecte par stimulation du système immunitaire et plus particulièrement des macrophages **(Martin et al., 2002).**

**c) Action antiparasitaire :**

La propolis s'est révélée être efficace sur certains parasites. Une action antiparasitaire a été démontrée in vitro sur de nombreux parasites : Trypanosomas, Leishmanias, Giarda lamblia, Giarda intestinalis, Trichocephalus dispar, Trichomonas vaginali...etc**. (De Castro et Higashi, 1995 ; Abdelfattah et al., 2007).**

Toxoplasma gondii n'échappe pas au spectre large de la propolis. Cette dernière agirait sur la croissance du toxoplasme, l'empêchant de synthétiser ses protéines. Les principes actifs n'ont pas encore été identifiés. La propolis a également une action sur certains vers comme les genres Ascaris, Tenia et Enterobius **(Apimondia, 2001).**

**d) Action antioxydante :**

L'activité antioxydante d'un composé ou d'un extrait correspond à sa capacité à diminuer ou à empêcher les réactions d'oxydation **(Popovici et al., 2009).** La propolis possède une activité antioxydante démontrée lors de l'opposition à la lipoperoxydation dans différents organes (foie, rein, poumon, cerveau) ce qui préviennent les dommages des radicaux libres **(Kumazawa et al., 2004 ; Yang et al., 2011)** et la modulation de l'expression des enzymes antioxydantes « catalase, superoxyde dismutase, glutathion peroxydase **(Okutan, 2005).**

Les composés antioxydants responsables de cette activité sont principalement les vitamines E et C. les flavonoides et les polyphenols le CAPE, le kaempferol mais aussi les acides cinnamiques : caféique, p-coumarique et ferulique **(Kumazawa et al., 2004).**

Les effets de la propolis ont été mis en évidence dans la cataracte et dans la protection du LDL-cholesterol contre la peroxydation (qui favorise l'artériosclérose) ce qui permet de considérer la propolis comme agent de prévention de la dégénérescence **(Apimondia, 2001).**

**e) Action anti-inflammatoire :**

L'effet anti-inflammatoire de la propolis est dose-dépendant. Son mécanisme est sensiblement proche de celui de l'aspirine. Les extraits aqueux montrent de meilleurs résultats et de nombreux flavonoides y coopèrent certainement **(Borrelli et al., 2002).**

Deux mécanismes anti-inflammatoires de la propolis ont été identifiés :

- Le premier mécanisme consiste en une inhibition de l'activation de certaines molécules du système immunitaire (IL-6) et inhibition de certaines enzymes impliquées dans la voie métabolique l'inflammation « <cyclo-oxygenase, lipo-oxygénase, de myélopéroxydase, NADPH-oxydase, ornithine decarboxylase » **(Khayyal et al., 1993).**
- Le second mécanisme implique le CAPE, qui intervient comme un puissant modulateur du métabolisme de l'acide arachidonique, composé à l'origine de la synthèse des leucotriènes et prostaglandines **(Rossi et al., 2002).**

**f) Action immunomodulatrice :**

La propolis possède une action immunomodulatrice in vitro et in vivo sur l'ensemble des cellules immunitaires impliquées dans la réponse innée ou acquise **(Park et al., 2004 : Orsatti et al., 2010).**

- **Action sur les macrophages :**

Elle stimule le pouvoir de présentation des macrophages, leur activité lytique et des Natural killers contre les cellules tumorales **(Sforcin, 2007).**

- **Action sur les lymphocytes et la production d'anticorps :**

Elle augmente la production de cytokines pro-inflammatoires (TNF-a. IL-6, IL-8), renforce la coopération entre les lymphocytes CD4 et CDS et stimule la production d'anticorps par les plasmocytes **(Orsi et al., 2000 : Sforcin, 2007).**

Ses effets biologiques bénéfiques sur le système immunitaire existent en partie grâce au dérivé de l'acide caféique (CAPE) **(Apimondia, 2001).**

**g) Action anticancéreuse :**

Les propriétés anti-carcinogènes de la propolis et de ses principaux constituants ont été signalées dans de nombreux travaux scientifiques réalisés sur l'animal. Les résultats montrent un effet antiprolifératif vis-à-vis d'un très grand nombre de lignées tumorales (sang, peau, côlon, sein, poumon, pancréas, foie, rein, prostate, cerveau) **(Watanabe et al., 2011).**

Selon **Orsolic (2010),** l'activité chimio préventive de la propolis dans les modèles animaux et les cultures cellulaires par :

- Leur capacité à inhiber la synthèse d'ADN dans les cellules tumorales.
- Leur capacité à induire l'apoptose (mort cellulaire) des cellules tumorales.
- Leurs propriétés à activer les macrophages, par production des facteurs capables de réguler la fonction des cellules B. T et NK.

L'inhibition du processus tumoral serait due à Des agents cytotoxiques naturels ont présentent dans la propolis, comme les flavanones, l'artèpilline C. les diterpenoides qui induisent l'apoptose des cellules cancéreuses et notamment le dérivé de l'acide caféiques : le CAPE. **(Chen et al., 2011).**

**h) Action cicatrisante et régénératrice :**

La propolis accélère la régénération des tissus abimés (pulpe dentaire, tissus hépatiques, osseux). Ces actions sont dues à l'activité antioxydante des flavonoides qui piègent les radicaux libres ainsi qu'à des acides phénoliques et certains acides aminés comme la choline (dans la division donc le renouvellement cellulaire) ou la proline (dans la synthèse de collagène, de l'élastine et de facteurs intervenant dans l'élasticité de la peau) **(Blanc, 2010).**

La propolis restructure les membranes capillaires cutanées et la néoformation vasculaire, stimulant les processus métaboliques au niveau cellulaire et tissulaire, lutte contre l'hypoxic tissulaire, réactive les processus enzymatiques et aide à la reformation de la substance fondamentale **(Apimondia. 2001 : Domerego et al., 2009).**

**e) Action analgésique-anesthésiante :**

La propolis est un puissant anesthésique **(Metzner et Schneidewind, 1997 ; Burdock, 1998)**. Les études ont démontré que cette résine est 52 fois plus puissante que la cocaïne, et sans effets secondaires dans les tests sur les cornées de lapin **(Ghisalberti, 1979).**

Cette action est vraisemblablement liée à l'activité des huiles volatiles de la propolis, mais est indépendante d'un mécanisme central, comme pour la morphine**. (Apimondia, 2001).**

## II.3 L'argile

En industrie pharmaceutique Dans le domaine Vétérinaire Utilisation comme anti-mottan

Des chercheurs ont démontré qu'une alimentation contenante 5% d'argile stimule la croissance des ovins, ayant également un effet sur le métabolisme du rumen**. (D. Ouachem et coll, 2005)** Le talc est saupoudré à la surface des aliments comme par exemple la nourriture pour animaux pour ses propriétés "anti-mottante" c'est-à-dire qu'il évite l'agrégation des croquettes les unes aux autres permettant le stockage, de même pour les chewing-gums et les bonbons. (**F. Villieras, 2008)**

### II.3.1 Utilisation comme excipient

La nourriture du bétail est enrichie en argile, généralement des bentonites, comme excipient liant. Sous forme de pastilles ou comprimés, les bentonites, utilisées pour leur fort pouvoir absorbant, sont incorporées à la pâtée en vue de l'épaissir. Elles forment 1,5 à 3% des rations. **(Schake, L.M. et B.E. Garner, 1976).**

### II.3.2 Utilisation comme immuno-stimulant

L'ajout de kaolin à l'eau d'élevage de truites arc-en-ciel va diminuer les pathologies brachiales par diminution des protozoaires colonisant les branchies. **(Goldes-SA et coll, 1988)**

### II.3.3 Utilisation comme purifiant intestinal

Une étude prouve que l'administration de smectite chez le chien (chien de traîneau dans l'étude) élimine la diarrhée dans 90% des cas. **(Grandjean et alii, 1992)**

**Humaine, Base diagnostique, thérapeutique Traitement de la sphère digestive**

Les argiles, ou silicates d'alumine, sont retrouvées en pharmacie en tant que médicaments destinés à traiter certaines pathologies de la sphère digestive. Les modalités d'action des smectites suivantes sont étudiées : **(J. Allègre, 2012)**

• Bédélix® (bedeillite) (traitement symptomatique du syndrome du côlon irritable)

• Gélox® (traitement symptomatique des manifestations douloureuses au cours des affections œsophageo-gastro-duodénales)

• Smecta® (traitement de la diarrhée aiguë et chronique chez l'adulte et chez l'enfant, traitement symptomatique des douleurs liées aux affections oeso-gastro-duodénales et coliques)

### II.3.4 Le mécanisme d'action des smectites agit sur différentes cibles

**• Action sur les mucus**

L'argile s'y lie, et, en 20 minutes, le mucus voit son épaisseur augmenter, permettant d'une part la protection du mucus, d'autre part la protection de la paroi digestive contre les molécules corrosives et les radicaux libres **(A. Leonard et coll., 1994) (J.P. Pearson et coll,1996)** la liaison des cristaux d'argile au mucus améliore ses caractéristiques rhéologiques (viscosité, hydrophobie, polymérisation des glycoprotéines, adhésion à la paroi du tube digestif) et diminue sa dégradation. **(M.T. Droy-Lefaix et coll., 1985) (K. Gwozdinski et coll., 1997)** Ce renforcement bloque l'action des cytokines inflammatoires entrainant la disjonction des cellules, **(L. Mahraoui et coll., 1997)**, protège la paroi de l'éthanol et des AINS (Anti-Inflammatoire Non Stéroïdiens) et va jusqu'à traiter les gastropathies induites par ces molécules. **(A. Leonard et coll., 1994)**

**• Action sur la pepsine**

Si sécrétée en trop grande quantité, pouvant entrainer l'apparition de gastrites, d'ulcères digestifs, d'hémorragies, peut être inhibée par l'argile. Un gramme d'argile type kaolinite va adsorber 0,20g de pepsine. **(A. Leonard et coll., 1994)**

**• L'acidité gastrique**

Les protons H+ sont neutralisés par la capacité échangeuse d'ions de l'argile, captant les protons du milieu. • Un excès de trypsine pancréatique est fixé par l'argile. **(H.J. Samson et coll., 1995)**

**• Les toxines bactériennes**

Celles-ci vont être emprisonnées dans la structure des argiles. Le traitement du choléra en Allemagne par le professeur Stumpf en 1906 par la kaolinite l'a prouvé pour la toxine cholérique. **(M.Y Brouillard et coll., 1989)**

**• Les virus**

Ils vont être capturés rapidement par les feuillets d'argile pour ensuite être éliminés dans les selles. **(S.M. Lipson et coll., 1984)** Des essais cliniques en double aveugle ont prouvé que l'argile diminuait la durée des diarrhées et la fréquence des selles chez l'adulte **(F. Khediri et coll., 2011)** et l'enfant**.**

**• Les gaz intestinaux**

Les smectites adsorbent liquides et gaz, dont le méthane libéré par la flore digestive. **(B. Meknini et coll., 1994)**

**• Les bactéries**

Helicobacter pylori se fixe sur l'épithélium digestif, la smectite diminue ce phénomène, **(F. Bonneville et coll., 1990)** elle sera donc efficace comme traitement de dyspepsies induites par cette bactérie. Plusieurs espèces bactériennes (Staphlococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa, Salmonella typhimmurium, ...) sont neutralisées par différentes argiles diluées à 10mg/10mL. Des bactéries résistantes à des antibiotiques (E. coli productrice de β-lactamase à spectre étendu ESBL, et Staphylococcus aureus méthicilline résistant MRSA) sont également anéanties avec différentes sortes d'argiles. **(L.B. Williams et coll., 2010)**

Un recueil relaté dans la thèse de **Jade Allègre (2012) explique le mécanisme d'action** des argiles sur la destruction des bactéries : « Les premiers travaux sur cette bactéricidie évoquent un mécanisme lié au fer ferreux et à la production de radicaux hydroxyles, selon la réaction de Fenton. La réaction de Fenton est une réaction d'oxydation avancée aboutissant à la formation du radical hydroxyle OH, qui est le deuxième oxydant le plus puissant présent dans la nature après le fluor (la réaction de Fenton constitue de nos jours une méthode efficace permettant de lutter contre les micropolluants organiques présents dans les effluents industriels et agricoles et, plus généralement, pour le traitement des eaux usées).**(Jade Allègre ,2012)**

Or, selon **Michel Rautureau**, toutes les argiles contiendraient également du fluor, en remplacement d'oxygènes ou d'hydroxyles, pour un pourcentage pouvant s'élever à 5%. En effet, le rayon atomique de l'ion fluor, 36 Angströms, est très voisin de celui de l'oxygène et de l'hydroxyde qui est de 40 Angströms **(Linus Pauling, Nature de la liaison chimique, Paris, PUF 1949, page 381).**

Le lixiviat de ces argiles « tueuses » est aussi efficace que le minéral lui-même contre les bactéries, et garde cette efficacité pendant plusieurs mois. La concentration en fer à l'intérieur des bactéries E.coli tuées est multipliée par 8 par rapport aux témoins, la concentration en fer globale de la bactérie étant vingt fois plus élevée. Ces études ont été entreprises en vue d'applications d'argiles par voie externe sur plaie infectée. » **(J. Allègre, 2012)**

Une étude comparative a été réalisée in vitro sur 8 argiles ou anti-acides apparentés contenant de l'aluminium. La capacité de fixation de ceux-ci est comparée à la capacité de la cholestyramine à se fixer aux acides biliaires ainsi qu'à la lysolécithine. C'est la mesure du pH final qui a été prise en compte. Les capacités de fixation dépendaient : - de leur composition, - de leur effet anti-acide, - du pH du milieu. La lysolécithine est captée par l'argile et la cholestyramine à la même intensité, et plus faiblement par les anti-acides contenant de l'aluminium. La fixation des acides biliaires est dépendante du pH (un pH initial égal à 1,8 offre une meilleure adsorption des sels aux différents principes actifs avec une intensité variant selon la molécule). **(J. Vatier et coll., 1989)**

**Traitement de l'ulcère de Buruli (propriété cicatrisante)**

Une étude de l'OMS, présentée par le professeur Carbonnelle du laboratoire de bactériologie du CHU d'Angers en 2002, a été réalisée sur l'ulcère de Buruli et son traitement par l'argile. Ce type d'ulcère est une infection due à une bactérie, Mycobacterium ulcerans, qui

ronge les tissus cutanés, musculaires et osseux. Il est retrouvé dans plus de 25 pays. Des milliers de personnes sont atteintes chaque année en Afrique de l'Ouest par cette maladie. Cette bactérie va ronger les chairs pendant des semaines voire mois s'il n'y a pas de réponse immunitaire. L'ulcère va grandir jusqu'à cesser d'évoluer sans explication. Toute médication est inefficace sur les cas avancés, néanmoins elle peut arrêter la progression de la maladie si elle est administrée à un stade précoce. C'est un médecin australien qui a mis en évidence le rôle de la bactérie dans l'ulcère de Buruli. Line de Courssou, infirmière, est l'instigatrice du traitement de l'ulcère de Buruli à base de cataplasmes d'argile, en Côte d'Ivoire. Elle a commencé à utiliser cette thérapeutique il y a 25 ans, lorsqu'elle a rencontré des malades présentant des « ulcères sans fin ». Ce traitement comprend de l'illite verte (de chez Argiletz) ainsi que de la montmorillonite (de chez Argicure). Ces argiles sont d'origine française, les lots reçus sont préalablement analysés par le Laboratoire d'Hygiène et de Recherche en Santé Publique de l'Université H. Poincaré - Nancy 1 certifiant l'absence de contamination selon les paramètres biologiques. Seuls des matériaux en verre (saladiers) et en bois (spatules, …) sont utilisés pour la préparation des cataplasmes. Le traitement commence par une déparasitassions du malade ainsi qu'une alimentation hyper protéinée et un apport en fer. Les soins ne sont pas réalisés dans un cadre stérile. L'argile est préparée la veille et sera appliquée en cataplasme de 2cm d'épaisseur. L'équipe de soins change les cataplasmes d'une à trois fois par jour, le nettoyage se fait via l'eau du puit et la détersion des plaies avec de l'eau argileuse (10% du volume d'argile). A un certain stade d'évolution de la détersion les cataplasmes d'illite sont remplacés par des cataplasmes de montmorillonite. La montmorillonite est moins absorbante que l'illite et plus adsorbant et reminéralisante. La montmorillonite régénère les tissus et stimule leur auto-guérissons par des échanges ioniques. Une fois l'ulcère propre il est nettoyé au sérum physiologique. **(Kingsyle et alii 2002)**

L'argile respecte le vivant, les tissus ne sont pas altérés par le cataplasme, au contraire, ils sont régénérés. En ce qui concerne l'ulcère, l'argile a plusieurs effets, une résorption des œdèmes en deux à trois jours voire moins, une disparition ou une ouverture des nodules qui ensuite subissent le même processus que l'ulcère. Le traitement va provoquer une détersion des plaques, ceci est mal vécu par les patients qui voient un ulcère apparaitre et éjecter les chairs en décomposition libérant également une odeur. L'argile va permettre une détersion dite « vigoureuse mais non agressive » de l'ulcère par élimination des nécroses tout en protégeant les parties saines. L'argile agit comme capteur d'odeur des chairs en décomposition. Les bactéries et toxines sont absorbées par l'argile. Le traitement par cataplasme caractérise une absence

d'hémorragie, uniquement la présence de filaments de sang coagulés. Cette méthode est apparentée à la médecine ancestrale, dont l'efficacité est appréciée aux vues des résultats. **(Kingsyle et alii 2002)**

L'argile, dans le traitement de l'ulcère de Buruli, présente de nombreux avantages dont : le non nécessité de chirurgie, un traitement non invasif, de faible coût de soins (0,50€/jour et par malade), une résorption rapide des œdèmes, le respect des tissus vivants, le traitement de tous les types d'ulcères même les formes les plus avancées, de faibles douleurs contrairement aux pansements, plus de transfusion sanguine, plus d'hémorragie, plus d'anesthésie, plus d'angoisse de la chirurgie. **(Kingsley et alii, 2002)**

**. En agroalimentaire**

L'agile capte et élimine 81% des microcystine-LR hépatotoxines (pouvant provoquer une nécrose hépatique) présentes dans l'eau à l'état naturel. Elle peut donc être utilisée pour filtrer l'eau dans le but d'un approvisionnement en eau potable. L'alimentation des animaux d'élevage est enrichie d'argile pour absorber les aflatoxines (molécules cancérigènes) synthétisées par une mycobactérie retrouvée dans les arachides. **(T.C. Schell et coll., 1993) (T. D. Phillips et coll., 1995)** Une étude prouve la non toxicité de la consommation d'argile sur le court terme. Des essais cliniques ont été réalisés pour assurer que l'argile offre une réelle protection chez l'homme contre une exposition aux aflatoxines **(T. D. Phillips, 1999) (T. D. Phillips et coll., 2008)**

**. En tant qu'antipoison**

La smectite, en tant qu'antipoison, est particulièrement efficace pour adsorber le paraquat, puissant herbicide. **(V. Theodorou et coll., 1994)**

Cette adsorption se réalise dans la lumière intestinale, dans le cas du paraquat qui subit le cycle entéro-hépatique, il peut être adsorbé lors de son retour dans le tube digestif et donc sa réabsorption intestinale sera bloquée. La smectite s'est prouvée efficace pendant dix heures après sa prise sur l'adsorption intestinale du paraquat. L'argile est également efficace contre la strychnine (1g de kaolinite peut adsorber jusqu'à 480mg de ce poison retrouvé dans la "mort aux rats"). **(M.T. Droy-Lefaix, 1985)**

**. En association à certains médicaments**

L'argile, par ses pouvoirs absorbant et adsorbant, interagit avec les minéraux, oligoéléments, des principes actifs médicamenteux dans la lumière intestinale. Une

administration concomitante de cimétidine et d'argile entraine une fixation de la cimétidine sur les feuillets empêchant son absorption. Une étude in vitro démontre que le kaolin altère de 30% la biodisponibilité de la quinine. **(V. Minnich et coll., 1968)**

**En association à certaines molécules**

L'argile absorbe également les métaux lourds, toxiques pour l'organisme, tels que le plomb ou le chlorure de mercure. La biodisponibilité de certains minéraux comme le fer, le magnésium ou encore le calcium peut être modifiée par la présence d'argile dans la lumière intestinale. Echangeuse d'ions, l'argile interfère avec le fer qu'elle va fixer dans le tube digestif, sous forme de complexes insolubles et libérer du calcium ou du magnésium. Cela peut entrainer l'apparition d'une carence en fer et une augmentation des taux de magnésium et calcium. Une étude prouve que l'absorption de fer est diminuée par une fixation de la molécule sur l'argile. **(V. Minnich et coll., 1968)**

Une administration d'argile modifie la kaliémie pouvant entrainer l'apparition d'une hypokaliémie par fixation du potassium dans la lumière intestinale, empêchant son absorption. **(J.J. Gonzalez et coll., 1982)**

**Absorbante et Adsorbante**

**L'absorption** correspond à l'internalisation d'un liquide ou d'un gaz. L'exemple typique est celui de l'éponge s'imbibant de liquide. Au niveau de l'argile ce phénomène est passif, il se produit par capillarité, contrairement à l'absorption au niveau du tube digestif. Les argiles les plus absorbantes ne sont pas conseillées en usage interne. Le risque de constipation est trop important. Elles sont généralement utilisées comme capteur de liquides et d'odeur (entrent dans la composition des litières) ou comme détachant. **(J.J. Gonzalez et coll., 1982)**

**L'adsorption** est une autre qualité des argiles. Contrairement au phénomène d'absorption qui internalise les molécules (à l'état liquide ou gazeux), l'adsorption correspond à la fixation de molécules en surface. Elle s'applique également aux liquides et aux gaz. Cette fixation peut être ionique, électrostatique ou encore relative aux tensions superficielles. Deux types d'adsorptions sont identifiés. Le premier est physique, par la formation de complexes avec des molécules organiques, les liens électrostatiques entre les feuillets et les cations inter foliaires étant très faibles (liaisons de Van der Waals), ils permettent la fixation de molécules organiques externes. Le second l'adsorption chimique, qui relève des liaisons ioniques, est la majeure partie du

pouvoir adsorbant. Les argiles étant chargées négativement à l'intérieur et positivement en surface, Les atomes de silicium (Si) et aluminium (Al), à l'intérieur de la structure, sont positifs. Les ions oxygène (O) et hydroxyles (OH) aux sommets de la structure sont négatifs. Ces ions négatifs à la surface du feuillet sont fixés à des atomes de sodium (Na), chargés positivement argile utilisée en thérapeutique (exemple : Smecta®). Les argiles peuvent donc adsorber des toxines, virus, bactéries, antibiotiques, acides organiques, gaz intestinaux, alcaloïdes, … Elles ont un rôle anti-infectieux par fixation des microorganismes qui seront ensuite éliminés dans les selles. Leur efficacité est démontrée pour certaines espèces bactériennes (se reporter au chapitre 3), également comme détoxiquant par élimination de toxines. Pour exemple, la strychnine (Alcaloïde indolique extrêmement toxique) est neutralisée jusqu'à 250mg/g d'argile. **(J.J. Gonzalez et coll., 1982)**

**En soin thérapeutique**

### II.3.5 Pour les peaux grasses et acnéiques

L'argile possède des capacités absorbantes et adsorbants utiles pour réguler la quantité de sébum excrété par la peau. Une étude in vivo sur 20 sujets réalisée par le biais de mesures de sécrétion de sébum via un sébum être, a révélé une réduction de 86 % de la quantité de sébum après application d'un masque pendant 10 minutes. Des études scientifiques ont également révélé que l'argile verte avait des effets anti-inflammatoires intéressants en cas d'acné ou plus largement en cas de problèmes de peau. Cet effet anti-inflammatoire semble comparable à une molécule médicamenteuse, l'indométacine. L'argile grâce à ses propriétés nettoyantes et absorbantes. (**Carretero, M. I. 2002)**

Les produits à base d'argile aux propriétés curatives, destinés à une application topique en balnéothérapie, dermopharmacie et dermocosmétique, ont été mis au point par Gomes et Silva, 2007. L'un d'eux contient un mélange de bentonite de l'île de Porto Santo (dans l'archipel de Madère) avec du sable carbonaté biogène de Porto Santo. La bentonite joue le rôle d'un excipient, favorisant l'adhésion du composant actif (dans ce cas, le sable) à la peau. Le sable de carbonate biogène contient des éléments tels que Ça, Mg et Sr, qui sont libérés dans la peau d'une manière contrôlée jusqu'à ce qu'ils atteignent la matrice extra-cellulaire, où les produits chimiques métaboliques et cataboliques cellulaires circulent également. **(Bernardos et all, 2019)**

Régénérant, anti-âge : L'argile est reconnue pour ses propriétés régénérantes cutanées ; elle possède des propriétés cicatrisantes, détoxifiantes, anti-âge et anti-inflammatoires. Elle garantit une amélioration de la synthèse de collagène pour un effet anti-rides reconnu.

**(Junqueira LC et all, 1979)** dont la silice biogène (le composant actif), la bentonite raffinée de Porto Santo et l'hydroxyde de sodium (conditionneur de pH). Selon eux, le silicium fourni par la silice biogène est essentiel à la synthèse des fibres de collagènes de type 1 ainsi qu'une meilleure migration des cellules. **(International Journal of Pharmaceutics, Jemima Daniela Dias Moraes et all, 2017)**

# *Chapitre III*

# *Matériel et Méthode*

# Introduction

Cette étude a été réalisée au sein du laboratoire Saidal, Médéa (laboratoire Microbiologie / physico-chimique).

L'objectif de notre travail est la formulation d'une crème cicatrisante à base de la bave d'escargot, propolis et l'argile, on va faire une Etude de caractérisation des paramètres physicochimique et microbiologique de ces matières, ainsi que leurs pouvoirs anti-microbiens.

## III.1 Matériel

### III.1.1 Matériel biologiques

#### III.1.1.1 Matériel animale

La collection de l'escargot utilisé dans cette expérience provenait de la wilaya de Médéa

#### III.1.1.2 Animaux de test

Les effets de la crème, ont été testes sur les animaux suivants :
Lapin de rac local d'environ 1 kg. Les lapins à une température interne de 39°C, et la température optimale de son environnement est de 28° à 30°C.



**Figure 30 :** Lapin de race local **(Médéa original, 2021)**

### III.1.2 Matériel microbiologique

Les souches utilisées lors des expériences de la détermination du pouvoir antibactérien sont les suivantes (Tableau 5)

**Tableau 5 :** Souches utilisées pour l'étude du pouvoir antimicrobien (Groupe SAIDAL Médéa)

| La souche | Code |
|---|---|
| ***Escherichia Coli (E Coli)*** | ATCC 8739 |
| ***Staphylocoques aureus (S aureus)*** | ATCC 6538 |
| ***Bacillus subtilis (B sub)*** | ATCC 6633 |
| **Candida albicans** | ATCC 10231 |
| **Pseudimonas aeruginosa** | ATCC 9027 |

### III.1.3 Matériels non biologiques

Notre étude nécessite l'utilisation de certains appareillages, verreries, accessoires, réactifs, solution et milieux de culture. L'ensemble de ces matériels est donné

#### III.1.3.1 Appareillages

➢ Agitateur plaque chauffante (VELP SCIENTIFICA).

➢ Etuve (BINDER, MEMMERT).

➢ Balance de précision (OHAUS).

➢ Broyeur (TRISTAR de 20g).

➢ Autoclave des milieux de culture (SANO Clav).

➢ Densimètre (PAAR DMA 35).

➢ pH- mètre

➢ Conductimètre. ➢ Centrifugeuse.

➢ Etuve bactériologique.

➢ Microscope photonique.

➢ Réfrigérateur (lIEBHERR).

➢ Dessiccateur.

#### III.1.3.2 Les Produits chimiques et réactifs

**Tableau 6 :** Les réactifs utilisé (Saidal Medea, 2021)

| ***Réactifs*** | ***Propretés*** |
|---|---|
| Ethanol (C2 H6 O) | M= 46 g/mol |
| Eau distillé | M = 18 g/mol |
| Hydroxyde de potassium KOH | M=56.10g /mol |
| Le bromure de potassium KBr | M=119.002g /mol |

### III.1.4 La méthode de récupération de la bave d'escargot

L'extraction de la bave nécessite de stresser l'escargot pour avoir le meilleur rendement, par picage. Ce dernier nous permet d'avoir une bave pure. On stimule l'escargot au niveau du pied. Ce dernier commence à secréter la bave qu'on récolte dans une boite stérile.

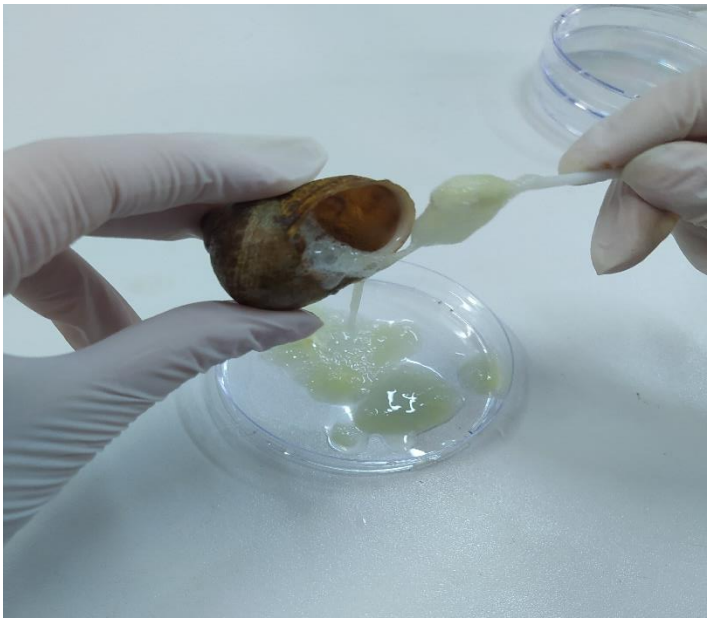


**Figure 31 :** Méthode de récupération par picage. (**Original de Médéa, 2021)**

### III.1.5 les tests physico-chimiques

#### III.1.5.1 Taux d'humidité

Le taux d'humidité a été détermine par le procèdes de séchage a l'étuve, à 105°C jusqu'l'obtention d'un poids constant. C'est méthode gravimétrique qui consiste en la détermination du poids par dessiccation **[65]. Considérons** :

$$H\% = \frac{poid\ A - poid\ B}{poid\ a} * 100 \ldots\ldots 1$$

Avec : **a :** poids de l'échantillon (la bave liquide)

**B :** poids de l'échantillon (la bave sèche)

**H**% **:** taux d'humidité exprimé en pourcentage

#### III.1.5.2 Séchage dans l'étuve a différente température.

Après la récupération de la bave d'escargot nous avons séché la bave dans l'étuve à déférentes température 25, 35, 45°C.

#### III.1.5.3 Détermination du rendement

Le rendement de bave sèche est défini comme étant le rapport entre la masse de bave avant le séchage et sa masse après le séchage.

**R= M bave sèche / M bave liquide *100 ……2**

**Avec** **R** baves sèches : le rendement (%) en bave sèche.

**M** baves sèches: la masse de bave sèche(g).

**M** baves liquides: la masse de bave liquide (g).

### III.1.6 Caractérisation de poudre de bave d'escargot

#### III.1.6.1 Analyse organoleptique

La bave d'escargot extraite a été soumis à des tests afin d'évaluer leurs caractères organoleptiques, notamment l'aspect, la couleur et l'odeur.

#### III.1.6.2 Analyse physique

##### *III.1.6.2.1 pH*

Le pH correspond au logarithme décimal négatif de la concertation en ion [H+].
Son principe est base sur la détermination, en unité de la déférence de potentiel existant entre deux électrodes plongées dans le produit à l'aide d'un pH-mètre.

***Mode opératoire***

Selon la norme NA36/1990.La mesure se fait de la manière suivante :

❖ Etalonner le pH-mètre avec deux solutions tampon, la première a pH=4 et la seconde à pH=7.

❖ Une fois l'appareil étalonne, on rince les électrodes à l'eau distillée.

❖ Verser une quantité suffisante l'échantillon dans cette solution.

❖ Lire la valeur du pH sur l'écran de l'appareil.

##### *III.1.6.2.2 La conductivité*

***Mode opératoire***

La mesure se fait de la manière suivante :

❖ Rincer la sonde du conductimètre avec de l'eau distillée.

❖ Verser une quantité suffisant de l'échantillon dans le récipient de mesure.

❖ Essuyer délicatement la sonde, la placer dans le récipient de façon à ce que le trou de la soit totalement immerge.

❖ Lire la valeur du la conductivité sur l'écran de l'appareil

***III.1.6.2.3 La densité***

La densité relative d'extrait est définie comme étant le rapport de la masse d'un certain Volume d'huile à 20°C et la masse égale de volume d'eau distillée à 20°C. Cette grandeur est sans dimension et son symbole est $d20$

***III.1.6.2.4 Teste de solubilité***

Les solvants utilisés pour solubilité d'une poudre dons l'eau.

**III.1.6.3 Détermination du différent indice**

**❖ Indice de saponification**

C'est le nombre en milligramme de potasse KOH nécessaire à la neutralisation des acides gras libres à la saponification des esters contenus dans un 1g d'une substance grasse.

***Mode opératoire***

Dans une fiole de 250 ml de verre borosilicaté munie d'un réfrigérant à reflux, introduisez la prise d'essai 1g. AJOUTES 25 ,0 ml d'hydroxyde de potassium alcoolique 0,5 M quelques d'essai billes de verre. Adaptez le réfrigérant et chauffez à reflux pendant 30 min.

Ajouterez 1 ml de solution de phénophtaléine R1 et titrez immédiatement (alors que la solution est encore chaude) par l'acide chlorhydrique 0 ,5 (V1 ml d'acide chlorhydrique 0,5 M). Effectuez un essai à blanc dans mêmes conditions (V2 ml d'acide chlorhydrique 0,5).

$$\mathbf{I = 28.05\ (V1 - V2)\ \ldots\ldots 3}$$

**Avec** V1 : volume de HCL 1N après le titrage

V2: volume de HCL à blanc.

**❖ L'indice d'acide**

L'indice d'acide correspond à masse de potasse (KOH) nécessaire pour neutraliser les acide gras contenus dans une masse précise d'huile essentielle d'Triplex hortensias est correspond à la formule suivante :

$$\mathbf{I = 5.61 * v/m\ \ldots\ldots\ldots\ 4}$$

**Avec : m** : correspondant à la masse d'huile utilise pour. V: le volume de potasse consommé lors du changement de réactifs.

***Mode opératoire***

1) Neutraliser de l'éthanol (éthanol a 95% 20°C) avec la solution d'hydroxyde de potassium (0.1 mol /L) :

2) Placer la solution d'éthanol ($C_2H_6O$) dans un bécher (le volume n'a pas d'importance) et ajouter quelques gouttes de phénolphtaléine.

3) Doser l'éthanol avec la potasse jusqu'à ce que la solution devienne rose (caractéristique d'un pH neutre).

4) Durant le dosage de l'acide par la potasse, l'éthanol (neutralise avec l'hydroxyde de potassium va jouer le rôle du solvant pour les acide gras contenus dans la bave et l'hydroxyde de potassium contenus dans la phase aqueuse)

5) Peser 1g d'de la bave dans un bécher a acide de la balance analytique.

6) A l'acide d'un éprouvette graduée de 10 ml placez 5 ml d'éthanol neutralise dans le bécher contenant la bave, ajouter 3 gouttes d'indicateur coloré au mélange réactionnel.

7) Dose le mélange réactionnel avec l'hydroxyde de potassium puis notez le volume à partir du virage de la solution titrée témoignant du changement de réactif et appliquez la formule.

❖ **Indice d'ester**

L'indice d'ester (IE) est le nombre qui exprime en milligramme la quantité d'hydroxyde de potassium nécessaire à la saponification des esters présent dans 1g de substance. Il est calculé à partir de l'indice de saponification IS et l'indice d'acide IA.

$$\mathbf{I\,E = IS - I\,A \ldots\ldots\ldots\ 5}$$

## III.2 Extraction de propolis

L'extraction n'est qu'une étape de transformation de la matière première (dans notre cas c'est la propolis) en un extrait. Toutes les étapes qui précèdent ou suivent l'extraction doivent être maîtrisées avec précision pour un produit final de qualité optimale. Dans cette optique, le découpage de la propolis a été réalisé de façon à pouvoir récupérer des morceaux très fins dans

le but d'optimiser l'extraction. Rendue en petit morceaux, subissant une extraction à température ambiante (macération). L'extrait récupéré a été pesé pour déterminer le poids sec résultant après évaporation à sec sous pression réduite.

L'extraction a été réalisée par deux solvants. Le premier est l'éthanol, et le second est l'eau distillée. Deux extraits ont été obtenus, un extrait éthanolique (EEP), et un extrait aqueux (EAP).

- **Préparation d'extrait éthanolique de propolis :**

5 grammes de propolis ont été macérés dans 25 ml d'éthanol à 70% à température ambiante pendant une semaine avec agitation de temps en temps. Après macération le mélange est chauffé au bain- marie à 70°C pendant 30 minutes puis filtré. L'extrait obtenu et appelé Extrait Ethanolique de Propolis (EEP). Cet extrait est utilisé dans la réalisation de l'aromatogramme **(SEGUENI, 2011).**

- **Préparation des extraits aqueux de propolis :**

5 grammes de propolis brute est macérés dans 25 ml d'eau distillée sous agitation pendant 48 h. L'extrait aqueux résultant est chauffé au bain- marie à 70°C pendant 30 minutes puis filtré. L'extrait obtenu et appelé Extrait Aqueux de propolis (EAP).

**1) Etude de l'activité antimicrobienne**

- **Milieux de culture**

  Soja agar

  Sabouraud dextrose agar

- **Principales espèces utilisées**

**Tableau 7 :** Les souches utilisées

| Les souches | Code | Références |
|---|---|---|
| Escherichia coli (-) | ATCC 8739 | SAIDAL Médéa |
| Staphylococcus aureus (+) | ATCC 6538 | SAIDAL Médéa |
| Bacillus subtilis (+) | ATCC 6633 | SAIDAL Médéa |
| Pseudomonas aeruginosa (-) | ATCC 9027 | SAIDAL Médéa |
| Candida albicans | ATCC 10231 | SAIDAL Médéa |

## III.3 Antibiogramme par diffusion sur milieu gélosé

- **Préparation des disques**

Des disques de 6 mm à bord régulier (pour donner une zone d'inhibition nette) sont découpés à partir du papier WATMAN n°3. Les disques sont ensuite soumis à la stérilisation, ils sont placés dans un tube en verre et autoclavés pendant 20 minutes à 120°C. Les disques sont préparés ensuite selon la méthode utilisée par TICHY et NOVAK (2000), PARK et al (2000 et 2001) où chaque disque est imprégné de 100 µl d'extrait éthanolique de propolis à 70% d'éthanol **(SEGUENI, 2011)** puis évaporé.

- **Réalisation de l'antibiogramme**

Une suspension mère est préparée à partir de quelques colonies d'une récente culture, diluées dans 10 ml d'eau physiologique. Un écouvillon stérile est imbibé dans cette suspension puis essoré un peu sur la paroi du tube. Ensuite, la gélose utilisée est ensemencée. Les disques imprégnés de l'extrait sont déposés et les boites sont incubées à 37°C pendant 24 heures. Après incubation les diamètres des zones d'inhibition sont mesurés avec précision à l'aide d'un pied à coulisse.

- Non sensible (-) ou résistante : diamètre < 8mm.
- Sensible (+) : diamètre compris entre 9 à 14mm.
- Très sensible (++) : diamètre compris entre 15 à 19mm.
- Extrêmement sensible (+++) : diamètre > 20mm.

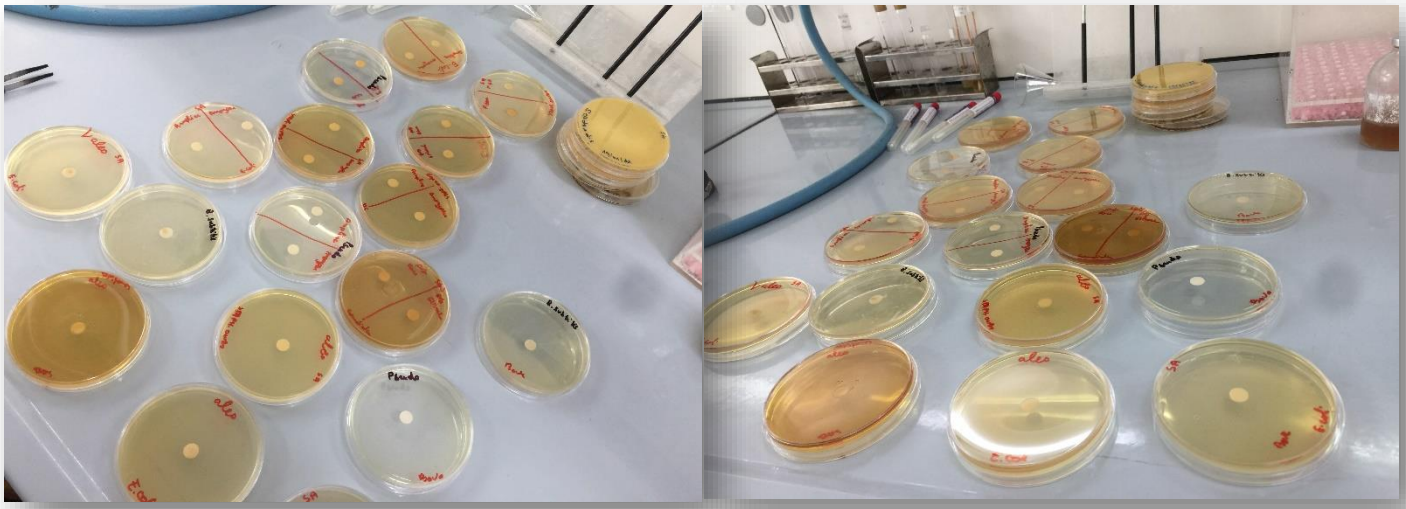


**Figure 32 :** Réalisation de l'antibiogramme laboratoire microbiologie SAIDAL, Médéa.

- **Etude de l'activité antioxydante**

L'activité antioxydante des extraits éthanoliques de la propolis est exprimée par la neutralisation des radicaux libres par la méthode colorimétrique DPPH. Le composé chimique DPPH fut l'un des premiers radicaux libres utilisés pour étudier la relation structure-activité antioxydante des composés phénoliques **(Brand-Williams, 1995).**

**Principe**

Le 1.1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl (DPPH) est défini comme radical libre stable par vertu de la délocalisation de l'électron disponible qui provoque la couleur violette profonde, caractérisée par une absorption.

Il réagit avec des groupements amines, les phénols, les acides, les composés hydro aromatiques, etc... Cette propriété est largement recommandée et utilisé dans la pratique analytique. Quand la solution de DPPH est mélangée à celle d'une substance qui peut donner un atome d'hydrogène ou un électron, alors ceci provoque la forme réduite (1,1-diphenyl-2-(2, 4,6-trinitrophenyl) hydrazine (DPPH2)) avec la perte de la couleur violette et apparition d'une couleur jaune pâle résiduelle due à la présence de groupement picryl selon la réaction suivante : **(Molyneux, 2004)**

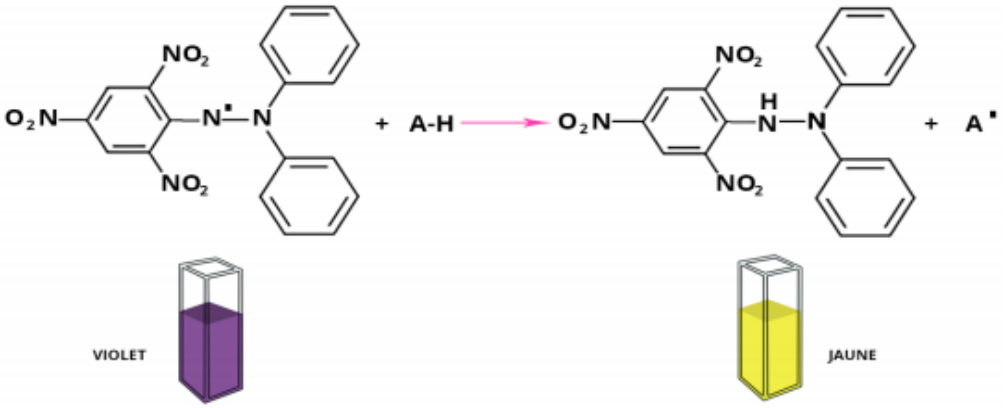



**Figure 33 :** Réduction du radical libre DPPH en DPPHH **(Molyneux, 2004)**

***Mode opératoire***

**a) Préparation de DPPH :**








**Figure 34 :** Préparation de DPPH. (Laboratoire de physico-chimique, SAIDAL MEDEA)

La préparation de la solution DPPH est de 0,004%, obtenue par dissolution de 0,004g de DPPH dans un 100ml d'éthanol.

**b) Préparation des concentrations d'extrait de propolis**

La gamme de concentration des extrait propolis (0,08mg/l. 0,07mg/l. 0.06mg/l. 0.05mg/l. 0.04mg/l. 0.03mg/l. 0.02mg/l) est préparée dans l'éthanol et l'eau distillé.

➢ **Essai au DPPH**

Dans un tube sec et stérile, on introduit 100 µl de la suspension de l'extrait et on ajoute 1 ml de solution au DPPH. Après agitation les tubes sont placés à l'obscurité, à la température ambiante

pendant 30mn. L'absorbance est mesurée contre un blanc (contient seulement 1ml de la solution DPPH 0.004%) à 517nm.

**c) Expression et résultats**

L'évaluation de l'activité anti-oxydante en utilisant la méthode DPPH est exprimée en Pourcentage selon la relation suivante :

$$\% \text{ Inhibition} = \frac{(\text{Abs Control} - \text{Abs Extrait})}{\text{Abs Extrait}} .100$$

**(Samarth R.M et al., 2008).**

Abs Contrôle : est l'absorbance du tube contrôle.

Abs Extrait : est l'absorbance de la concentration en test.

Le pourcentage d'inhibition est exprimé ensuit par la valeur de la CI50, sachant que l'IC50 est la concentration d'extrait nécessaire pour l'obtention de 50% de la forme réduite du radical DPPH **(Samarth R.M et al., 2008).**

## III.4 Spectrophotométrie d'absorption dans l'ultraviolet et le visible

La spectroscopie d'absorption dans l'UV et le visible est une méthode très commune dans les Laboratoires. Elle est basée sur la propriété des molécules d'absorber des radiations lumineuses de longueur d'onde déterminée **(L. Martinez et all., 2007).**

**Principe**

Dans une molécule, les transitions électroniques UV-visibles mettent en jeu les énergies les plus importantes de la chimie (environ de 13000 à 50000 cm-1 soit 160 à 665 kJ·mol-1). L'ordre de grandeur des énergies mises en jeu est celui des énergies de liaison des molécules et ces rayonnements peuvent parfois provoquer des ruptures de liaisons. Plus généralement, ils provoquent des transitions électroniques entre les différents niveaux d'énergie des molécules : (**anonyme06, https://fr.wikipedia.org/wiki/Spectroscopie_ultraviolet-visible).**

## III.5 Chromatographie en phase gazeuse- spectrométrie de masse GC-MS

### III.5.1.1 Analyse GC-MS

Le couplage chromatographie en phase gazeuse–spectrométrie de masse (GC-MS, figure 35) est une technique parmi les plus utilisées de la chimie analytique et la spectrométrie de masse. Elle fournit les informations nécessaires pour la détermination structurale de chaque constituant, en complément de l'identification.

**a. Principe**

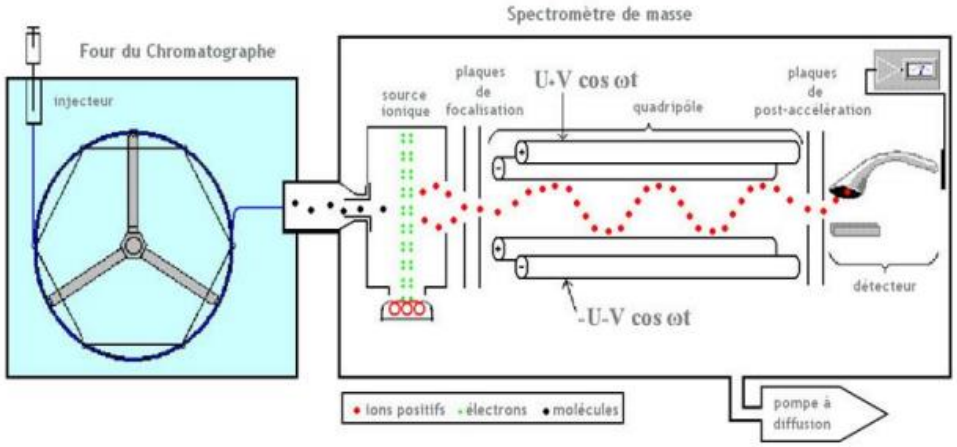



**Figure 35 :** Schéma de montage d'un appareil GC/MS
(http://atechimie.univlille1.fr/Techniques/CPG-SM/Principe-fonctionnement/)

La Chromatographie en Phase Gazeuse (CPG) permet de séparer des mélanges de composés volatiles ou susceptibles d'être vaporisés par suite d'équilibres entre une phase gazeuse mobile et une phase stationnaire.

**b. Chromatographie en phase gazeuse**

Le chromatographe en phase gazeuse est constitué de trois modules essentiels : un injecteur, une colonne capillaire dans un four et un détecteur. Où, entraînés par un gaz vecteur inerte, les analytes étudiés sont séparés en fonction de leur capacité d'interaction avec la phase stationnaire.

- L'injecteur : L'échantillon est introduit avec une micro-seringue, à travers un septum en élastomère, dans la chambre de vaporisation. L'injecteur a une double fonction : il porte l'échantillon à l'état de vapeur, puis il l'amène dans le flux gazeux en tête de colonne.

- La colonne : est placée dans une enceinte à température régulée. Elle se présente sous la forme d'un tube de silice, enroulée sur lui-même et de longueur allant de 1 à plus de 60 m.

- Le détecteur : il s'agit du module qui va permettre de détecter voire d'identifier les composés en sortie de colonne.

**c. La spectrométrie de masse**

La spectrométrie de masse permet de transformer des molécules dans leur état naturel en ions à l'état gazeux et d'obtenir leur masse moléculaire m en analysant leur rapport de masse/charge, noté m/z, où m est la masse du composé et z sa charge. Un spectromètre de masse est un appareil qui permet de mesurer le rapport m/z des ions formés à partir de l'échantillon analysé. Il est constitué des parties suivantes :

- Chambre d'ionisation : en sortie de colonne, l'intégralité des analyses entre dans la chambre d'ionisation. Le mode d'ionisation est l'impact électronique (EI)

$$M + e^- \longrightarrow M^{+\bullet} + 2e^-$$

Ces ions formés dans la source sont ensuite accélérés et focalisés par une électrode chargée positivement (le repousseur) vers l'analyseur : le quadripôle.

- Analyseur quadripolaire : L'étude des trajectoires suivies, dans une enceinte où règne le vide, permet de déterminer le rapport masse sur charge (m/z) de l'ion. En balayant les amplitudes U et V, la trajectoire des ions peut être stabilisée ou déstabilisée en fonction de leur rapport m/z. Seuls les ions qui ont une trajectoire stable vont pouvoir traverser le quadripôle et arriver au détecteur, les autres étant éjectés.

- Détecteur : Le détecteur recueille alors ces ions séparés par l'analyseur en fonction de leur rapport m/z. Puis un micro-ordinateur va assurer le traitement des données et fournir un spectre de masse. L'EI est un procédé reproductible qui permet des comparaisons spectrales à l'aide de bibliothèques de spectres (NIST), **(Deng et al., 2005)**.

***Mode opératoire***

100 µL de résidu (d'extrait éthanolique préparé précédemment) a été mélangé avec 50 µL de pyridine anhydre et 75 µL de N, O-bis (triméthylsilyl) trifluoroacétamide, chauffé à 80 °C pendant 20 min et analysés par GC-MS. L'analyse GC-MS a été effectuée avec un Appareillage GC-MS/MS triple quoidripole GC agitent 7890B couplée à spectrométrie de masse en tandem

type Agilent 7000D/TR équipé d'une colonne agitent HP-5MS ultra inerte 30m 0,25 mm ID, 0,25 um épaisseur de la phase stationnaire. La température est programmée de 60 à 310 C à une vitesse de 5 ° C/min. L'hélium a été utilisé comme gaz vecteur avec un débit de 7.5 ml/min et la température de l'injecteur est de 250°C.

L'analyse par GC/MS a été réalisée au niveau de l'INCC-GN de Bouchaoui Alger, ALGERIE



**Figure 36 :** Appareil GC-MS laboratoire INCC-GN Bouchaoui, Alger

## III.6 Test contrôle qualité

**Test des minéraux lourds**

**Procédé A**

1- La solution a examiné : 12 ml dans un tube à essai

2- La solution témoin : 10ml de 1 ppm (soit 1 ml de 10 ppm) de plomb (pb) +2ml de la solution examinée.

3- Solution Blanc : 10ml d'eau + 2ml solution examinée.

A chaque solution :

- 2ml tampon pH 3.5

- mélanger

- 1.2 ml de Réactif Thio acétamide R

- mélanger

- examiner après 2 min

## III.7 Formulation de la crème

### III.7.1 Généralité

Une crème est une préparation semi-solide destine à être administrée en usagé topique. Elle est constituée d'une mulsion H/E ou E/H qui sont des mélanges de deux phases, une phase aqueuse et une phase huileuse. Généralement, la préparation des émulsions a lieu en deux étapes successives :

➢ Une première étape de dispersion mélange que l'on appelle pré-muséification et qui va conduire à une simple mise en suspension de gouttelettes de la phase dispersée dans la phase ne continue gouttes de l'ordre de 100 μm). **(Sarfaraz K. Niazi, 2009).**

➢ Une seconde étape d'homogénéisation dons le but est de réduire la taille des gouttes de façon à conférer à l'émulsion, les propriétés requises et la stabilisation. **(Sarfaraz K. Niazi, 2009).**

Les crèmes peuvent être classées dans deux groupes principaux : les crèmes pharmaceutiques et les crèmes cosmétique. La différence entre elles est que les crèmes pharmaceutiques

contiennent un produit actif (le principe actif médicinal) qui est mélange séparément. **(Sarfaraz K. Niazi, 2009).**

### III.7.2 Caractérisation des excipients d'utilisées

Dans chaque formulation, il y a un principe actif un élément auquel ce principe actif est mélange (l'excipient). Le principe actif :

Substance active douée de propriétés pharmacologique et à la base de l'effet thérapeutique. Un excipient désigne toute espèce chimique présente dans la composition du produit autre que le principe actif. L'excipient est le véhicule du principe actif à administrer. Un bon excipient doit contribuer à donner à la crème une consistance convenable qui permet un étalement facile aussi :

➢ IL doit être bien toléré et son pouvoir allergisant doit être faible. **(Sarfaraz K. Niazi, 2009).**

➢ Il doit présenter le moins d'incompatibilités possible avec les autres constituants de la crème.

➢ Il doit en général faciliter la pénétration des principes actifs dans les tissue.

➢ Il doit être suffisamment stable pour permettre bonne conservation.

L'évaluation de la sécurité pour la santé humaine du produit fini, est établie notamment en prenant en considération la structure chimique des ingrédients, leur profil toxicologique général leur niveau d'exposition, ainsi que les caractéristiques spécifiques des zones corporelles sur les quelles sera appliqué ou de la population à laquelle il est destiné. **(Sarfaraz K. Niazi, 2009).**

**Tableau 8 :** Caractéristiques des excipients utilisés **(Médéa original Saidal, 2021)**

| | Aspect | Masse molaire | Formule brute | Fonction |
|---|---|---|---|---|
| **Acide stéarique** | Acide géras | 284,4772 g/mol | C18H36O2 | Acidifiant Epaisseur Facteur de consistance |
| **Mono stéarate de s'orbitant** | Cireux jaunâtre, insoluble dans l'eau | 430.62g/mol | C24H46O6 | Tension active non ionique |
| **Gomme xanthan** | Poudre blanchâtre insipide | 933.74 g/mol | C35H49O29 | Epuisantes et gélifiantes |
| **Glycérol** | Liquide incolore, visqueux et inodore | 1.26 g/mol | C3H8O3 | Agent hydratant, solvant |
| **Acide citrique** | Blanche de couleur cristaux ou poudre inodore | 192.12 g/mol | C6H8O7 | Régulation de l'acidité |

### III.7.3 Matériels et Méthodes

**Principe**

La formulation de la crème est effectuée suivant les étapes décrites. Le mode opératoire suivi a été effectué de façon garantir les prospérités de base des hydratantes : émulsion huile dans eau (H/E), phase aqueuse formé de 60 à 85%dans laquelle les agents humectant ne dépassent pas les 10%, une phase huileuse de 15 à 30% composée d'huile et des corps gréas pour donner une bonne consistance et l'onctuosité et la douceur de la crème, agents émulsionnants dans un intervalle de 2 à 4 % agent conservateur, agent antimicrobiens et antioxydants avec une limite de 1%.

***Modes opératoires***

**1. Préparation de la phase huileuse**

Dans un bicher de préparation incorporer successivement :

✓Acide stéarique 1%

✓Mono stéarate de sorbitol 5%

✓Huile d'olive 13%

➢ Mélanger jusqu'à dissolution complète des matières :

• Durée d'agitation 30 à 60 min.

• Température de mélange 70°

**2. Préparation de la phase aqueuse**

➢ Remplir le bicher avec ml d'eau purifiée ;

➢ Chauffé l'eau purifiée jusqu'à 70°C ;

➢ Sous agitation, incorporé

- Gamme xanthane 3%
- Bave d'escargot 1%
- Propolis 2%
- Argile 5%
- Glycérol 3%

➢ Duré d'agitation : 20 min.

**3. Préparation de l'émulsion**

**Transfert de la solution de phase aqueuse à la phase huileuse**

✓ En maintenant la température à 70°C, introduire dans le bicher de préparation la solution de la phase aqueuse

➢ Rajouter à la fin du transfert 2 ml d'eau purifiée.

➢ Laisser agiter.

➢ Refroidir à température de 40°C et laisser agiter encoure.

**4. Préparer de 3eme phase qui contenant le principe active (la phase aqueuse)**

✓ Dans un fut et sous agitation et température 40°C ajouter, 1g de la poudre de la bave d'escargot, 2ml de propolis, argile 5 g

➢ Rancie avec 2 ml d'eau purifiée ;

➢ Homogénéisé et filtré le mélange avec un filtre en tissu.

**5. Mélange final**

➢ Ajouter dans le bicher de préparation :

La solution filtrée obtenue dans l'étape 4.

- Mélanger pendant 30 min.
- Température du mélange 40°C

**6. Homogénéisation de la crème**

➢ Laisser refroidir la crème jusqu'à une température de 25°C ;

➢ Homogénéiser la crème pendant 30min en laissant le mélange sous agitation.

➢ Procéder à la désaération de la crème afin d'être libérée de toute inclusion d'air pendant au moins 25 min. **(Sarfaraz K. Niazi, 2009).**

### III.7.4 Contrôle de qualité des crèmes

Le contrôle de qualité est une opération destinée à déterminer, avec des moyens appropriés, si le produit prépare est conforme ou non à des spécifications ou exigences préétablies en incluant une décision d'acceptation, de rejet ou de retouche. **(Sarfaraz K. Niazi, 2009).**

### III.7.5 Le contrôle macroscopique

Tout contrôle devait débuter par une reconnaissance du produit, c'est-à-dire par l'observation de ses cratères organoleptiques. Il s'agit d'une approche qui peut être très pertinente en cas d'erreur de produit ou d'anomalie grossière et doit faire l'objet d'une étude approfondie, afin d'observer tout changement perçus au niveau des caractéristiques suivantes :

➢ Caractères visuels : l'aspecte, la couleur, la consistance.

➢ Caractères olfactifs : odeur typique (chaque produit à sa propre odeur caractéristique qui doit être préservée) et absence doreur anormale.

➢ Caractères tactiles : après étalement sur le revers de la main, voir si la préparation n'est pas caustique. Par ailleurs, il faut voir si le toucher est gras, évanescent, collant, granuleux, lisse ou rugueux et si la sensation est chaude ou fraîche. **(Sarfaraz K. Niazi, 2009).**

### III.7.6 Le contrôle microscopique

C'est un contrôle physique et fondamental, il a pour objectifs :

➢ De déterminer la taille, la forme et l'homogénéité de la répartition.

➢ De vérifier l'absence de particules anormale en suspension ou la présence de bulles d'air.

➢ De vérifier la recristallisation des excipent et spécialement celle des conservateurs.

➢ Le phénomène de coalescence.

➢ Le changement de phase d'émulsion, consécutif à une importante du diamètre des globules. **(Sarfaraz K. Niazi, 2009).**

### III.7.5.3 Contrôle physique

La qualité physico-chimique du produit médicale est très importante, car elle assure la stabilité du produit du point de vue organoleptique. **(Sarfaraz K. Niazi, 2009).**

### III.7.5.4 Détermination du pH

La mesure de pH nécessaire, car il peut :

➢ Avoir une influence sur l'aspect thérapeutique d'une préparation dermique.

➢ Avoir une influence sur la stabilité physique d'un crémé, ou sur celle d'un principe actif.

➢ Avoir un effet sur la modification des caractères rhéologiques.

➢ Avoir un effet sur la modification de l'activité des conservateurs.

➢ Être responsable d'une incompatibilité entre les excipients et la substance médicamenteuse.

**Détermination de la densité à 25°C**

### III.7.6 Détermination des types d'émulsion

IL existe diverses méthodes expérimentales pour déterminer le type de l'émulsion (H/L ou L/H). On a choisi les deux méthodes suivantes :

**➢ La méthode de conductivité**

A l'aide d'un conductimètre ou laide de tout autre dispositif permettant de vérifier le passage du courant. **(Sarfaraz K. Niazi, 2009).**

La phase aqueuse, qui contient généralement des électrolytes, se caractérise par une conductivité élevée, tandis que la phase que la phase huileuse, par sa nature apolaire, présente une très faible conductivité. Une émulsion E/H/E/ aura une conduite élevée et toujours supérieure à celle de la phase dispersante, alors qu'une émulsion H/E/H aura une conductivité nulle. **(Sarfaraz K. Niazi, 2009).**

**➢ La méthode de dilution**

Matériel nécessaire à la réalisation du contrôle

• Balance

• Verre de monter

• Eau distillée

• 1 g de produit à tester

***Mode opératoire***

• Dans un verre de monter propre et sec, dépose 1g d'émulsion à teste.

• Mélanger

• Observer l'aspect du produit.

**Expression et analyse des résultats**

• le mélange reste homogène, émulsion est du type E/H/E.

• Le mélange devient hétérogène, l'émulsion est du type H/E/H.

### III.7.7 Les essais de stabilité

Pour être apte à son utilisation, tout produit formulé doit pouvoir être stable quelles que soient les conductions auxquelles il peut être expose. C'est pourquoi, nous avons passé notre préparation à test de stabilité **(Sarfaraz K. Niazi, 2009).**

**➢ Stabilité à la centrifugation**

On a fait passer les produits à tester dans une centrifugeuse pendant un temps fixe à vitesse de : 1000, 2000,4000 ,6000 tr /min pour s'assurer de la présence ou de l'absence des phénomènes de crémage, de sédimentation ou de déphasage. **(Sarfaraz K. Niazi, 2009).**

## III.8 Les tests biologiques in vivo

### III.8.1 Activité cicatrisante

**Principe :**

A travers cette étude, nous envisageons de comparer.

➢ L'effet cicatrisant de la crème formulées. / Effet cicatrisant de la crème madécasol

➢ L'effet cicatrisant de la crème formulé / Effet cicatrisant sans traitement

**Plaie profonde**

Dans cette étude, nous avons testé les crèmes formulées sur des plaies plus profondes.

**Méthode**

Les lapins sont tendus de deux cotés par une tondeuse électrique munie d'un peigne de hauteur de coupe de 0.05 mm pour dégager une surface d'environ 5*5cm sur chacun des deux membres postérieurs. Avant de commencer le test, nous assurons que les animaux présentent une saine peau et glabre. Lors de l'essai, les lapins sont maintenus dans des boites à contention.

Ai jour j=0, on effectue sur les flacons de chaque lapin à l'aide d'une aiguille stérile, parallèle sur une longueur d'environ 2.5 cm espacées de 0.5cm environ pour les deux côtés.

Lot 1 : la crème formulé / la crème pharmaceutique

Lo2 : là la crème formulé / sans traitement

Lot 3 : le témoin

On applique les traitements une fois par jour pendant 8 jours et évaluer la cicatrisation.

**III.8.2 Induction de la cicatrisation**

Les lapins, après anesthésie par le d'éthyle éther, reçoivent les symétriques de diamètre et de profondeur à l'aide d'une poinçonneuse à la main. On retient 4 paramètres (la profondeur de plaie de lapin, l'ouverture de la plaie, l'apparition ou non bourgeon et l'apparition de la courte) pour évaluer le déroulement du processus de cicatrisation 8émé jour. A partir du 2 -ème jour

**Test irritation cutanée**

Test irritation cutanée : le test de la tolérance cutanée a pour but à prédire à partir de la connaissance de la toxicité du notre formule sur un organisme vivant animal, le risque toxicologique chez l'homme.

Principe : la méthode est réalisée sur 03 lapins de souche néo-zélandaise (méthode standardisée par DRAIZE). C'est un test de toxicité aigüe (application unique du produit) des médicaments topiques.

Le système de cotation des phénomènes observé permet de dégager par un calcul un indice d'irritation primaire cutanée (IP) pour classer les produits en catégories.

Matériel et méthode de travail :

- Tondeuse électrique.
- Scalpel stérile
- Pansement stériles et bandes de gaze
- Bandes de sparadrap perforé

**Produit a analysé**

Notre crème

Lapins de souche néo-zélandaise.

Nombre : 3

**Méthode**

La veille du jour d'application du produit, les lapins sont tondus au niveau du dos de deux cotés sur surface d'environ 10/10 cm à l'aide d'une tondeuse électrique.

(Hauteur de la coupe : 0.005 cm Sont conservé pour la suite de l'essai, 3 lapins par produit présentant une peau saine et glabre.

Appliquer 0.5 g de produit) sur une compresse stérile de 2.5 x 2.5 cm, appliqué ensuite sur le flanc scarifié et le flanc normal. La gaze ainsi imbibée est recouverte par une bande de sparadrap perforé de 10 x 8 cm.

Les lapins sont remis dans leurs cages. Vingt-quatre heures plus tard, les pansements sont ôtés. Les résultats sont lus au bout d'une demi-heure, une seconde et une troisième lecture sont faites respectivement 48 et 72 heures après application du produit.

Les lectures consistent à apprécier l'érythème et l'œdème selon l'échelle numérique suivante :

**Tableau 9 :** Les lectures consistent à apprécier l'érythème et l'œdème selon l'échelle numérique

| | | |
|---|---|---|
| ERYTHEME | Pas d'érythème | 0 |
| | Léger érythème | 0 |
| | Erythème bien visible | 0 |
| | Erythème important | 0 |
| | Erythème grave (rouge pourpre) avec ou sans escarres (lésions profondes) | 0 |
| OEDEME | Pas d'œdèmes | 0 |

| | | |
|---|---|---|
| | Très léger œdèmes (à peine visible) | 0 |
| | Léger œdème (contours bien définis, gonflement apparent) | 0 |
| | Œdème moyen (épaisseur environ 1mm) | 0 |
| | Œdème grave (épaisseur supérieure à 1mm et surface supérieure à la zone d'application) | 0 |

**Étude du potentiel anti-inflammatoire**

Tous les types de cancer ainsi que la leucémie, sont toujours accompagnés par des inflammations aigues, alors que la vérification et la mise en évidence de la propriété anti-inflammatoire du notre crème renforce le pouvoir anticancer.

**Principe**

- Administrer la dose appropriée de la substance à contrôler à un groupe de souris blanches.
- Apres un temps jugé suffisant pour permettre l'absorbation et la distribution du produit (1 heures), Provoquer une inflammation locale en injectant par voie sous cutanée dans la plante du pied d'une patte postérieure une substance phlogogène.
- Parallèlement, procéder de même à un deuxième groupe de souris, mais en injectons de la solution physiologique au lieu de la substance phobogène (témoin négatif).
- Le volume ou l'épaisseur de la patte utilisée est mesuré avant l'injection de la substance phobogène, et la solution physiologique, tout de suite après, puis plusieurs fois de suite à intervalle réguliers.
- La comparaison de l'évolution de l'inflammation à travers le volume ou l'épaisseur de la patte, chez le groupe expérimental et le groupe témoin renseigne sur la propriété anti-inflammatoire du produit testé.

***Mode opératoire***

Cinq lots de 6 souris de même sexe, sont mis à jeun 12 heures avant l'essai.

- Le lot A, utilisé pour la mise en évidence de l'effet phobogène de la carraghénine, en injectant 0,1 ml de la carraghénine à 1% dans la solution physiologique (Na Cl à 0,9 %) dans la plante du pied de la patte.

- Lot B, témoin négatif de l'effet phobogène de la carraghénine, en injectant 0,1 ml de l'eau physiologique (Na Cl à0, 9%) dans la plante du pied de la patte.

- Lot C, expérimental, injectant 0,1 ml de la carraghénine à 1% dans la solution physiologique (Na Cl à 0,9 %) dans la plante du pied de la patte puis en applique notre crème

- Les pattes postérieures droites des 6 souris sont mesurées à l'aide d'un pied à coulisse au 1/50 de mm au niveau de l'articulation tarsométatarsienne dans l'axe antéropostérieur comme le montre la figure 37.

En mesure l'épaisseur des pattes juste après l'injection, toutes les 30 min, on refait la mesure de l'épaisseur des pates pour chaque lot et on compile les résultats dans un tableau à deux entrées.

- On arrête la mesure, lorsque les pattes des souris reprennent leur dimension initiale à savoir avant l'injection de la carraghénine. Ou bien au bout de 3 heures.




**Figure 37 :** La mesure des pattes des souris à l'aide d'un pied à coulisse**. (Original de Médéa, 2021)**

# *Chapitre IV*

# *Résultat et Discussion*

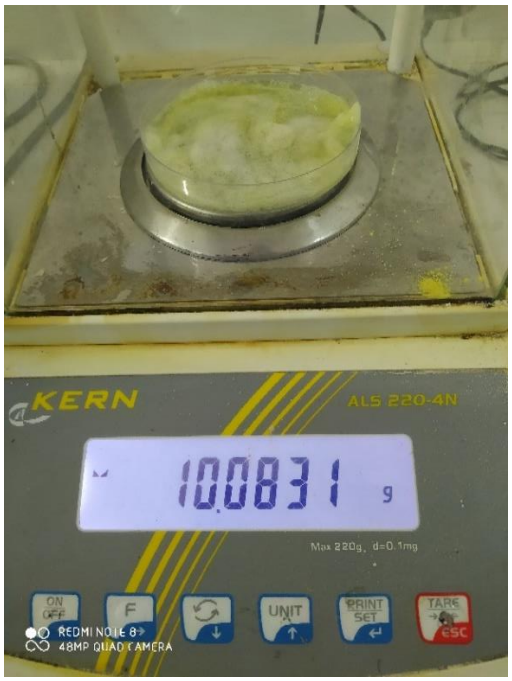
Premièrement on s'intéresse à l'extraction de la bave, le séchage et l'étude de caractérisation des paramètres physicochimiques de cette bave,

Deuxièmes la méthode d'extraction de la propolis et l'effet antibactérien, anti oxydant et anti-inflammatoire

Troisièmes on applique des tests contrôle de qualité sur l'argile pour valider son efficacité Afin en procède à la formulation d'une crème à des fins cicatrisantes

## IV.1 Helix Aspersa

### IV.1.1 Le Rendement de la bave récupérée



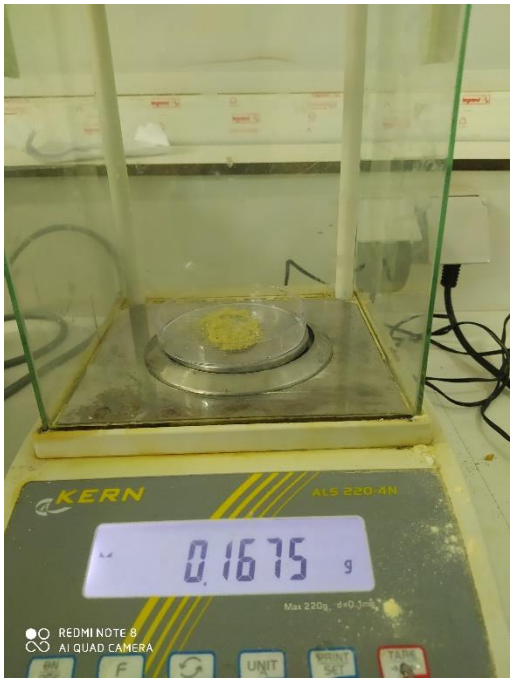




**Figure 38 :** La bave récupérer avant le séchage. **Figure 39** : La bave récupérer après le séchage.

Selon l'équation

$$R = M_{\text{bave sèche}} / M_{\text{bave liquide}} * 100 \ldots\ldots 2$$

R= 0.167/10.083*100

**R = 1.656 %**

### IV.1.2 Le taux d'humidité

**Selon l'équation :** $$H\% = \frac{poid\ A - poid\ B}{poid\ a} * 100 \ldots\ldots 1$$

**H % = 10.083 – 0.167 / 10.083 * 100**

***H %= 98.343 %***

Le temps de séchage dépend du taux d'humidité et la température de séchage. Lorsque on augmente la température, le taux d'humidité diminue et par la suite le temps de séchage est diminué : la courbe explique mieux les influence de la température de sur le taux d'humidité A partir de l'équation n°1 Variation de taux d'humidité en fonction de temps

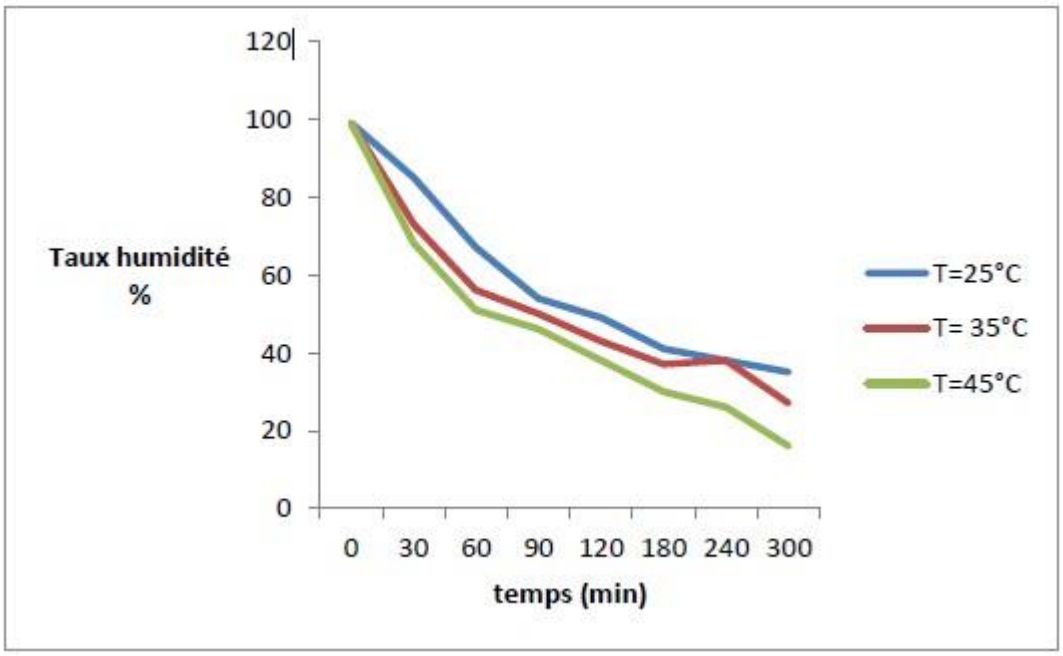



**Figure 40 :** Variation du taux d'humidité en fonction du temps

D'après la figure 40 on remarque que la température de séchage choisi ne présente pas une grande différence à cause de taux d'humidité élevé présente dans la bave d'escargot. Et la durée de séchage prend un temps de 3h.

La température du reste de travail est fixée à 45 C° parce que la bave séchée ne colmate pas lors de broyage et donne une poudre fine. (Figure)

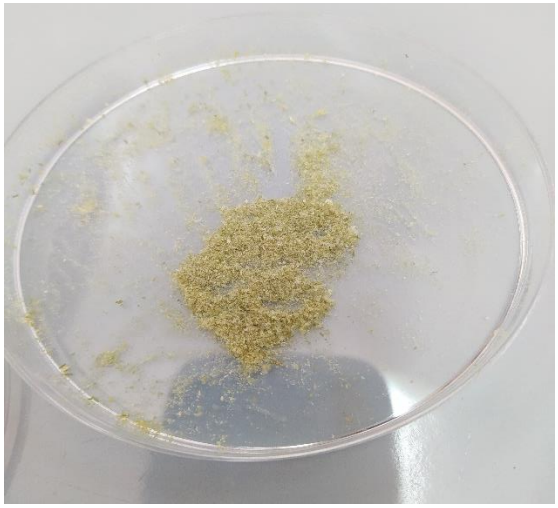


**Figure 41 :** Poudre de la bave d'escargot **(Original Médéa saidal, 2021)**

### IV.1.3 Caractérisation organoleptiques de la bave d'escargot

Les caractères organoleptiques sont représentés dans le tableau 10.

**Tableau 10 :** Caractères organoleptiques **(Original Médéa Saidal, 2021)**

| | La bave d'escargot |
|---|---|
| **Odeur** | Caractéristique faible |
| **La couleur** | Légèrement jaunâtre |
| **L'aspect** | Liquide visqueux |

### IV.1.4 Les paramètres physicochimiques

A partir de l'équation n° 3, 4, 5 Les paramètres physicochimiques sont résumés dans le Tableau 11

**Tableau 11 :** Les résultats des indices d'ester, acide et saponification. **(Original Médéa Saidal ,2021)**

| Tests | LES INDICES | | | HLB |
|---|---|---|---|---|
| Poudre d'escargot | $I_S$ | $I_A$ | $I_E$ | 14,296 |
| | 0,0590 | 0,2069 | 0,1479 | |

La matière sèche conserve les propriétés chimiques de la bave.

**Analyse physique :**

**Tableau 12 :** Poudre de la bave d'escargot

| Paramètre / Poudre | Ph | Densité relative | Conductivité |
|---|---|---|---|
| **Valeurs** | **8 ,59** | **0,725** | **2,42µS/Cm** |

D'après le séchage de la bave d'escargot, la dissolution d'une masse de 0.2g dans 100 ml d'eau à données les résultats portés dans le tableau 12, un pH au voisinage de 8 et une densité de 0.7 une faible conductivité dû aux sels présente dans la poudre**.**

## IV.2 Propolis

### IV.2.1 Activité antibactérienne

Cette partie de notre étude a pour but d'évaluer l'activité antibactérienne d'extrait de propolis vis-à-vis de 4 souches bactériennes et un champignon de référence : Escherichia coli, Staphylocoques aureus, Pseudomonas aeruginosa, Bacillus subtilis, Candida albicans.

L'étude de l'activité antibactérienne a été réalisée dans un premier temps par la technique de diffusion des disques sur milieu solide (Soja agar, Sabouraud dextrose agar) qui est une technique qualitative basée sur la mesure de diamètre de la zone d'inhibition, en millimètre (mm), qui apparait autour du disque imprégné d'extrait de la propolis.

Voici quelques figures des zones d'inhibition d'extrait de propolis par les quatre bactéries :



**Figure 42 :** Zone d'inhibition par l'extrait de propolis sur Staphylocoques aureus.

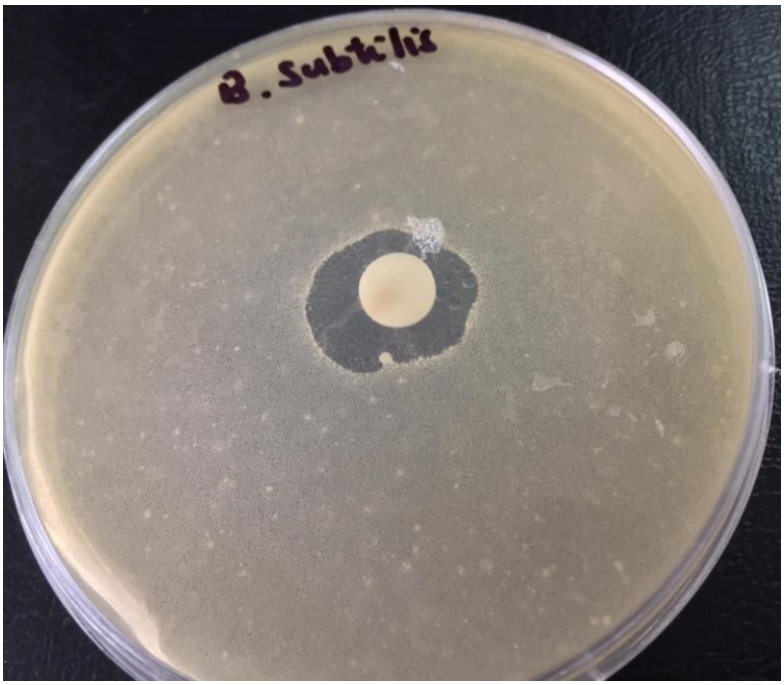



**Figure 43 :** Zone d'inhibition de l'extrait de propolis sur Bacillus subtilis.

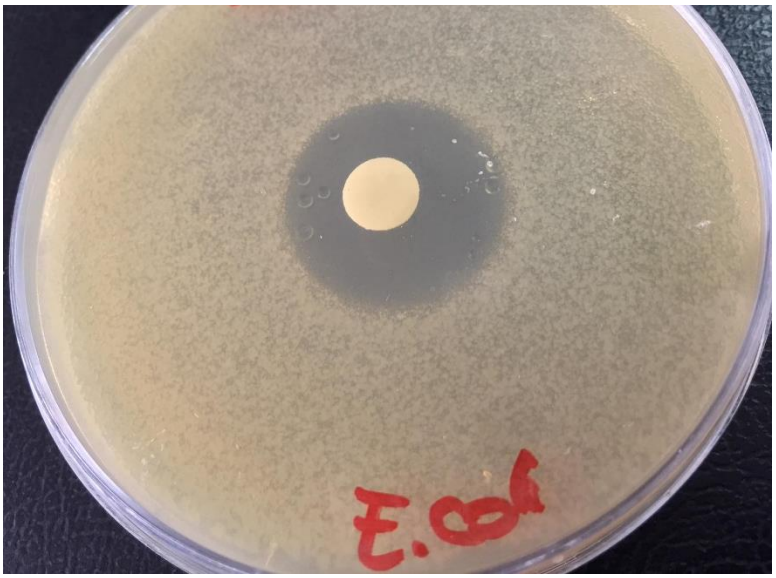



**Figure 44 :** Zone d'inhibition de l'extrait de propolis sur Escherichia coli.

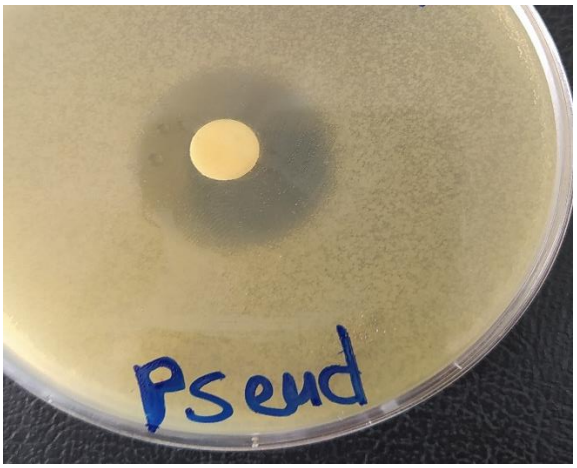



**Figure 45 :** Zone d'inhibition de l'extrait de propolis sur Pseudomonas aeruginosa.

Les résultats des diamètres des zones d'inhibition d'extrait de propolis vis-à-vis des bactéries à gram négatif et gram positif sont illustrés dans le tableau 13.

**Tableau 13 :** Diamètres d'inhibitions des souches par l'extrait de propolis.

| Les souches Bactériennes | Diamètres d'inhibition (mm) |
|---|---|
| Staphylocoques aureus | 23 mm |
| Bacillus subtilis | 20 mm |
| Escherichia coli | 27 mm |
| Pseudomonas aeruginosa | 24 mm |

- **Interprétation**

Nous remarquons que l'extrait montrent une activité antibactérienne intéressante vis-à-vis d'Escherichia coli, Staphylocoques aureus, Bacillus subtilis et pseudomonas aeruginosa avec des diamètres compris entre 20 – 27 mm, Cela montrent que toute les souches utilisés sont Extrêmement sensible (+++) à l'extrait de propolis.

### IV.2.2 Activité antioxydante

Ce test est déterminé par la diminution de l'absorbance d'une solution alcoolique de DPPH˙ à 517 nm, réduit par l'extrait de propolis, pendant 30 min à l'obscurité, ce radical libre présente une coloration jaune lorsqu'il est piégé par les antioxydants.



**Figure 46 :** Les étapes d'activité antioxydant par DPPH.

On résume le résultat de DPPH dans la figure qui représente l'absorbance en fonction de la concentration d'extrait de propolis, qui montre une diminution de l'absorbance.

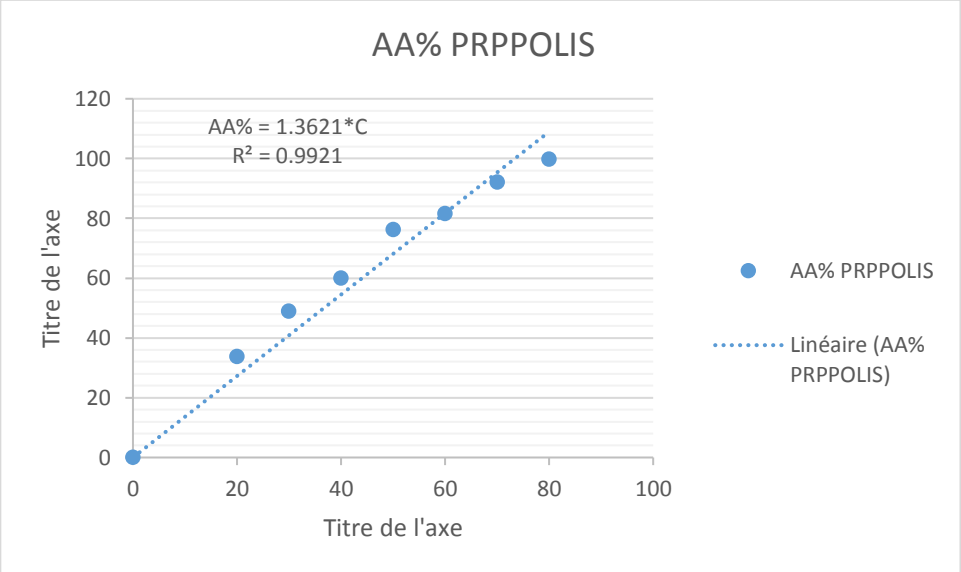



**Figure 47 :** Pouvoir antioxydant d'extrait de propolis.

➢ **Calcul de "IC50"**

La valeur IC50 est la concentration qui assure la réduction de 50 % du DPPH, déterminée graphiquement à partir de la courbe du pourcentage d'inhibition du DPPH en

fonction de la concentration d'extrait. Une faible valeur d'IC50 correspond à une grande efficacité de l'extrait et à un pouvoir antiradicalaire plus fort.

**Tableau 14 :** Calcule de "IC50"

| N | C (mg/ml) | A Ech | A blanc | A sc | AA % |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 0 | 1.1143 | 0 | 1.1143 | 0 |
| 2 | 20 | 0.7605 | 0.0214 | 1.1143 | 33.6713632 |
| 3 | 30 | 0.6017 | 0.0325 | 1.1143 | 48.9186036 |
| 4 | 40 | 0.487 | 0.0412 | 1.1143 | 59.9928206 |
| 5 | 50 | 0.3486 | 0.083 | 1.1143 | 76.1644081 |
| 6 | 60 | 0.2791 | 0.0726 | 1.1143 | 81.4681863 |
| 7 | 70 | 0.1918 | 0.1025 | 1.1143 | 91.9860002 |
| 8 | 80 | 0.1307 | 0.1271 | 1.1143 | 99.6769272 |
| | CI 50% DPPH | | | | 36.7080244 |

**Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse**

D'après les analyses qu'on a fait à INCC-GC Bouchaoui, Alger voici les résultats :

### IV.2.3 Les conditions opératoires

Appareillage GC-MS/MS triple quadripôle GC agitent 7890B couplée à spectrométrie de masse en tandem type Agilent 7000D/TR.

- **Méthode GC :**

Volume injecte 1ul

Température injecteur 250°c

FOUR :

Température initial 60°c (1min)

Rompe 5°c /min jusqu'à 310°c (maintien pendant 5min)

- **Méthode MS :**

Mode impact électronique

Énergie 70 eV

Température de la source 230°c

Température ligne de transfert 300°c

Délais de solvant 7,5 min

Gamme des ions de mesure 40- 500 uma

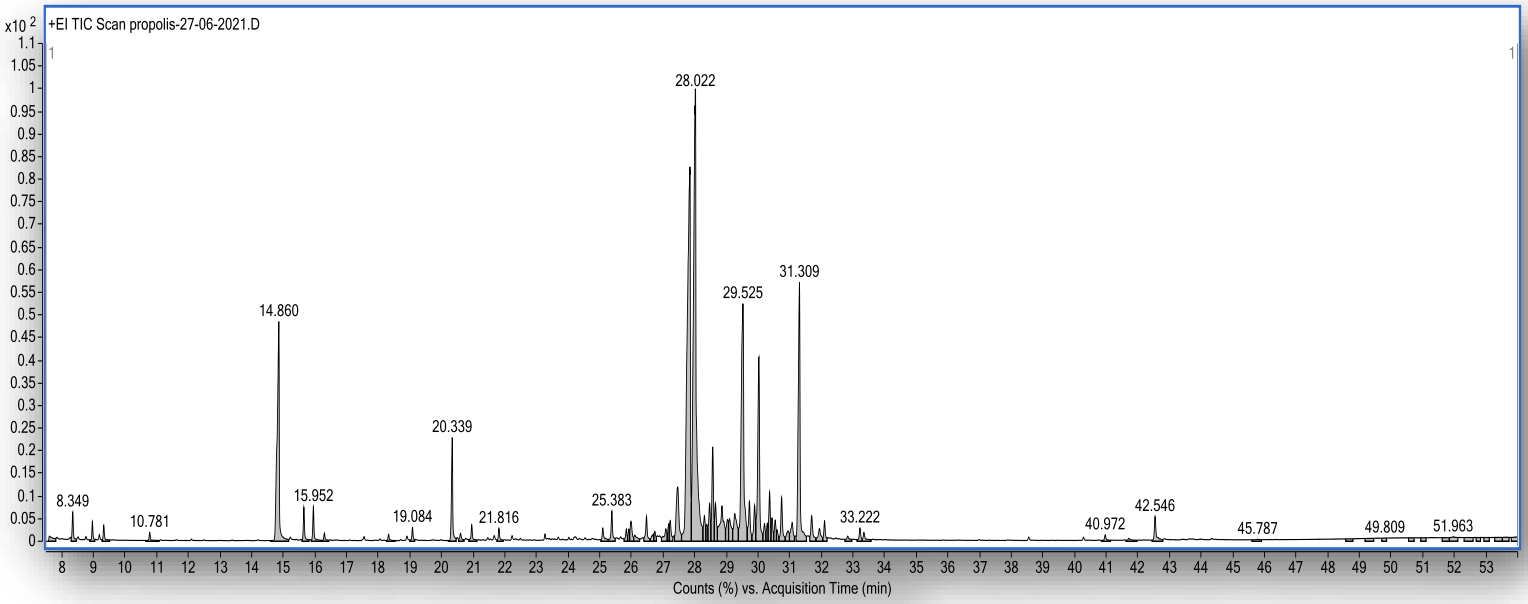



**Figure 48 :** GCMS d'extrait de propolis par macération

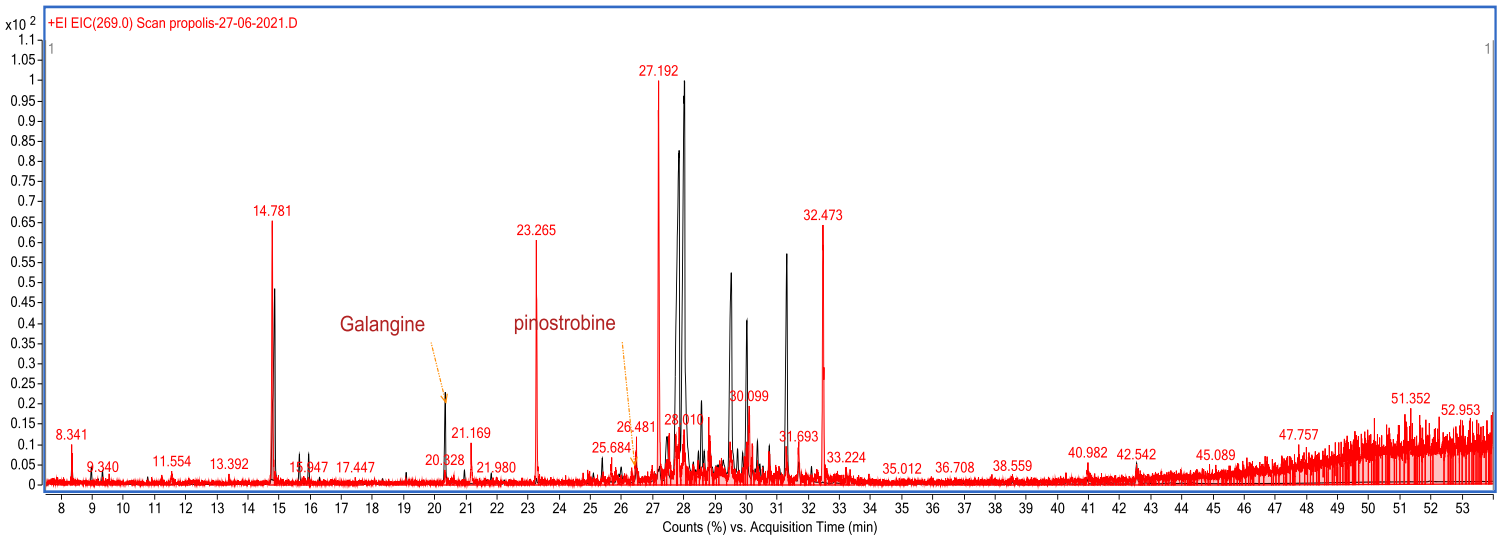



**Figure 49 :** GCMS d'extrait de propolis. Deux légendes représentent les deux molécules molécules Galangine, Pinostrobine

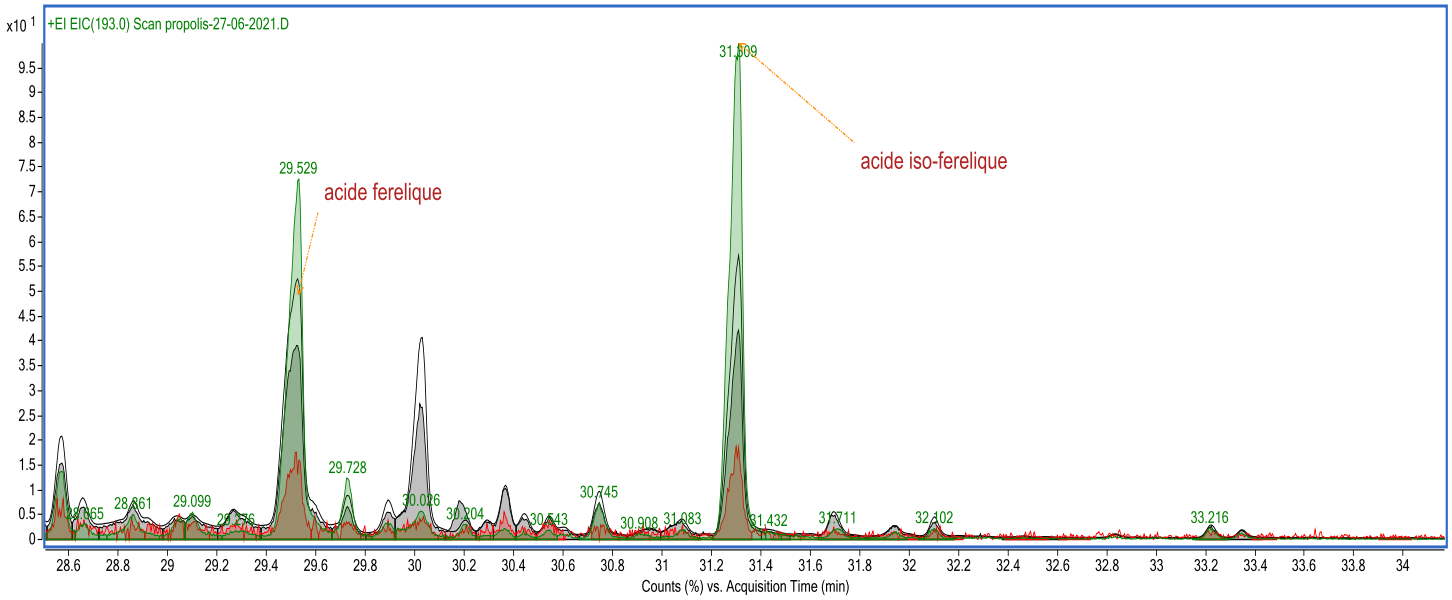



**Figure 50 :** GCMS d'extrait de propolis. Deux légendes représentent les deux molécules Acide férulique Acide iso-férulique

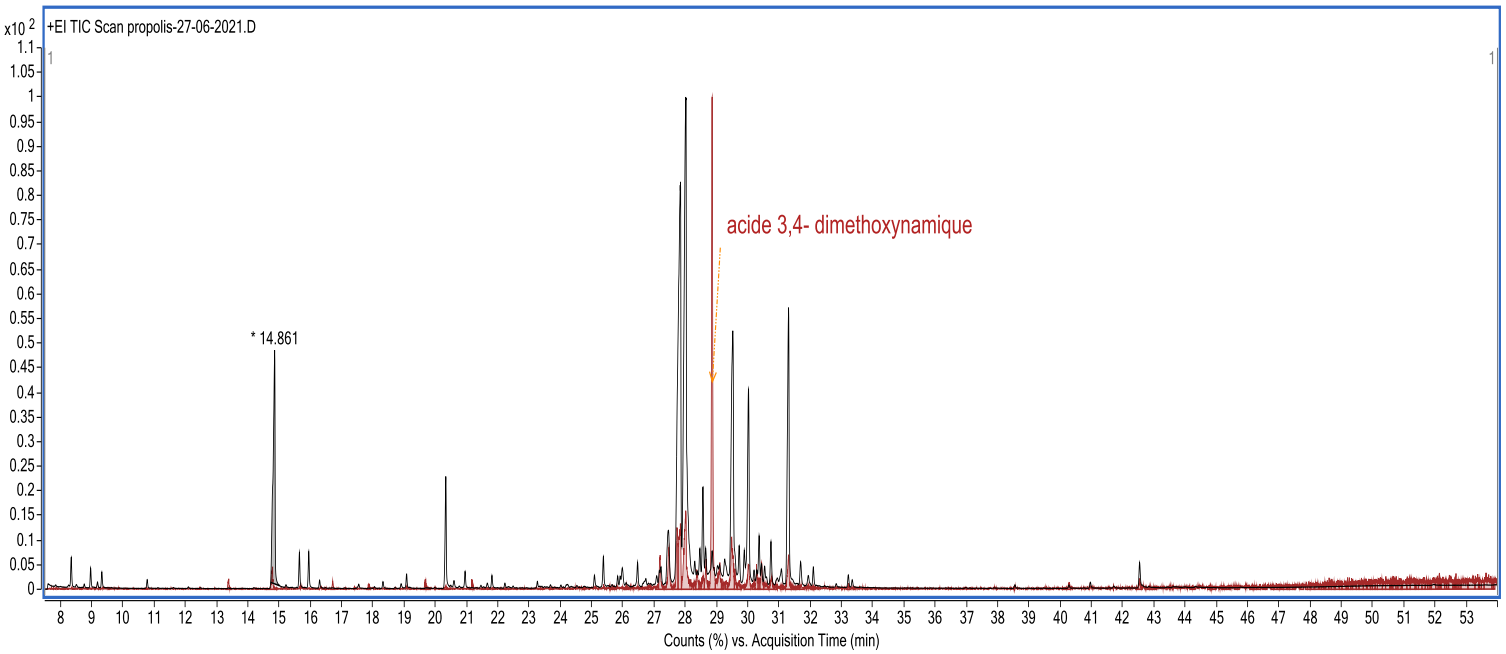



**Figure 51 :** GCMS d'extrait de propolis. Une légende représente la molécule acide 3,4 - dimethoxynamique

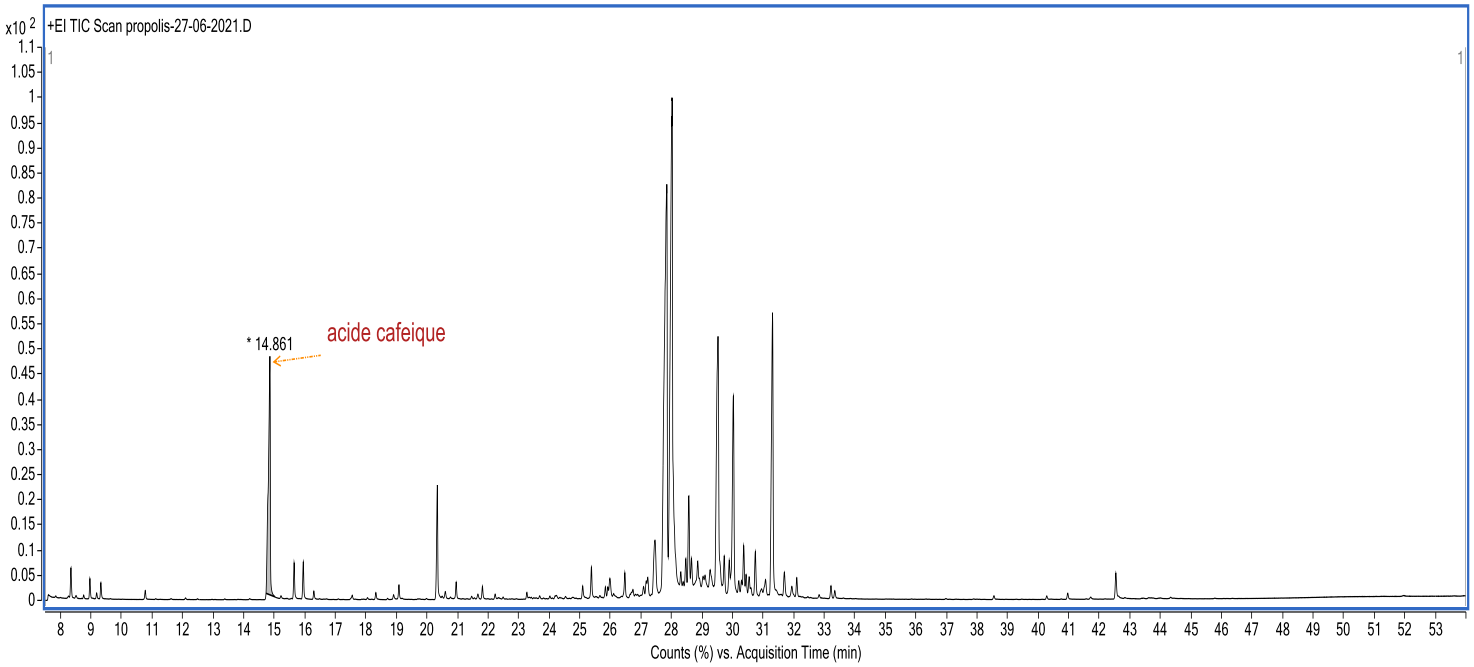



**Figure 52 :** GCMS d'extrait de propolis. Une légende représente la molécule d'Acide caféique

**Spectre de masse**

**1) Acide caféique : Temps de rétention t = 14, 861 mn**

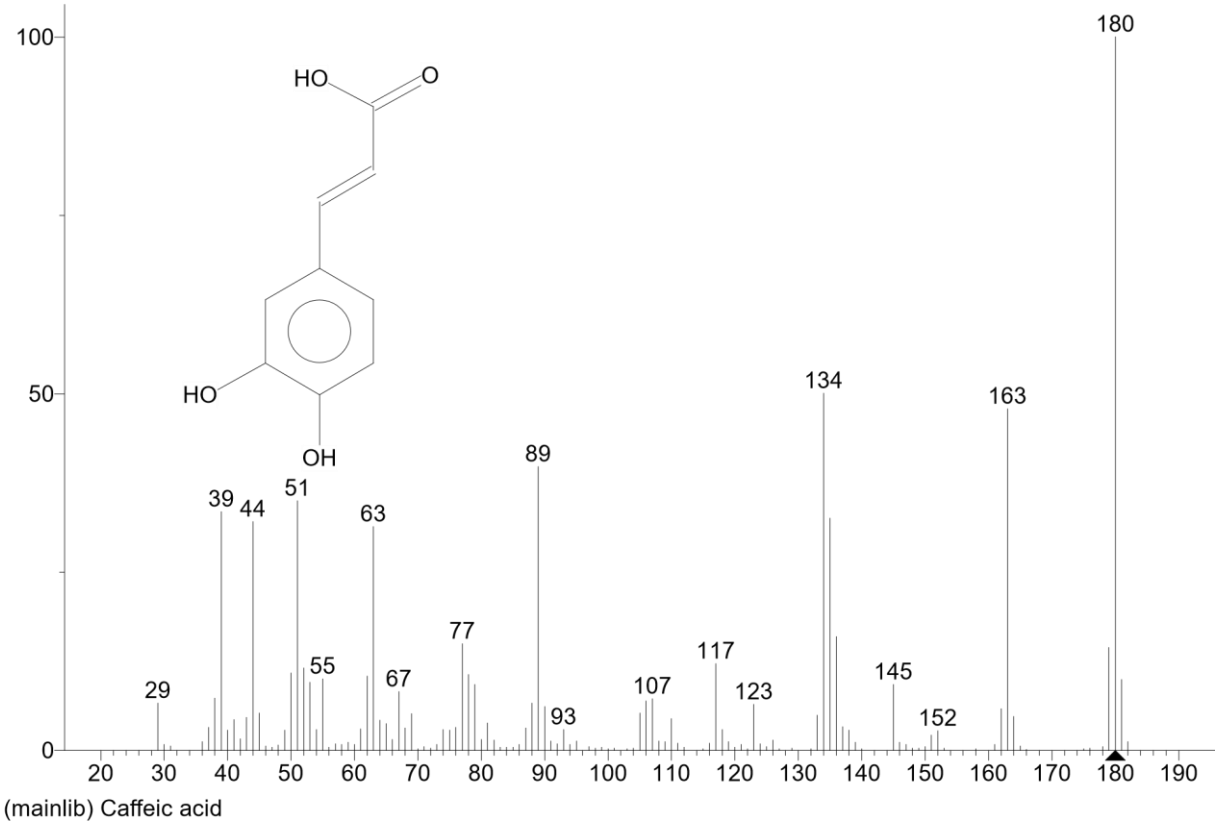



**Figure 53 :** Spectre de masse de l'acide caféique dont le temps de rétention 14.861 mn.

D'après les recherches bibliographiques, on note que la propolis contient de l'acide caféique dans le temps de rétention 14,861 min.

- L'acide caféique est un composé phénolique et aromatique également à visée analgésique et anti-inflammatoire et qui a aussi des propriétés antioxydants.

**2) Acide férulique : temps de rétention t = 29,529 mn**

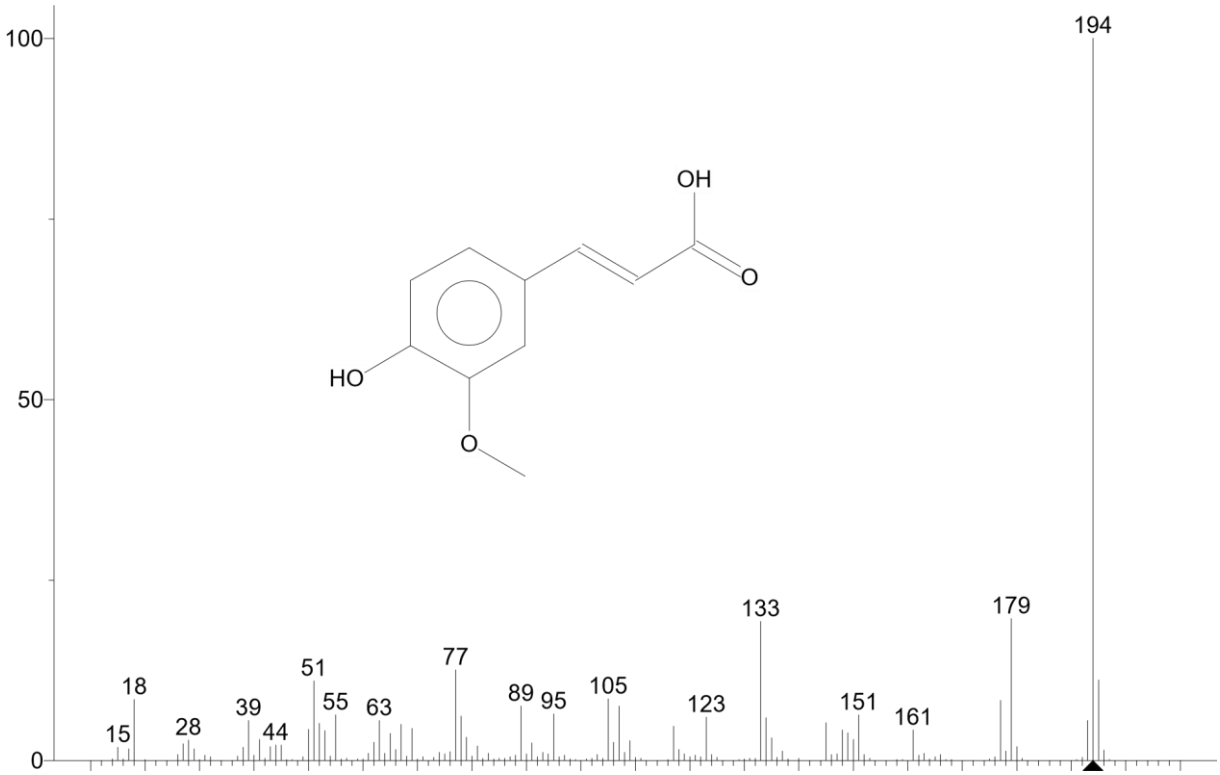



**Figure 54 :** Spectre de masse d'acide férulique dont le temps de rétention 29,529 mn

D'après les recherches bibliographiques, on note que la propolis contient de l'acide férulique dans le temps de rétention 29,529 min.

- L'acide ferulique composant de la propolis responsable de l'activité antioxydante de la propolis.

### 3) Pinocembrine : temps de rétention t = 28,361 mn




**Figure 55 :** Spectre de masse de pinocembrine dont le temps de rétention 29,361 mn

D'après les recherches bibliographiques, on note que la propolis contient de pinocembrine dans le temps de rétention 29,361 mn.

- Les principaux composants responsables de l'activité antifongique et l'activité antibactérienne sont : - les flavonoïdes tels que la Pinocembrine.

**4) Pinostrobine : le temps de rétention t = 23, 285 min**

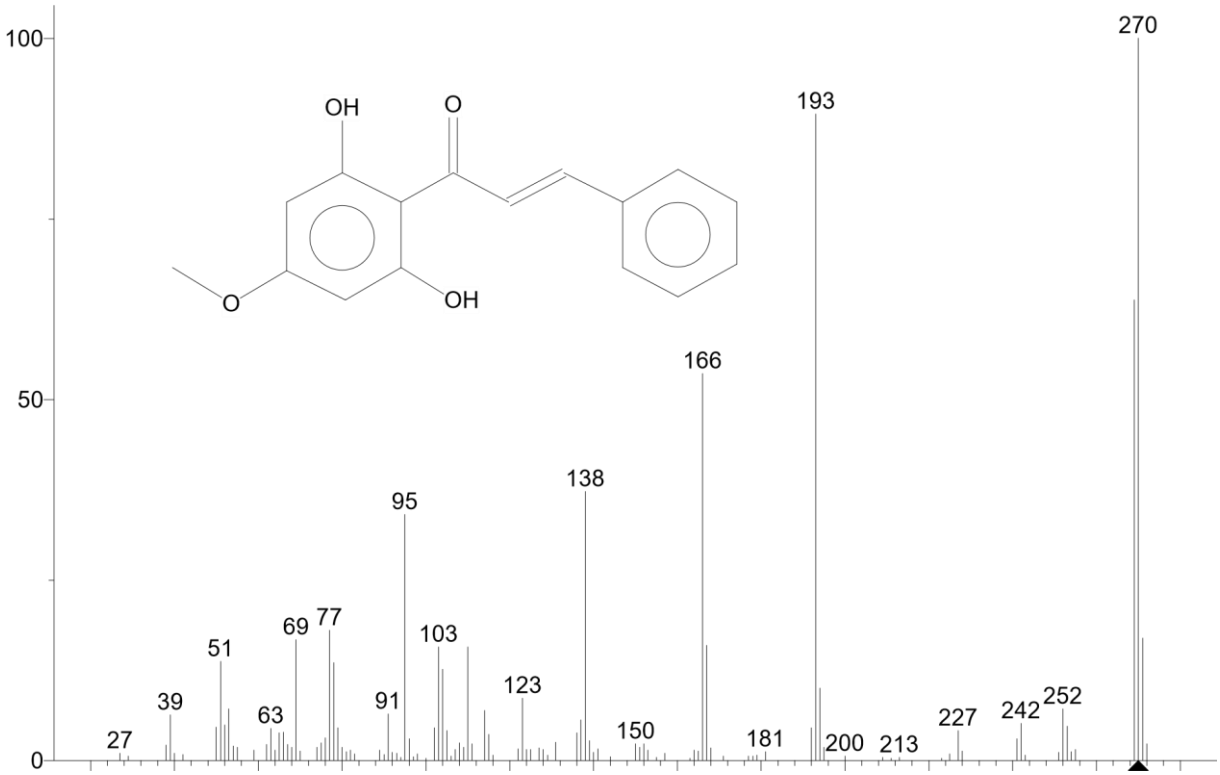



**Figure 56 :** Spectre de masse de pinostrobine dont le temps de rétention 23,285 mn.

D'après les recherches bibliographiques, on note que la propolis contient de pinostrobine dans le temps de rétention 23,285 mn.

- Pinostrobine un composant de la propolis qui possède des actions antifongiques et antimycosiques.

## IV.3 Argile

### IV.3.1 Résultat de test de métaux lourd

- La solution témoin présente une coloration brune.

- La solution blanche ne présente pas une coloration.

- La coloration de la solution examinée n'est pas plus intense que la solution témoin.

- Absence des métaux lourds dans l'argile qu'on a utilisée.

### IV.3.2 Formulation de la crème

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 arômes.

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.

## IV.4 La formulation

Dans cette formulation, on réalise 1 essai de préparation de la crème. Une fois refroidie, on mesure le pH on observe l'aspect des crèmes obtenues pour les 1 essais (Tableau 15)

### IV.4.1 Contrôle de qualité de la crème formulée

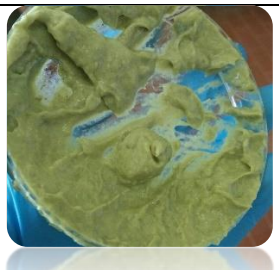
#### IV.4.1.1 Examen de la caractérisation macroscopique et microscopique

**➢ Contrôle macroscopique**

**1. Caractères visuels :** la crème préparée a été jugée d'une couleur vert clair (figure) et de consistance molle.

**2. Caractères tactiles :** la préparation n'est pas caustique, la toucher est peu épais, évanescent et lissant présage une texture plutôt légère avec une bonne sensation d'hydratation fraiche après étalement.

**Tableau 15 :** Tableau d'essai de formulation

| Caractère | Essaye | Essai N 1 | Essai N2 | Essai N3 |
|---|---|---|---|---|
| Odeur | | Douce, trop sucrée | Douce, sucrée | Discrète, douce, sucré |
| Couleur | | Blanche | Vert foncé (foret) | Vert clair (gazon) |
| Consistance | | Trop légère | Épaisse | Légèrement épaisse |
| Aspect | | Brillante | Opaque | Opaque, brillante |
| | |  |  |  |

➢ **Contrôle microscopique**

Cet examen est réalisé en plaçant une petite quantité de crème entre lame et lamelle d'un microscopique avec un grossissement X10. Voir la figure (57).

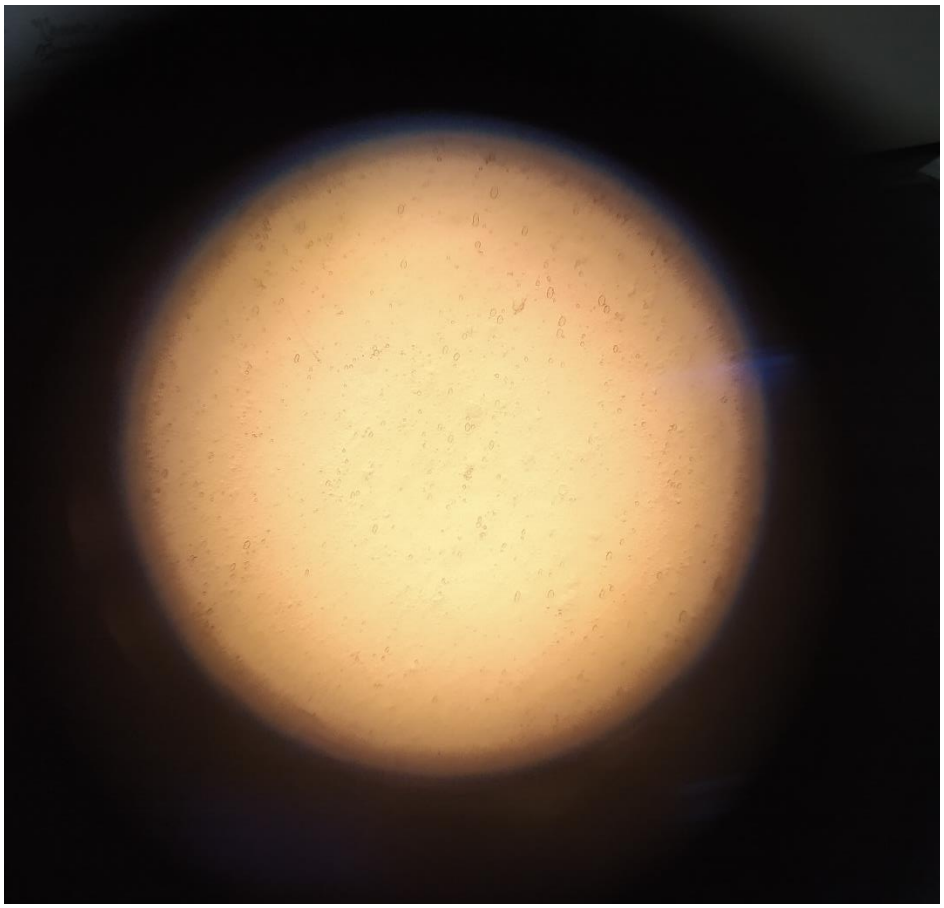


**Figure 57 :** La dispersion des globules d'huiles dans l'émulsion sous microscope *10

On remarque des globules d'une tailles moyenne, leur dispersion apparaitre homogène, donc la bonne dispersion des globules d'huile dans l'émulsion confirme la stabilité de la crème.

### IV.4.2 Contrôle physique

➢ **Détermination du type d'émulsion**

Méthode de la conductivité

La mesure de la conductivité de la crème formulée est respectivement de 28,7 s'/cm (tableau). Ceci signifie que le mélange préparé est de type émulsion huile dans eau (H/E).

**Méthode de dilution**

Apres la réalisation du protocole sur les crèmes préparées, le mélange devient hétérogène, donc noter crème est du type H /E.

➢ **Détermination le pH**

La mesure du pH traduite la présence plus ou moins d'ions H3O+ dans une solution c'est-à-dire dans le cas d'une crème. Toute cosmétique qui contient une phase aqueuse, suivant les composants contenus dans le produit cosmétique, peut contenir des ions H3O+ ce qui permet de rendre le milieu est basique ou alcalin s'il contient des ions OH-.

Les émulsions formulées dans ce travail ont des valeurs de pH comprises entre 5,7et 7. le pH des préparations à usage dermique doit être 4 et 7 pour les soins appliqués sur la peau. [66]

➢ **Détermination de la densité à 25°C**

La densité d'un extrait constitue un critère important pour évaluer sa qualité dans plusieurs domaines, à savoir pharmaceutique, cosmétique …etc.

Elle peut facilement donner un aperçu sur la qualité du produit ainsi que sur les tentatives de fraudes et d'adultération.

**Les essais des stabilités**

Pour tout développement d'une nouvelle formulation, il est important d'avoir le plus d'informations possibles sur ce produit afin d'anticiper sur les éventuels problèmes de stabilité qui risquent de se produit à plus grande échelle. Cependant, les tests visuels ne nous donnent pas suffisamment d'information sur les instabilités des crèmes.

Donc, il est nécessaire d'utiliser d'autres techniques analytiques qui ne sont pas toujours adaptées aux systèmes fortement complexes comme le sont les produits cosmétiques. [66]

**Etude de la stabilité à la centrifugation**

Ce test consiste à mettre la préparation sous l'effet d'une centrifugation. Les résultats sont résumés dans le tableau 16.

**Tableau 16 :** Les résultats de la stabilité de notre formule dans la centrifugeuse

| Formule | Tour/min | 1000 | 2000 | 4000 | 6000 |
|---|---|---|---|---|---|
| La crème | | Stable | Stable | Stable | Stable |

A la centrifugation, toutes les formules présentées sont stables ou les phénomènes de crémage ou de séparation des phases sont totalement absents.

Autres tests de stabilité.

**Effet anti-inflammatoire**

Pour chaque lot c'est la moyenne des valeurs des 2 souris qui est prise en compte, et ce à chaque temps. Les valeurs et surtout leur évolution, sont plus explicites une fois représentées sous forme de 3 graphes dans un repère unique Figure 58.

Ci-dessous les 3 courbes dans un seul repère pour faciliter leur comparaison.

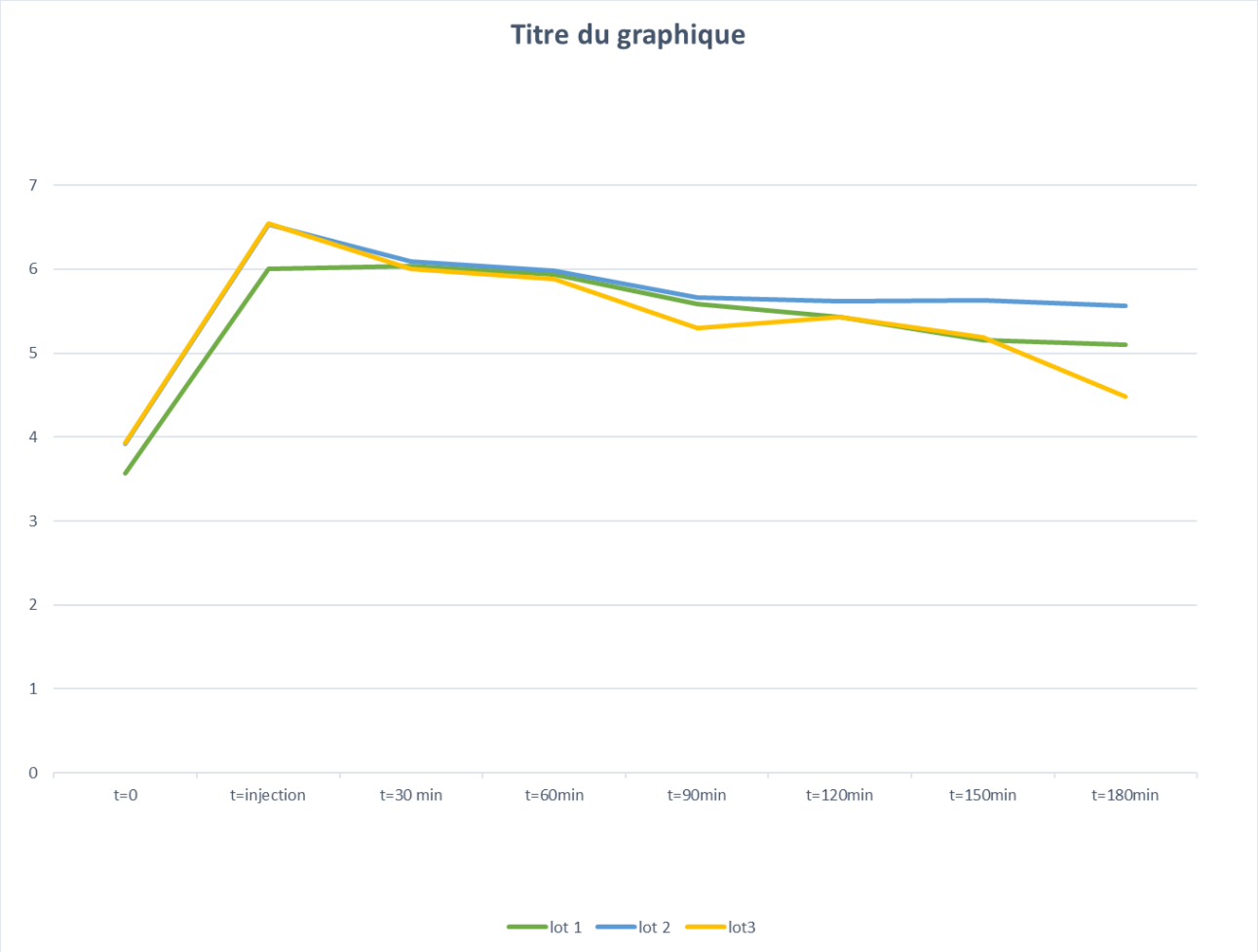



**Figure 58 :** l'évolution des épaisseurs des pattes, pour les 6 lots. (Médéa original ,2021)

- **Lot A :** la légère régression est naturelle, toute inflammation est appelée à disparaître par une réaction de défense de l'organisme, mais la disparition de l'inflammation pour le **lot A** est plus lente que pour le **lot B**, ce qui indique que l'effet phobogène de la carraghénine est prouvé, et par conséquent l'eau physiologique (solvant de dilution) ne provoque pas de l'inflammation.
- **Lot C** : on constate à travers la diminution de l'épaisseur des pattes, que l'inflammation a régressée sensiblement par apport au témoin **A** Figure 58.

Donc notre crème elle possède une activité anti-inflammatoire.

**Résultat de test de la cicatrisation**

Le teste de l'efficacité de crème de crème de la bave d'escargot a été évalué pendant 10 jours vis-à-vis d'un témoin traité avec madcasol. Les résultats obtenus sont résumés dans le (tableau 17).

**Tableau 17 :** Tableau représente la différence entre lapin traité par medicasol et notre crème

| | **Plaie traitée avec madecasol** | **Plaie traitée avec notre crème** |
|---|---|---|
| **1er Jour** |  |  |
| **2ème jour** |  |  |
| **3ème jour** |  |  |
| **4ème jour** |  |  |

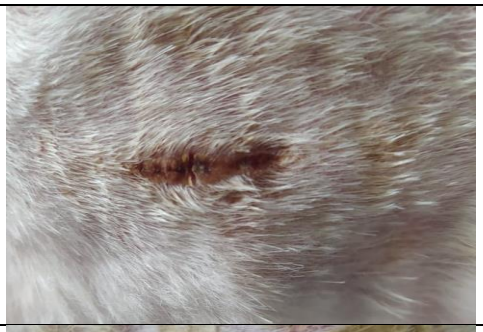
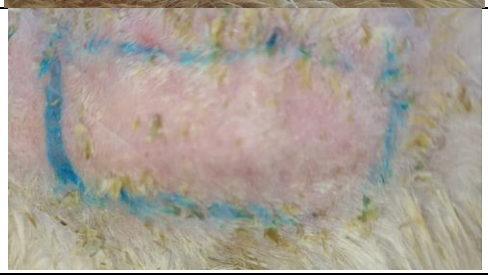
| | | |
|---|---|---|
| **5ème jour** |  |  |
| **6ème jour** |  |  |
| **7ème jour** |  |  |
| **8 ème jour** |  |  |
| **9 ème jour** |  |  |
| **10 ème jour** |  |  |

**Tableau 18 :** L'effet cicatrisant sur lapin traité par medicasol et notre crème

| | Notre crème | Madécasol |
|---|---|---|
| 1ier jour | Plaie bien visible | Plaie bien visible |
| 3 ème jour | Pas d'œdème<br>Diminution légère de plaie de 3.5 cm jusqu'à 2.9 cm<br>Formation d'une crout | Pas D'œdème<br>Diminution de la longeur de plaie de 3.5 cm jusqu'à 2.5cm et formation de crout et debut de grison de plaie par rapport au temoin |
| 10 ème jour | Pas de plaie | Pas de plaie |

Le teste de l'efficacité de crème de crème de la bave d'escargot a été évalué pendant 10 jours vis-à-vis d'un témoin non traité Les résultats obtenus sont résumes dans le (tableau 18).

**Tableau 19 :** Tableau représente la différence entre lapin traité par notre crème et lapin non traité

| | **Plaie traitée avec notre crème** | **Plaie non traité** |
|---|---|---|
| **1er Jour** |  |  |
| **2ème jour 14** |  |  |

| | | |
|---|---|---|
| **3ème jour** |  |  |
| **4ème jour** |  |  |
| **5ème jour** |  |  |
| **7ème jour** |  |  |
| **8 ème jour** |  |  |

| | | |
|---|---|---|
| **9 ème jour** |  |  |
| **10 ème jour** |  |  |

**Tableau 20 :** Comparaison entre notre crème et le témoin non traité

| | Notre crème | Témoin non traité |
|---|---|---|
| 1 jour | Plaie bien visible | Plaie bien visible |
| 3ème jour | Pas d'œdème<br>Diminution de la longueur et l'épaisseur de plaie<br>Formation de croute | Pas d'œdème<br>Diminution légère<br>Formation de croute |
| 10éme jour | Pas de plaie<br>Cicatrisation lisse | Pas de plaie |

**Test d'irritation cutanée**

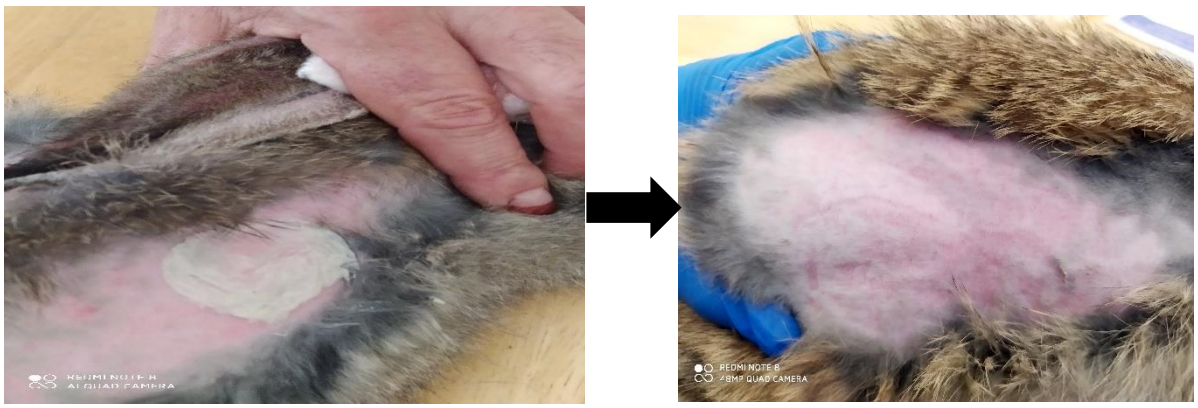


**Figure 59 :** Resultat test irritation cutanée après 72h

**Tableau 21 :** Resultat test irritation cutanée après 72h

| | | |
|---|---|---|
| **Erythème** | **Pas d'érythème** | **0** |
| **Oedème** | **Pas d'oedème** | **0** |

Pour calculer l'indice d'irritation primaire cutanée (IP), on additionne les chiffres relevés pour l'érythème et l'œdème à chaque temps de lecture (24h et 72h après l'application) sur le lapin puis on calcule la moyenne des résultats observés.

- **Résultats**

La moyenne des notes obtenues constitue l'indice d'irritation primaire cutanée IP. Celui-ci permet de classer le produit en 4 types de réponse :

Non irritant : IP ≤ 0.5

Légèrement irritant : 0.5<IP ≤2

Irritant : 2<IPS5

Très irritant : 5<IP 8

Notre produit présent un IP est 0 donc il est non irritant,

Tableau : l'évolution de cicatrisation des lapins traités par notre crème comparé avec les lapins non traités

## IV.5 Discussion Générale

Dans le premier tableau du 1er jour jusqu'à 3ème jour la plaie traitée par Madecasol reste visible, et on a remarqué qu'il n'y a pas de diminution de longueur de plaie par rapport la plaie traitée par notre crème d'où on observe que la plaie devient moins visible que le 1er jour en constatant une diminution de la longueur de plaie Le 5ème jour. Le 9ème jour on a remarqué une diminution de longueur de plaie dans les deux cas mais pour notre crème la guérison est plus rapide que Madecasol notant aussi une repousse des poils et régénération des cellules.

Dans le 2ème tableau le 1er jour les plaies ont été visible Par contre dans le 11ème jour cicatrisation total des plaies, et repousse poils Pour les plaies non traités Dans les 1ers jours la plaie est ont été visible jusqu'à dernier jour en constatant qu'il n'y a pas de diminution de longueur de plaie.

Notre crème donne un bon résultat pour la cicatrisation des plaies et la régénération des cellules et plus rapide que le lapin non traité, ainsi que ou la crème Madecasol, de nombreuse étude confirme l'efficacité des ingrédients composant notre crème Selon le travail de **Jade Allègre**

**(2012)** explique le mécanisme d'action des argiles sur la destruction des bactéries pour tuer tous les bactéries capable de rentrer dans les plaies : « Les premiers travaux sur cette bactéricidie évoquent un mécanisme lié au fer ferreux et à la production de radicaux hydroxyles, selon la réaction de Fenton. La réaction de Fenton est une réaction d'oxydation avancée aboutissant à la formation du radical hydroxyle OH, qui est le deuxième oxydant le plus puissant présent dans la nature après le fluor (la réaction de Fenton constitue de nos jours une méthode efficace permettant de lutter contre les micropolluants organiques présents dans les effluents industriels et agricoles et, plus généralement, pour le traitement des eaux usées).

Or, selon Michel Rautureau, toutes les argiles contiendraient également du fluor, en remplacement d'oxygènes ou d'hydroxyles, pour un pourcentage pouvant s'élever à 5%. En effet, le rayon atomique de l'ion fluor, 36 Angströms, est très voisin de celui de l'oxygène et de l'hydroxyde qui est de 40 Angströms **(Linus Pauling, Nature de la liaison chimique, Paris, PUF 1949, page 381).**

Le lixiviat de ces argiles est aussi efficace que le minéral lui-même contre les bactéries, et garde cette efficacité pendant plusieurs mois. La concentration en fer à l'intérieur des bactéries E.coli tuées est multipliée par 8 par rapport aux témoins, la concentration en fer globale de la bactérie étant vingt fois plus élevée. Ces études ont été entreprises en vue d'applications d'argiles par voie externe sur plaie infectée. **» (J. Allègre, 2012)** et une autre étude de l'OMS pour l'argile, présentée par **le professeur Carbonnelle du laboratoire de bactériologie du CHU d'Angers en 2002** explique le mécanisme de cicatrisation d'ulcer qui est plus difficielle d'une plaie dans la peau, a été réalisée sur l'ulcère de Buruli et son traitement par l'argile. L'ulcère va grandir jusqu'à cesser d'évoluer sans explication. Toute médication est inefficace sur les cas avancés, néanmoins elle peut arrêter la progression de la maladie si elle est administrée à un stade précoce. C'est un médecin australien qui a mis en évidence le rôle de la bactérie dans l'ulcère de Buruli. Line de Courssou, infirmière, est l'instigatrice du traitement de l'ulcère de Buruli à base de cataplasmes d'argile, en Côte d'Ivoire. Elle a commencé à utiliser cette thérapeutique il y a 25 ans, lorsqu'elle a rencontré des malades présentant des « ulcères sans fin ». Ce traitement comprend de l'illite verte (de chez Argiletz) ainsi que de la montmorillonite (de chez Argicure). Ces argiles sont d'origine française, les lots reçus sont préalablement analysés par le Laboratoire d'Hygiène et de Recherche en Santé Publique de l'Université H. Poincaré Nancy 1 certifiant l'absence de contamination selon les paramètres biologiques. L'argile est préparée la veille et sera appliquée en cataplasme de 2cm d'épaisseur.

L'équipe de soins change les cataplasmes d'une à trois fois par jour, le nettoyage se fait via l'eau du puit et la détersion des plaies avec de l'eau argileuse (10% du volume d'argile). A un certain stade d'évolution de la détersion les cataplasmes d'illite sont remplacés par des cataplasmes de montmorillonite. La montmorillonite est moins absorbante que l'illite et plus adsorbante et reminéralisante. La montmorillonite régénère les tissus et stimule-leur auto guérison par des échanges ioniques. Une fois l'ulcère propre il est nettoyé au sérum physiologique. L'argile respecte le vivant, les tissus ne sont pas altérés par le cataplasme, au contraire, ils sont régénérés. En ce qui concerne l'ulcère, l'argile a plusieurs effets, une résorption des œdèmes en deux à trois jours voire moins, une disparition ou une ouverture des nodules qui ensuite subissent le même processus que l'ulcère. Le traitement va provoquer une détersion des plaques, ceci est mal vécu par les patients qui voient un ulcère apparaitre et éjecter les chairs en décomposition libérant également une odeur. L'argile va permettre une détersion dite « vigoureuse mais non agressive » de l'ulcère par élimination des nécroses tout en protégeant les parties saines. L'argile agit comme capteur d'odeur des chairs en décomposition. Les bactéries et toxines sont absorbées par l'argile. Le traitement par cataplasme caractérise une absence d'hémorragie, uniquement la présence de filaments de sang coagulés.

Cette méthode est apparentée à la médecine ancestrale, dont l'efficacité est appréciée aux vues des résultats L'argile, dans le traitement de l'ulcère de Buruli, présente de nombreux avantages dont : la non nécessité de chirurgie, un traitement non invasif, de faible coût de soins (0,50€/jour et par malade), une résorption rapide des œdèmes, le respect des tissus vivants, le traitement de tous les types d'ulcères même les formes les plus avancées, de faibles douleurs contrairement aux pansements, plus de transfusion sanguine, plus d'hémorragie, plus d'anesthésie, plus d'angoisse de la chirurgie**. (Kingsley et alii, 2002).**

Et une autre étude **(International Journal of Pharmaceutics, Jemima Daniela Dias Moraes et all, 2017)** confirme que l'argile possède une propriété de régénération des cellules : L'argile est reconnue pour ses propriétés régénérantes cutanées ; elle possède des propriétés cicatrisantes, détoxifiantes, anti-âge et anti-inflammatoires. Elle garantit une amélioration de la synthèse de collagène pour un effet anti-rides reconnu**. (Junqueira LC et all, 1979)** dont la silice biogène (le composant actif), la bentonite raffinée de Porto Santo et l'hydroxyde de sodium (conditionneur de pH). Selon eux, le silicium fourni par la silice biogène est essentiel à la synthèse des fibres de collagène de type 1 ainsi qu'une meilleure migration des cellules.

Pour Mucus H Aspersa Müller a déjà été rapporté comme ayant différents propriétés, telles que L'activité cicatrisante. **(Bortolotti D et al, 2016)** et la réparation des plaies. **(Trapella C et al, 2018)**

Le mucus de H. Aspersa Müller aurait plusieurs propriétés thérapeutiques, stimule la prolifération des fibroblastes et réarrangement du cytosquelette d'actine. Mécanismes supplémentaires impliqués dans l'effet régénérateur de la bave inclus la stimulation de l'assemblage de la matrice extracellulaire et la régulation des activités métalloprotéinases.

L'ensemble, ces effets fournissent un éventail de mécanismes moléculaires sous-jacents la régénération cellulaire induite par la bave et postulent son utilisation dans régénération des tissus blessés**. (MC Daniel. D et al ,2018) ; (Valacchi. G et al, 2012) ;( Weber.SU et al, 2001)**

La propolis aussi accélère la régénération des tissus abimés (pulpe dentaire, tissus hépatiques, osseux). Ces actions sont dues à l'activité antioxydante des flavonoïdes qui piègent les radicaux libres ainsi qu'à des acides phénoliques et certains acides aminés comme la choline (dans la division donc le renouvellement cellulaire) ou la proline (dans la synthèse de collagène, de l'élastine et de facteurs intervenant dans l'élasticité de la peau**) (Blanc, 2010).**

La propolis restructure les membranes capillaires cutanées et la néoformation vasculaire, stimulant les processus métaboliques au niveau cellulaire et tissulaire, lutte contre l'hypoxique tissulaire, réactive les processus enzymatiques et aide à la reformation de la substance fondamentale **(Apimondia. 2001 : Domerego et al., 2009).**

# *CONCLUSION*

## Conclusion

Dans ce travail nous avons étudié l'efficacité de la bave d'escargot sur les cicatrisations, et après les analyses et le test in vivo qui nous avons fait sur la crème nous concluons que la bave d'escargot ou cette principe actif il est efficace sur les cicatrisations. 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 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. La bave d'escargot a été choisie comme un modèle pour tester la procédure de développer une formule pour l'étude de l'activité cicatrisante Une méthode pas-a-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. Le 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 est d'avoir une base de données sur la composition des crèmes base de la bave d'escargot, puis de choisir les excipients communs et de chercher dans la bibliographie les limites d'accessibilité.

Ainsi que dans le domaine de la recherche biologique, beaucoup d'efforts ont été réalisés ces dernières années pour la recherche de nouveaux traitements à base de plantes et des produits naturels, l'étude de leurs éléments d'efficacité et la compréhension de leur mode d'action. Au cours des travaux réalisés dans la présente thèse, nous nous sommes focalisés sur la propolis qui constitue la véritable usine chimique dont il faut tirer le maximum de profit pour le bienêtre et la santé de population. Pour cela, un échantillon de propolis été recueilli appartenant à la région de Médéa dans le but de la réalisation d'une étude phytochimique, en bénéficiant des résultats obtenus dans la valorisation de cette propolis dans le domaine thérapeutique et cosmétique. Dans un premier temps, nous avons procédé à la réalisation d'une série d'analyses physiques et chimiques, suivit d'une quantification de la teneur en polyphénols totaux, flavonoïdes, par l'analyse GCMS ou on a trouvé plus de 40 molécules mais on a pu identifier seulement 4 molécules, ainsi qu'une évaluation de l'activité antioxydante et antimicrobienne. Et enfin, une formulation d'un produit cosmétique à base de la propolis qui joue le rôle d'un

conservateur L'estimation de l'activité antioxydante effectuée par la méthode de DPPH sur les échantillons de propolis et a confirmé les propriétés puissantes des extraits éthanoliques à piéger les radicaux libres. Les résultats obtenus de l'effet antimicrobien (antibactérien et antifongique) permettent de constater que toutes les souches testées sont sensibles à l'action inhibitrice des propolis analysés, avec des différences de degré d'inhibition avec des diamètres compris entre 20 – 27 mm, Cela montrent que toute les souches utilisés sont Extrêmement sensible (+++) à l'extrait de propolis, ce qui indique un large spectre d'action antibactérienne des propolis. De l'ensemble des résultats microbiologique, les zones d'inhibitions enregistrées prouvent que les propolis étudiées sont de bonne action antimicrobienne, ce qui assure leur qualité thérapeutique Les résultats obtenus lors d'études réalisées permettent de prouver l'effet antimicrobien et antioxydant tout en renvoyant cela à la richesse en polyphénols totaux ainsi qu'en flavonoïdes totaux, qui renvoient à leur tour aux patrimoines floraux de provenance de propolis.

Nous avons travaillé aussi sur l'argile qui est liée à la vie. Elle a toujours fait partie du quotidien. Potentielle source de vie, abri, outil, thérapie, l'argile est une ressource riche et bonne marché. A l'officine, le patient est au centre de la démarche du praticien. Le conseil avec l'argile peut être ce qu'il recherche et ce qui lui faut. La prise en charge, le conseil ainsi que le suivi étant le cœur du métier officinal, seule une formation permet de proposer au patient ce qui lui sera optimal, créant un lien et donc une confiance avec le professionnel de santé. L'argile n'a pas seulement, en santé, des vertus beauté́ et bien être. Elle représente surtout une alternative aux thérapeutiques classiques dans les domaines du soin des plaies, qu'elles soient digestives ou cutanées, la cicatrisation, l'antalgie, l'inflammation, le renforcement de l'organisme, du système osseux, la croissance, le renouvellement cellulaire. Ses nombreuses propriétés interagissent avec l'organisme à de nombreux niveaux. Elle pourrait enfin, devenir une solution galénique pour demain à haute valeur ajoutée.

# *Référence Bibliographique*

## Référence Bibliographique

### *A*


- Abdel-Fattah NS, Nada OH., (2007). Effect of propolis versus metronidazole and their combined use in treatment of acute experimental giardiasis. J Egypt Soc Parasitol. Aug; 37 (2 Suppl): 691-710. Africa /African Invertebrates 44, P327-341
- Adrianne, L'argile, médecine ancestrale de la tradition aux preuves scientifiques, éditions Amirys SPRL, dépôt légal : 4e trimestre 2003, ISBN : 2-930353-15-5.
- Agra DR, Evangelista A, Marcucci MC et al., (2006). Physicochemical characteristics and antimicrobial activity of the extracts propolis of the Paraiba, Brazil. Cienc Rural; 36(6):1842-1848.
- Ahn, M.-R. ; Kumazawa, S. ; Usui, Y.; Nakamura, J.; Matsuka, M.; Zhu, F.; Nakayama, T., (2007). Antioxidant Activity and Constituents of Propolis Collected in Various Areas of China. Food Chemistry, 101, 1383–1392.
- Allègre, Les silicates d'alumine (argiles) en thérapeutique une pratique coutumière ancienne relayée dans la médecine moderne, thèse de médecine, soutenue publiquement à Bobigny, le 19 décembre 2012.
- Amoros, M., Simoes, C.M., Girre, L., Sauvager, F., Cormier, M., (1992). Synergistic effect of flavones and flavonols against herpes simplex virus type 1 in cell culture. Comparison with the antiviral activity of propolis. Journal of Natural Products 55, 1732-1740. anonyme06, https://fr.wikipedia.org/wiki/Spectroscopie_ultraviolet-visible
- APIA (Agence de Promotion des Investissements Agricoles), 2004. L'élevage d'escargots –Partie monographique. Ministère de l'Agriculture, de l'Environnement et des Ressources Hydrauliques, 108 p.
- Apimondia - standing commission of apitherapy (2001) Traité d'Apithérapie, La médecine par les abeilles [cédérom] v.1.01 PC-Mac Produit par Api-Ar International SA Ŕ Brussels. 2001 ISBN : 29600270-0-0.
- Apimondia standing commission apitherapy (2001) Traité d'Apithérapie, médecine par abeilles [cédérom] v.1.01 PC-Mac Produit Api-Ar International SA Brussels. 2001 ISBN: 29600270-0-0.
- AS. Pereira, M. Norseil, J.N. Cardoso, F.R. Aquino Netoet M.F.S. Ramos, J. Agric. Food Chem. 48 (2000) 5226-5230

- Aupinel P., Vrillon L. & Bonnet J.C., 1990. L'escargot *Helix aspersa* (Biologie, élevage), INRA Ed., Collec. Du Laboratoire au terrain, 365 p.
- Avagnina, G., (2009). *Héliciculture*. Cherasco. Institut International d'Héliciculture de Cherasco. Italie : GrafícheFassicomo. 21-22.

***B***

- Bankova V., Marcucci MC., Simova S., Nikolova N., Kujumgiev A., Popov S. (1996) Antibacterial diterpenic acids from Brazilian propolis Z. Naturforsch C. 51(5-6) :277- 80.
- Bankova, V. Dyalgerov, A., Popov, S. and Marekov, N.L. (1987). A GC/MS study of the propolis phenolic constituents. Z. f. Naturforschung, 42:147-151.
- Barbarić, M.; Mišković, K.; Bojić, M.; Lončar, M. B.; Smolčić-Bubalo, A.; Debeljak, Ž.; Medić-Šarić, M., (2011). Chemical Composition of the Ethanolic Propolis Extracts and Its Effect on HeLa Cells. Journal of Ethnopharmacology, 135, 772–778.
- *Bernardos, A., Bozik, M., Alvarez, S., Saskova, M., Perez-Esteve, E., Kloucek, P., Martinez-Manez, R. (2019). The efficacy of essential oil components loaded into montmorillonite against Aspergillus niger and Staphylococcus aureus. Flavour and Fragrance Journal, 34(3), 151–162*
- Blanc M., (2010). Propriétés et usage médical de produits de la ruche. Thèse : Doctorat Pharmacie, Université de Limoges.
- Bogdanov, S., (2016). Propolis: Composition, Health, Medicine: A Review, Bee Product Science, 6.
- Bonnemain B. Helix and drugs: snails for Western health care from antiquity to the present. Evid Based Complement Alternat Med. 2005; 2:25–28
- Bonnemain B., (2003). Hélices et médicaments : l'escargot au service de la santé depuis l'Antiquité jusqu'à nos jours. *Rev. Hist. Pharm.* 338: 211-218.
- Bonneville, E.N. Moyen, M.T. Droy-Lefaix, J.L. Fauchère, In vitro effect of smectite on Campylobacter pylori adhesion upon epithelial cells. Gastroentérologie Clinique et Biologique 14 : Abstract 123, 1990.
- Borrelli F, Maffia P, Pinto L et al., (2002). Phytochemical coumpounds involved in the anti-inflammatory effect of propolis extract. Fitoterapia ; 73(1) :53-63.
- Bortolotti D, Gentili V, Rotola A, Cultrera R, Marci R, Di Luca D et al. HHV-6A infection of endometrial epithelial cells affects immune profile and trophoblast invasion. Am J Reprod Immunol. 2019; 82: e13174. https://doi.org/10.1111/aji.13174 PMID: 31338899

- Boukraâ L., Sulaiman SA. (2009) Rdiscovering the antibiotics of the hive Recent Pat. Antiinfect. Drug Discov. 4(3) : 206-13.
- Brand-Williams, M.E. Cuvelier, C. Berset; (1995) ‘’Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity ‘’; Lebensmitel–Wissenschauft und Technologie;28; 2530.
- Burdock, GA (1998). Review of the biological properties and toxicity of bee propolis (propolis). Food and Chemical Toxicology 36, 347-363.


## *C*


- *Carretero, M. I. (2002). Clay minerals and their beneficial effects upon human health. A review. Applied Clay Science, 21(3-4), 155-163*
- Castaldo, S., Capasso, F., (2002). Propolis, an old remedy used in modern medicine. Fitoterapia, 73 (1), 1-6.
- Chase R. 1986. Lessons from Snail Tentacles, *Chemical Senses*, 11(4) : 411-426.
- Chen CN., Hsiao CJ., Lee SS., Guh JH., Chiang PC., Huang CC. Huang WJ. (2011) Chemical modification and anticancer effect of prenylated flavanones from Taiwanese propolis Nat. Prod. Res. Jul 27 Epub ahead of print.
- Chevallier, H., (1977). La variabilité de l'escargot Petit-Gris (*Helixaspersa*Müller). *Bulletin du Muséum National d'Histoire Naturelle*, 3ème série, 448, *Zoologie*, 311.
- Crane, E., (1999). History of other products from bees the world history of beekeeping and honey hunting, Gerald Duckworth & Co Ltd, London, pp. 545-553.


## *D*


- Dcschmidt, 2008. Les deux paires de tentacules d’un escargot. Dans Wikipédia. Consulté en ligne le : 03 juin 2014 à l’url :
- De Castro SL, Higashi KO., (1995). Effect of different formulations of propolis on mice infected with Trypanosoma cruzi. J Ethnopharmacol. ; 46(1) : 55-8.
- Debuyser, E. (1984). La propolis. Thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie. Université de Nante, Faculté de pharmacie.
- Descouens D., 2012. Forme *senestre* (à gauche) et *dextre* (à droite) du Petit-Gris. Dans Wikipédia. Consulté en ligne le : 01 juin 2014 à l’url :
- Docteur Yves Donadieu, les produit de la ruche. 3ième Edition.1981
- Domerego R., Imbert G., Blanchard C. (2009) Les remèdes de la ruche Editions Alpens, Monaco, 95p.

- Donadieu, Y. (1981). Les produits de la ruche. 3ième Edition. Donadieu, Y. (2008) Naturellement vôtre avec... La propolis ; Naturellement vôtre avec...; Danglès. ; France, 2008.
- Donadieu, Y. (2008) Naturellement vôtre avec ... La propolis ; Naturellement vôtre avec... ; Danglès. ; France, 2008.
- Dos Santos Pereira, A.C. Pinto, J.N. Cardoso, F.R. de Aquino Neto, M.F. de Souza Ramos, G.M. Dellamora-Ortiz et E.P. dos Santos, J. High Resolu. Chromatogr. 21(1998) 396-400
- Dreno 2010 Acne: What's new? Journal de pédiatrie et de puériculture (2010) 23, 249—253.

***E***

- Eric Debuyser., 1984. La propolis. Thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie. Université De Nante, Faculté de pharmacie
- Erlund I., 2004. Review of the flavonoïds quircétine, hesperten and narginine. Dietary sources, bioactivities, bioavailability and epidemiology. Nutr Res 24: 851 – 74.
- F. Villieras, Argiles : histoire d'avenir, éditions Récréateurs, dépôt légal : 2008.
- Farseni AP., Aquino-Ferreira R., De Jong D., Bastos JK. Soares AEE. (2009) Effects of stingless bee and honeybee propolis on four species of bacteria Genetics and Molecular Research 8(2):635-640
- Fearnley, J., (2001). Bee propolis: natural healing from the hive. Souvenir Press London, pp. 172.

***F***

- Fountain, D. W. The Lectin-Like Activity of Helix-Aspersa Mucus. Comp. Biochem. Phys. B. 80, 795–800 (1985).

***G***

- G Heberta, M. L Hamerb, M. Manderc, N. Mkhizea and F Prinsa, (2003)., Invertebrate animals as a component of the traditional medicine trad in KWzule-Natal,South
- G.A. Burdock, Food Chem. Toxicol. 36 (1998) 347-363
- Gabrys, J. (1986). Free amino acids in bee hive products (propolis) as identified and quantified by gas-liquid chromatography. Pharmac. Research Communications 18 (6): 513518.
- Genya Gekker.; Shuxian Hua.; Marla Spivak.; James R.; Lokensgard.; Phillip K. Peterson. (2005). Anti-HIV-1 activity of propolis in CD4+ lymphocyte and microglial cell cultures.

Journal of Ethnopharmacology 102 (2005) 158-163. Gharbi, M. (2011). Les produits de la ruche : origines - fonction naturelle-composition propriété thérapeutiques.

- Ghedia K. (2005). Les flavonoïdes : structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. Phytothérapie (2005) Numéro 4 : 162-169
- Ghedira. ; P. Goetz. ; R. Le Jeune. 2009. Propolis. Phythothèrapie 7: 100-105
- Ghisalberti, E. L (1979). Propolis a review. Bee World 60, 59-84.
- Ghisalberti, E.L., Jefferies, P.R., Lanteri, R. Matisons, J., (1978). Constituents of propolis. Experientia, 34 (2), 157-158.
- Golder, W., (2004). Propolis. The bee glue as presented by the graeco roman literature. Wurzburger Medizinhistorische Mitteilungen journal, 23, 133-145.
- Gomot, A. Biochemical composition of Helix snails: Influence of genetic and physiological factors. J. Mollus. Stud. 64, 173–181 (1998).
- Gomot, A. Biochemical composition of Helix snails: Influence of genetic and physiological factors. J. Mollus. Stud. 64, 173–181
- Grandjean et Aloi, Use of smectite in acute diarrhoea in sledges dogs, Reccueil de médecine vétérinaire, 168:5, éditions Ecole nationale Vétérinaire de Maison Alfort France, 1992, pages 323-329.
- Greistorfer, S. *et al*. Snail mucus - glandular origin and composition in Helix pomatia. *Zoology*. 122, 126–138 (2017).

***H***

- H.Fabien. Modélisation des diffractogrammes de minéraux argileux en assemblages complexes dans deux sols climat tempère. Implications minéralogique et pédologique. Université de POITIERS. P.35, 2008.
- H.J. Samson, J.P. Pearson, E.D. Srivastava, M.T. Droy-Lefaix, A. Allen, Increased serine dependant proteinases in ulcerative colitis : mucolysis and inhibition by diosmectite, Gastroenterology 108, Abstract 909, 1995.
- Häkkinen S.; 2000. Flavonols and phenolic acids in berries and berry products. These doctorale. KUOPIO. 93p.
- Havsteen B. H., 2002. The biochemistry and medical significance of the flavonoïds.
- Hegazi, A. G (1997). Propolis an overview. International SymposiumCairo 8 and 9th Egypt.onApitherapy
- helminthicorum, et testaceorum, non marinorum, succincta historia. Volumenalterum. - pp. I-XXXVI [= 1-36], 1-214, [1-10]. Havniæ&Lipsiæ. (Heineck & Faber) ; p. 59

- helminthicorum, et testaceorum, non marinorum, succinctahistoria. Volumenalterum. I-XXXVI, 59
- Hernot, F. (2006). L'argile, son utilisation à l'officine. http://dune.univ-angers.fr/fichiers/20073109/2016PPHA5426/fichier/5426F.pdf

***I***

- International Journal of Pharmaceutics ,Jemima Daniela Dias Moraes, Silvana Raquel Alina Bertolino, Silvia Lucia Cuffini, Diego Fernando Ducart, Pedro Eriberto Bretzke, Gislaine Ricci Leonardi , 2017

***J***

- J.J. Gonzalez, W. Owens, P. C. Ungaro, E. E.Jr. Werk, P. W. Wentz, Clay ingestion: a rare cause of hypokalemia. Ann Intern Med, 1982, 97(1), pages 65-66.
- J.P. Pearson, D. Ayre, M.T. Droy-Lefaix, A. Alle, Mucolysis of the colonic mucus barrier by oxygen free radicals : implication for ulcerative colitis, Gastroenterology 110 : Abstract 988,
- *Junqueira LC, Bignolas G, Brentani RR. Picrosirius stain- ing plus* polarization microscopy, a specific method for collagen detection in tissue sections. Histochem J 1979; 11: 447–5

***K***

- K .Charradi. Contribution des argiles ferrifères à l'élaboration de biocapteurs ampérométriques : Etude de l'interaction de l'hémoglobine avec des argiles et des hydroxydes doubles lamellaires. Université de GRENOBLE. P .5- 6,2010.
- Katalinic V., Milos M., Kulisic T et Jukic M. 2006. Screening of 70 medicinal plant extract for antioxidant capacity and total phenol. Food Chem, 94: 550 – 557.
- Khayyal MT, El-Ghazaly MA et El-Khatib as., (1993). Mechanisms involved in the anti-inflammatory response of propolis extract. Drugs Exp Clin Res ; 19(5) : 197-203.
- Khediri, A.I. Mrad, M. Azzouz, H. Doughi, T. Najjar, H. Mathiex-Fortunet, P. Garnier, A. Cortot, Efficacy of Diosmectite (Smecta) in the Treatment of Acute Watery Diarrhoea in Adults : A Multicentre, Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled, Parallel Group Study. Gastroenterology Research and Practice, 2011.
- Kim MJ et al. (2011) Antimicrobial effect of Korean propolis against the mutans streptococci isolated from Korean J. Microbiol. 49(1):161-164
- Kingsley et alii, Buruli ulcer, Mycobacterium ulcerans infection: rapport de l'OMS, WHO/ CDS/CPE/GBUI/2000.1, 2002.

- Koo H, Vacca Smith AM, Bowen WH et all., (2000). Effects of apis mellifera propolis on the activities of streptococcal glucosyltransférase in solution and adsorbed onto saliva-coated hydroxyapatite. Caries Res ; 34(5):418-426
- Krell. R. (1996). Value edded products from beekeeping. Food and agriculture organization of the United Nations Rone. Chapitre 5. Marcucci, M.; 1995. Propolis: chemical compostion, biological properties and therapeutic activity. Apidologie, 26, 83-99.
- Kumazawa S, Hamasaka T et Nakayama T., (2004). Antioxydant activity of propolis of various geographic origins. Food Chemistry; 84:329-339.


***L***


- L.B. Williams, S.E. Haydel, Evaluation of the medicinal use of clay minerals as antibacterial agents. Int Geol Rev 52 (7-8), 2010, pages 745-770.
- Ledergerber S., Baur A. & Baur B., 1999. Growth of juvenile *Arianta arbustorum* (Linnaeus, 1758) fed on white clover (*Trifolium repens* L.) grown under ambient or elevated atmospheric CO2. *Folia malacologia*, 7: 171-175.
- Leila. Etude de pouvoir de sorption du cuivre II, du zinc II et des polyphénols par les bentonites sous l'effet des irradiations micro-onde. Université de Mouloud Mammeri de TIZI-OUZOU .P.3-5, 2011.
- Lejeune. B. ; Pourrat, A. et Dehmouche. H. 1988. Propolis utilisation en dérmocosmetologie. Parfums, Cosmétiques, Aromes: 73-77.
- Leonard, M.T. Droy-Lefaix, A. Allen, Pepsin hydrolysis of the adherent mucus barrier and subsequent gastric mucosal damage in the rat: effect of diosmectite and 16-dimethyl prostaglandin E2, Gastroenterol Clin Biol 18 (6-7), 1994, pages 609-616.


***M***


- M. Popova, S. Silici, O. Kaftanoglu, V. Bankova ; 2005. Antibacterial activuty of Turkish propolis and its qualitative and quantitative chemical composition. phytomedcine 12 (2005)221-228
- M.Lakhdar. Méthodologie d'étude et techniques d'identification des paramètres de comportement des sols fins soumis à des cycles de sécheresse prolongée (applicationaux argiles expansives de m'sila) .Université Mohamed Boudiaf M'SILA. P .6-7-10,2006
- M.T. Droy-Lefaix, Y. Drouet, G. Geraud, B. Schatz, Cytoprotection intestinale. Gastroenterol. Clin. Biol. 9, 1985, pages 37-44.
- M.T. Droy-Lefaix, Y. Drouet, G. Geraud, B. Schatz, Cytoprotection intestinale. Gastroenterol. Clin. Biol. 9, 1985, pages 37-44.

- M.Y. Brouillard, J.G. Rateau, Pouvoir d'adsorption de deux argiles, la smectite et le kaolin sur des entérotoxines bactériennes. Gastroenterolog. Clin. Biol. 13 : 18-24, 1989.
- Mahraoui, M. Heyman, O. Plique, M.T. Droy-Lefaix, J.F. Desjeux, Apical effect of diosmectite on damage to the intestinal barrier induced by basal tumour necrosis factor al-pha, Gut 40, 1997, pages 339-343.
- Marcucci, M.; 1995. Propolis: chemical compostion, biological properties and therapeutic activity. Apidologie, 26, 83 – 99.
- Martin RS, Pereira ES, Lima SM, Senna MI, Mesquita RA, Santos VR., (2002). Effect of commercial ethanol propolis extract on the in vitro growth of Candida albicans collected from HIV-seropositive and HIV-Seronegative Brazilian patients with oral candidiasis. J Oral Sci. Mar; 44(1):41-8.
- Martinez, F. Agnely, J. Siepmann, B. Leclerc, M. Cotte, S. Geiger ET G. Couarraze « Crosslinking of chitosan and chitosan /poly (ethylene oxide) beads: A theoretical treatment » J. Contr. Release, 02 septembre (2007) -vol 67, p (339-348).
- Mathieu. .Interactions entre argile ammoniée et molécule organiques dans le contexte du stockage des déchets. Cas de molécules à courtes chaînes. Université D'ORLÉANS. P .24, 200.
- Meknini, P. Bernades, Etude comparative de l'effet de Bedelix sur la surproduc- tion de gaz intestinaux induite par un repas riche en hydrates de carbone fermentescibles, Mé- decine et Chirurgie Digestives 23 (7), 1994, pages 442-444.
- Metzner, J., Schneidewind, E. M (1997). Studies on the question of potentiating effects of propolis constituents. Pharmazi 33 (7). German.
- Meyer-Rochow VB. Therapeutic arthropods and other, largely terrestrial, folk-medicinally important invertebrates: a comparative survey and review. J Ethnobiol Ethnomed. 2017 ; 13:9.
- Mizuno. M. ; linuma. M. ; et Kato. H. 1987. Useful ingredients and biological activity of propolis. Fragrance Journal, 15(2): 20-28.
- Mohamad. Modélisation de comportement hydromécanique des sols gonflants non saturés. Institut national polytechnique de LORRAINE. P .6, 2005.
- Mohamed Réda. Etude de la cristallisation et des propriétés mécaniques et diélectriques de céramiques préparés à partir de kaolin-dolomite. Université El-Hadj Lakhder –BATNA .P .3-4-5-8-9-10-12-13-14, 2010.

- Molyneux, P. (2004). The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity songklanakarin. Journal of science technology, 26 (2): 211219.
- Morel, (2017)., Bave d'escargot un secret de beauté à porter de main. Alternative
- Müller, O. F., (1774). Vermivmterres trium et fluviatilium, seuanimaliumin fusoriorum,

***N***

- Neumann. D. ; Gotze G. ; et Binus. W. 1986. Clinical study of the testing of the inhibition of plaque and gingivitis by propolis. Stomatologie der DDR : 677-681
- Newar, J. & Ghatak, A. Studies on the Adhesive Property of Snail Adhesive Mucus. *Langmuir*. 31, 12155–12160 (2015).
- Newar, J. & Ghatak, A. Studies on the Adhesive Property of Snail Adhesive Mucus. Langmuir. 31, 12155–12160 (2015).
- Nicola Volpi.; Gianluca Bergonzini. 2006. Analysis of flavonoids from propolis by on- line HPLC-electrospary mass spectrometry. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis 42: 354 – 361.

***O***

- Orsatti, C. L. ; Missima, F. ; Pagliarone, A. C. ; Sforcin, J. M., (2010). Th1/Th2 Cytokines' Expression and Production by Propolis-Treated Mice. Journal of Ethnopharmacology, 129, 314–318.
- Orsi, R. O.; Funari, S. R. C.; Soares, A. M. V. C.; Calvi, S. A.; Oliveira, S. L.; Sforcin, J. M.; Bankova, V., (2000). Immunomodulatory Action of Propolis on Macrophage Activation. Journal of Venomous Animals and Toxins, 6, 205–219.
- Orsolic, N., (2010). A review of propolis antitumour action in vivo and in vitro. Journal of ApiProdruct and ApiMedicalScience, 2 (2), 1-20.
- Ouachem, M. Soltane, K. Abbas, L'argile améliore la croissance des ovins (Clay improves the growth of sheep), Renc. Rech. Ruminants, 2005.
- Papay, V. (1987). Chemical and pharmacological study of propolis from various locations. Acta Pharmac. Hung., 57:143-151.

***P***

- Park, J. H.; Lee, J. K.; Kim, H. S.; Chung, S. T.; Eom, J. H.; Kim, K. A.; Chung, S. J.; Paik, S. Y.; Oh, H. Y. (2004) Immunomodulatory Effect of Caffeic Acid Phenethyl Ester in Balb/c Mice. International Immunopharmacology, 4, 429–436.

- Pol D., 2001. Ondes de contraction sur la face ventrale des pieds d'escargots. Dans Biologie animale : Locomotion. Consulté en ligne le : 03 juin 2014 à l'url :
- Pol D., 2006. Orifice respiratoire chez l'escargot. Dans Biologie animale : Respiration. Consulté en ligne le : 03 juin 2014 à l'url :
- Pons, F., Koenig, M., Michelot, R., Mayer, M. & Frossard, N. The bronchorelaxant effect of helicidine, a Helix pomatia extract, interferes with prostaglandin E2. Pathol. Biol. (Paris). 47, 73–80 (1999).
- Pons, F., Koenig, M., Michelot, R., Mayer, M. & Frossard, N. The bronchorelaxant effect of helicidine, a Helix pomatia extract, interferes with prostaglandin E2. Pathol. Biol. (Paris). 47, 73–80 (1999).
- Popova, M. ; Silici, S.; Kaftanoglu, O.; Bankova, V., (2005). Antibacterial Activity of Turkish Propolis and Its Qualitative and Quantitative Chemical Composition. Phytomedicine, 12, 221-228.
- Popovici, C. ; Saykova, I. ; Tylkowski, B., (2009). Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. Revue de génie industriel, 4, 25–39. 1996.

***Q***

- Quibik, 2007. Schéma en coupe de l'anatomie d'un escargot. Dans Wikipédia. Consulté en ligne le : 01 juin 2014

***R***

- R. Benjamin. Modélisation multi-échelles du comportement de l'eau et des ions dans l'argile. Université pierre et marie curie PARIS .P .9, 2007.
- R. KRELL., 1996. Value - edded products from beekeeping. Food and agriculture organization of the United Nations Rone.Chapitre 5.
- Raghukumar, R.; Vali, L.; Watson, D.; Fearnley, J.; Seidel, V., (2010). Antimethicillin-resistant Staphylococcus Aureus (MRSA) Activity of "Pacific Propolis" and Isolated Prenylflavanones. Phytotherapy Research, 24, 1181–1187.
- Ramanauskienè K., Inkèniene AM. (2011) Propolis oil extract: quality analysis and evaluation of its antimicrobial activity Nat. Prod. Res. Jun 30.
- Ransome, H.M., (1937). The sacred bee in ancient times and folklore. George Allen and Unwin, London, pp. 308.

- Rossi A, Ligresti A, Longo R et coll., (2002). The inhibitory effect of propolis and caffeic acid phenethyl ester on cyclooxygenase activity in J774 macrophages. Phytomedicine ; 9(6) :530-535.


## *S*


- S. Castaldo, F. Capasso, Fitoterapia 73 Suppl. 1 (2002) S1-S6
- S.A. Goldes, H.W. Ferguson, R.D. Moccia, P.Y. Daoust, Histological effects of the inerte suspende clay kaolin on the girls of juvenile rainbow trout, salmo gairdneri Richardson, Journal-of-Fish-Diseases, 11:1, pages 23-33, 22 ref, 1988.
- S.M. Lipson, G. Stotzky, Effect of proteins on reovirus adsorption to clay minerals, Applied Environmental Microbiology 8, 1984, pages 525-530.
- Samarth R.M., Panwar M., Soni A., Kumar M. ET Kumar A. (2008). Evaluation of antioxidant and radical-scavenging activities of certain radioprotective plant extract. Food Chemistry. 106: 868- 873. Santé journal N°61
- Schake, L.M. et B.E. Garner, Influence of calcium bentonite on feedlot performance of heifers, Texas Agricultural Experiment Station P.R. 3383:19, 1976.
- Segueni Narimane, 2011, Contribution à l'étude de la composition chimique.
- Sejnowski T. & Delbruck T., 2013. Le langage des neurones. Pour la Science, Neurobiologie, 424: 50-55.
- Senne A. (2010) Propolis Le trésor millénaire de santé et de beauté Edition du Palémon 5ème édition, Saint-Evarvec, 125p
- Sforcin, J. M. (2007). Propolis and the Immune System: A Review. Journal of Ethnopharmacology, 113, 1–14
- Sforcin, J. M.; Bankova, V, (2011). Propolis: Is There a Potential for the Development of New Drugs? Journal of Ethnopharmacology, 133, 253–260.
- Shiva. Mohammadzadeh, Mohammad Shariatpanahi. ; Manoochehr Hamdi.; Reza Ahmadkhniha.; Nasrin Samadi.; Seyed Nasser Ostad. (2006). Chimical composition, oral toxicity and antimicrobial activity of Iranian propolis. Food Chemistry.
- Sticozzi C, Belmonte G, Pecorelli A, Arezzini B, Gardi C, Maioli E et al. Cigarette smoke affects keratinocytes SRB1 expression and localization via H2O2 production and HNE protein adducts formation. PLoS One 2012; 7:e33592.
- Sticozzi C, Pecorelli A, Belmonte G, Valacchi G. Cigarette smoke affects ABCAl expression via liver X receptor nuclear translocation in human keratinocytes. Int J Mol Sci. 2010; 11: 3375–3386. https://doi.org/10.3390/ijms11093375 PMID: 20957101

- **Sarfaraz K. Niazi, (2009).**
  **Handbookof Pharmaceutical Manufacturing Formulations SemisolidProducts.** V OLUME FOUR, Second Edition. **Library of Congress Cataloging-in-Publication Data,** by Informa Healthcare USA, Inc. ISBN-13: 978-1-4200-8106-0. Pages: 201, 206, 210.


***T***


- T. D. Phillips, Dietary clay in the chemoprevention of aflatoxin-induced disease, Toxicol Sci 52 (2 Suppl), 1999, pages 118-126.
- T. D. Phillips, E. Afriyie-Gyawu, J. Williams, H. Huebner, N.A. Ankrah, D. Ofori-Adjei, P. Jolly, N. Johnson, J. Taylor, A. Marroquin-Cardona, L. Xu, L. Tang, J. S. Wang, Reducing François HERNOT | L'argile, son utilisation à l'officine Page 124 sur 127 human exposure to aflatoxin through the use of clay: a review, Food Addit.Contam Part A Chem Anal.Control Expo.Risk Assess, 25(2), 2008, pages 134-145.
- T.C. Schell, M.D. Lindemann, E.T. Kornegay, D.J. Blodgett, Effects of feeding aflatoxincontaminated diets with and without clay to weaning and growing pigs on performance, liver function, and mineral metabolism, J. Anim. Sci. 71, 1993, pages 1209-1218.
- T.D. Phillips, A.B. Sarr, P.G. Grant, Selective chemisorption and detoxification of aflatoxins by phyllosilicate clay, Nat.Toxins, 3(4), 1995, pages 204-213.
- Takemura T. et al. (2011) 3,4-Dicaffeoylquinic Acid, a Major Constituent of Brazilian Propolis, Increases TRAIL Expression and Extends the Lifetimes of Mice Infected with the Influenza A Virus Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine Volume 2012, Article ID 946867, 7 p.
- Thierry J., 2006. Les Mollusques Céphalopodes. *Annales de Paleontologie*, 92(2) : 137-149.
- Thompson D'Arcy W., 2005. Forme et croissance, Seuil et Meinhardt H. *The Algorithmic Beauty of Sea Shells*, Springer, in Roux, J.B. *La coquille des mollusques*, 87 : 234-239.
- Tosi, Enzo A.; Ciappini, Maria C., Cazzolli, Ampelio F., Tapiz, Luis M., (2006). Physico chemical characteristics of propolis collected in Santa Fe (Argentine).APIACTA 41 PAGE 110-120.
- Tsoutsos D, Kakagia D, Tamparopoulos K. The efficacy of Helix aspersa Müller extract in the healing of partial thickness burns: a novel treatment for open burn management protocols. J Dermatolog Treat. 2009; 20:219–22

- Tsoutsos, D., Kakagia, D. & Tamparopoulos, K. The efficacy of Helix aspersa Muller extract in the healing of partial thickness burns: a novel treatment for open burn management protocols. J. Dermatolog. Treat. 20, 219–222 (2009).

***V***

- V. Minnich, A. Okcuoglu, Y. Tarcon, A. Arcasoy, S. Cin, O. Yorukoglu, F. Renda, B. Demirag, Pica in Turkey, II. Effect of clay upon iron absorption, Am J Clin Nutr 21(1), 1968, pages 78-86.
- V. Theodorou, B. Chrestian, J. Fioramonti, M.T. Droy-Lefaix, M.T. Bueno, Protective action of diosmectite treatment on digestive disturbances induced by intestinal anaphylaxis in the guinea pig, Alimentary Pharmacology and Therapeutics 8, 1994, pages 295-299.
- Valcic, S., Montenegro, G., Mujica, A. M., Avila, G., Franzblan, S., Singh, M., Maiese, W. M., Timmerman, B. N, (1999). Phytochemical, Morphological and Biological investigation of propolis from Central Chile. Z. Naturforsch 54c, 406-416.
- Vatier, J.F. Olivier, M.T. Vitre, A. Papazian, Influence du pH dans la capacite d'adsorption des sels biliaires et des lysolecithines in vitro par les antiacides contenants de l'argile et/ou de l'aluminium, ed. Masson, Paris, FRANCE, 1977-2010, Revue Gastroentérologie clinique et biologique ISSN 0399-8320, CODEN GCBIDC vol. 13, no5, (22 ref), 1989, pages 445-451.
- Viel, C., Dore JC, (2003). History and uses of honey, mead and hive products. Revue d'histoire de la pharmacie, (Paris), 51 (337), 7-20.

***W***

- Watanabe, M. A. E. ; Amarante, M. K. ; Conti, B. J. ; Sforcin, J. M, (2011). Cytotoxic Constituents of Propolis Inducing Anticancer Effects: A Review. Journal of Pharmacy and Pharmacology, 63, 1378–1386

***Y***

- Yang H., Dong Y., Du H., Shi H., Peng Y., Li X., (2011). Antioxidant compounds from propolis collected in Anhui, China Molecules. 16(4):3444-3455
- Yue-Horng Yen, Chia-Ho Shih and Ching-Hui Chang, 2008. Effect of adding ascorbic acid and glucose on the antioxidative properties during storage of dried carrot. Food Chemistry Volume 107, P. 265-272.

***Z***

- Z. MaameriI –Habibatni, *Pistacia lentiscus L*, Evaluation pharmacotoxicologique. Thèse de Doctorat, Université Constantine 1, 2014.

http://fr.wikipedia.org/wiki/Escargot#mediaviewer/Fichier:Brazilian_Snail.jpg
http://fr.wikipedia.org/wiki/Escargot#mediaviewer/Fichier:Scheme_snail_anatomynumbers.svg
http://fr.wikipedia.org/wiki/Helix_aspersa_aspersa#mediaviewer/Fichier:Helix_aspersa_Sinistra_MHNT.CON.2002.767.768.jpg
http://www.fondation-lamap.org/fr/page/11565/respiration
http://www.fondation-lamap.org/fr/page/12076/biologie-animale-fonctions-derelation
https://doi.org/10.1371/journal.pone.0033592 PMID : 22442701Greistorfer, S. et al. Snail mucus - glandular origin and composition in Helix pomatia. Zoology. 122, 126–138 (2017).

- Claudio Trapella, Roberta Rizzo, Stefania Gallo, Andrea Alogna, Daria Bortolotti, Fabio Casciano , Giorgio Zauli, Paola Secchiero et Rebecca Voltan3 (2018) HelixComplex snail mucus exhibits pro-survival, proliferative and promigration effects on mammalian Fibroblasts vol 10 pp 5
- Deb, A. & Ubil, E. Cardiac fibroblast in development and wound healing. *J. Mol. Cell. Cardiol.* **70**, 47–55 (2014).
- Shah, J. M., Omar, E., Pai, D. R. & Sood, S. Cellular events and biomarkers of wound healing. *Indian J. Plast. Surg.* **45**, 220–228 (2012).
- Kim, S. J., Park, J. H., Kim, D. H., Won, Y. H. & Maibach, H. I. Increased *in vivo* collagen synthesis and *in vitro* cell proliferative effect of glycolic acid. *Dermatol. Surg.* **24**, 1054–1058 (1998).