

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE  
UNIVERSITE AKLI MOHAND OULHADJ – BOUIRA  
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET DES SCIENCES DE LA TERRE  
DEPERTEMENT DES SCIENCE AGRONOMIQUES



Réf : ..... / UAMOB/F.SN.ST/DEP.AGRO/2023

## MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME MASTER

Domaine : SNV

Filière : Sciences Alimentaire

Spécialité : agroalimentaire et contrôle qualité

Présenté par :

*DJERIBIA Manel & SAHTALI Maroua*

*Thème*

**Formulation d'une crème dermique à base d'huile végétale  
et leur effet cicatrisant sur les brulures expérimentales  
chez les rats.**

Soutenu le : 03/07/2023

Devant le jury composé de :

<i>Nom et Prénom</i>	<i>Grade</i>		
<i>Mr. BENCHIKH Chafie</i>	<i>MAA</i>	<i>Univ. De Bouira</i>	<i>Président</i>
<i>Mme. BOURFIS Nassima</i>	<i>MCB</i>	<i>Univ. De Bouira</i>	<i>Promotrice</i>
<i>Mme. FERHOUM Fatiha</i>	<i>MCB</i>	<i>Univ. De Bouira</i>	<i>Examinatrice</i>
<i>Melle. BELKADI Asma</i>	<i>Docteur</i>	<i>CRD Saidal Alger</i>	<i>Co-promotrice</i>

Année Universitaire : 2022/2023

## Remerciements

Nous rendons grâce à Dieu, qui nous a donné le courage et la patience et la volonté pour réaliser ce travail.

Nous tenons à adresser nos sincères remerciements à notre promotrice **M<sup>me</sup> BOURFIS Nassima** pour nous avoir proposé ce thème ainsi que pour sa riche contribution et ses précieux conseils.

Nous tenons particulièrement à adresser nos vifs remerciements notre Co-promotrice **M<sup>me</sup> BELKADI Asma** de nous avoir encadré pendant toute la période stage, et pour toute les précieuses informations qu'elle nous a donné.

Nos remerciements vont particulièrement au **M<sup>me</sup> MECHID Wahiba** et aux membres de laboratoire contrôle de qualité, au niveau de l'unité de production du Groupe SAIDAL Dar El Beida pour l'aide précieuse qu'ils m'ont apportée.

Nous tenons à exprimer nos remerciements particuliers à **M<sup>me</sup> AKKACHE Lynda** ainsi que **M<sup>me</sup> OUAREK Salima** la responsable du laboratoire de microbiologie au niveau centre de recherche SAIDAL Gué de Constantine pour leur précieuse assistance.

Comme nous sommes très reconnaissantes à toute l'équipe de l'animalerie pour leurs conseils et leurs aides dans la réalisation de la partie in vivo, en particulier **DAHMANE Moussa et Tahar**.

Nous tenons à remercier tous les membres du jury qui nous ont accordé le privilège d'examiner attentivement notre travail.

Enfin, nos remerciements vont à toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

# Dédicaces

*Je dédie ce travail à :*

*Mes chers parents, pour leur amour, et leur soutien. Les mots sont faibles pour exprimer la force de mes sentiments et la reconnaissance que je leur porte. Mes chers parents aucune dédicace ne saurait exprimer mon grand amour pour vous*

*« Que Dieu vous bénisse et vous accorde longue vie »*

*Ma sœur Nawel n'a rien à offrir pour exprimer l'amour, le dévouement et le respect que j'ai toujours eu pour vous, merci pour votre soutien.*

*Ma chère amie et âme sœur Chaima merci pour votre générosité, votre soutien moral m'ont été d'un grand secours au long de ma vie académique et personnelle.*

*A Rachid merci d'être à mes coté.*

*A Mon binôme Maroua avec qui j'ai réalisé ce travail en partageant les moments de joie, fatigue, stress et pression.*

*Mes amis qui ont cru en moi et qui m'ont toujours encouragé, et avec qui j'ai passé des années inoubliables Hakima et Fifi.*

**MANEL**

# *Dédicaces*

*Je dédie ce mémoire:*

*A mes très chers parents pour leurs dévouements, leurs amours, leurs sacrifices et leurs encouragements et sans qui je ne serais pas là aujourd'hui.*

*Ce travail soit, Pour eux, ce travail est un faible témoignage de mon affection et de ma tendresse.*

*A mes sœurs: Manel et Maria, Meriem et Marame.*

*A mon petit frère Abedrrahman.*

*A ma grands mère : Ftima et Baya.*

*A mes tantes et surtout ma chère : SOUAD et ses enfants.*

*A Mon binôme MaNEL avec qui j'ai réalisé ce travail en partageant les moments de joie, fatigue, stress et pression.*

*A toute ma famille et à tous mes chers amis: Soulaf, Zineb, Hadil, Meriem, Salim.*

**MAROUA**

## Liste des figures

Figure 1: Fleurs [A], Fruits rouges [B], Fruits noirs [C] et mastic [D] de lentisque L .....	4
Figure 2 : Répartition géographique de l'espèce <i>P. lentiscus</i> en Algérie.....	5
Figure 3 : Schéma illustrant la structure de la peau de manière schématique.....	9
Figure 4 : Aspect histologique des brûlures superficielles.....	10
Figure 5 : Aspect histologique des brûlures profondes.....	11
Figure 6 : Phase inflammatoire de la cicatrisation.....	13
Figure 7 : Phase proliférative de la cicatrisation .....	14
Figure 8 : Ensemencement par écouvillonnage .....	26
Figure 9 : Lecture des résultats antimicrobiennes .....	27
Figure 10 : Produits anesthésiants utilisés.....	27
Figure 11 : Produit de référence sulfadiazine.....	28
Figure 12 : Injection de l'Anesthésie .....	29
Figure 13 : Epilation des poils dans la zone dorsale.....	29
Figure 14 : La masselotte chauffé .....	30
Figure 15: Induction des brûlures .....	30
Figure 16 : Aspect macroscopique de la crème dermique .....	38
Figure 17: L'antibiogramme des différentes souches bactériennes employées sur l'huile de lentisque et la crème cicatrisante .....	41
Figure 18 : L'antibiogramme des différentes levures employées sur l'huile de lentisque et la crème cicatrisante .....	41
Figure 19 : Évolution pondérale des trois lots durant la période d'expérimentation .....	43
Figure 20 : Aspect des brûlures durant l'étude des lots : témoin ; référence et crème lentisque .....	47
Figure 21 : Coupes histopathologies des trois lots.....	49

## Liste des tableaux

Tableau I : Classification taxonomique de l'espèce <i>P. lentisque</i> .....	5
Tableau II : Les ingrédients de préparation de la crème.....	21
Tableau III : Les caractéristiques des souches employées.....	23
Tableau IV: Règles de mesure du diamètre de la zone d'inhibition. ....	25
Tableau V : Caractérisations organoleptiques d'huile végétale de <i>Pistacia lentiscus</i> L...33	
Tableau VI : Les paramètres physiques et chimiques d'huile de lentisque .....	34
Tableau VII : paramètres physiques de la crème formulé .....	37
Tableau VIII : Activité antimicrobienne de l'huile de lentisque et la crème dermique sur les souches testés.....	39
Tableau IX : Evolution de surface et de pourcentage de contraction des trois les lots.....	43

## Liste des abréviations

- **mm** : Millimètre
- ***P.lentiscus*** : *Pistacia lentiscus*
- **ORL** : Oto-rhino-laryngologiste
- **PMN** : Polymorphonucléaires
- **CRD**: Centre de Recherche et de Développement
- **H** : Humidité
- **HV** : Huile Végétale
- **IA** : L'indice d'Acide
- **NaOH** : Hydroxyde de Sodium
- **KOH** : Hydroxyde de Potassium
- **V** : Volume
- **m** : Masse
- **C** : Concentration
- **N** : Titre
- **g** : Gramme
- **g/mol** : Gramme par môle
- **ml** : Millilitre
- **IP** : Indice de Peroxyde
- **KI** : Iodure de Potassium
- **IS** : Indice de Saponification
- **HCl** : Chlorure d'hydrogène
- **II** : L'indice d'Iode
- **IE** : Indice d'Ester
- **T°** : Température
- **PH** : Potentiel d'hydrogéné
- **E/H** : Emulsion eau/Huile
- **H/E** : Emulsion huile /Eau
- **µs/cm** : Micro semence/ Centimètre
- **Kg** : kilogramme
- **S** : Surface

- **$\pi$**  : Rapport de périmètre
- **D** : Diamètre
- **Cm<sup>2</sup>** : Centimètre carré
- **UFC** : Unité Formant Colonie
- **ATCC** : Américain Types Culture Collection
- **h** : Heur
- **Réf** : Référence
- **T**: Témoin
- **CL** : Crème de Lentisque
- **E.D** : Eau Distille
- **E.C** : Eau Courante
- **s** : Seconde
- **Min** : Minute
- **COI** : Conseil Oléicole International
- **IP** : Intra-péritonéale
- **ISO** : l'Organisation internationale de normalisation.
- **FAO** : L'Organisation pour l'alimentation et l'agriculture
- **%** : Pourcentage
- **°** : Degré de croissance
- **C°** : Degré Celsius
- **Pa.s** : pascal seconde



## Table des matières

Remerciement

Décidas

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction ..... 1

### Première partie : Etude bibliographique

I	Etude de l'espèce <i>Pistacia lentiscus</i> L.....	4
I.1	Présentation botanique .....	4
I.2	Classification taxonomique .....	5
I.3	Répartition géographique de <i>Pistacia lentiscus</i> L. ....	5
I.4	Composition biochimique d'huile végétale de <i>Pistacia lentiscus</i> L. ....	6
I.5	Vertus et utilisation d'huile végétale de <i>Pistacia lentiscus</i> L. ....	6
I.6	Activité antimicrobienne de <i>Pistacia lentiscus</i> L. ....	7
II	Histopathologie de la peau et mécanisme de cicatrisation.....	8
II.1	La peau .....	8
II.2	Structure de la peau .....	8
II.3	Brûlures .....	9
II.4	Complications infectieuses des brûlures.....	11
II.5	Cicatrisation cutanée .....	11
II.6	Mécanismes de la cicatrisation .....	11

### Deuxième partie : Etude expérimentale

I	Matériel.....	15
I.1	Matériel et Produits chimiques utilisés .....	15
I.2	Matériel végétal.....	15
I.3	Matériel animal .....	15
I.4	Méthodes.....	16

I.5	Caractérisations organoleptiques de l'huile de lentisque .....	16
I.6	Caractérisations physico-chimiques de l'huile de lentisque .....	16
I.6.1	Analyses physiques .....	16
I.6.2	Analyses chimiques .....	17
I.7	Formulation de la crème cicatrisante .....	20
I.7.1	Composants de la crème cicatrisante .....	20
I.8	Contrôle de la qualité de la crème formulé .....	21
I.8.1	Analyse des caractères macroscopiques .....	21
I.8.2	Analyses physico- chimiques.....	22
I.9	Etude de l'activité antimicrobienne.....	23
I.10	Evaluation de l'activité cicatrisante in vivo .....	26
I.11	L'étude histopathologie .....	30
II	Résultats et discussion .....	33
II.1	Caractérisations organoleptiques de l'huile de <i>P.lentiscus</i> L. ....	33
II.2	Caractérisations physicochimiques de l'huile de <i>P.lentiscus</i> L. ....	33
II.3	Contrôle de qualité de la crème formulé.....	37
II.4	Etude de l'activité antimicrobienne : .....	39
II.5	Evaluation de l'activité cicatrisante in vivo .....	41
II.6	L'étude histopathologie .....	48
	<b>Conclusion.....</b>	<b>50</b>
	<b>Références bibliographiques.....</b>	<b>54</b>
	<b>Annexe</b>	
	<b>Résumé</b>	

# **Introduction**

Depuis des millénaires, les êtres humains ont exploité différentes ressources présentes dans leur environnement pour traiter et guérir une variété de maladies.

*P.lentiscus L.*, une plante de la famille des Anacardiaceae, est largement répandue dans son habitat naturel (**Lanfranchi et al., 1999**). Cette plante a été utilisée dans la médecine traditionnelle depuis les temps anciens pour traiter diverses affections, notamment les irritations cutanées, grâce à ces propriétés cicatrisantes des brûlures (**Lanfranchi et al., 1999**).

L'huile de fruit de lentisque est fréquemment employée en tant que remède topique pour traiter les brûlures, utilisée sous forme d'onguent, cette huile est appliquée localement pour favoriser la guérison et apaiser les brûlures cutanées, son utilisation remonte à des siècles, et sa réputation en tant qu'agent cicatrisant naturel en fait un choix courant dans le domaine des soins cutanés (**Riddle, 2000**).

La peau est le plus grand organe du corps humain, joue un rôle essentiel en tant que barrière protectrice entre l'environnement externe et l'intérieur du corps (**Ferhat et Belhadi, 2016**). Elle assure une protection contre les agents pathogènes, les traumatismes et les pertes excessives de liquides corporels (**Dadoune et al., 2000**). De plus, la peau joue un rôle crucial dans la perception sensorielle, elle est composée de plusieurs couches distinctes et est dotée d'une remarquable capacité de régénération et de cicatrisation en cas de lésions ou de brûlures (**Ferhat et Belhadi, 2016**).

Les brûlures sont des blessures traumatiques qui entraînent des conséquences graves sur la santé, tant en termes de morbidité que de mortalité (**Baritaud et al., 2013**). Elles représentent un problème de santé publique majeur en raison de leur prévalence élevée, de leur potentiel de gravité et peuvent laisser et des ressources nécessaires pour leur traitement et leur prévention (**Fayolle, 1992**).

La cicatrisation est un processus essentiel permet la réparation des lésions en suivant une séquence d'événements biologiques (**Moulin, 2001**).

C'est dans ce contexte notre travail s'inscrit dans le cadre de la valorisation des plantes végétales médicinales locales et dans le but d'élaborer d'une crème pharmaceutique à base des molécules végétales. Dans la première partie de ce travail est consacré pour une synthèse bibliographique sur l'espèce *Pistacia lentiscus L.*, puis un rappel sur la physiologie et l'histopathologie de la peau, à la fin de cette partie les mécanismes fondamentaux de la cicatrisation ont été évoqués. Et la deuxième partie de ce travail a été consisté à la détermination des caractéristiques physicochimiques, microbiologiques de l'huile de *Pistacia*

*lentiscus* L., ainsi que la crème formulé, puis l'étude expérimentale visant à évaluer les propriétés cicatrisantes de notre crème pour le traitement des brûlures expérimentales de deuxième degré profonde chez les rats et on finit avec étude histopathologie.

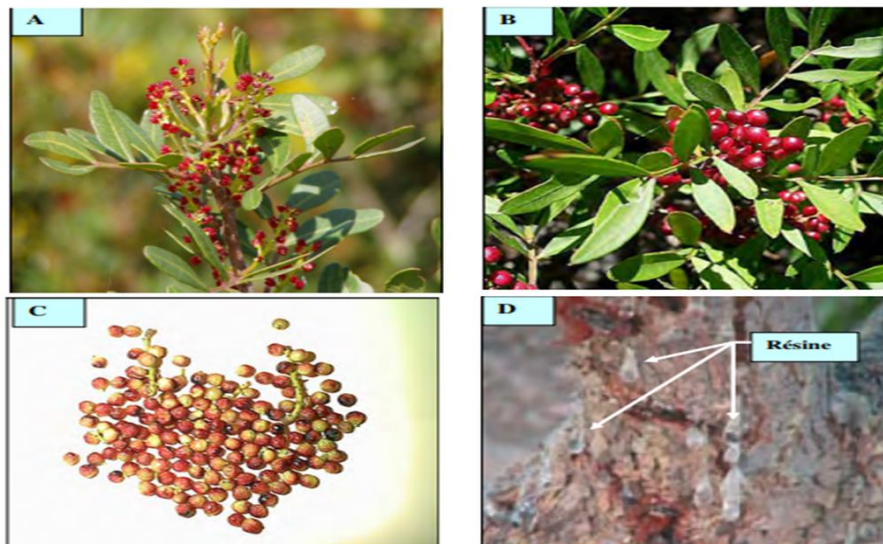
**Etude**  
**Bibliographique**

### I Etude de l'espèce *Pistacia lentiscus* L.

#### I.1 Description botanique

*Pistacia lentiscus* est un arbrisseau ramifié à longueur de 1 à 6 mètres, et dégage une très forte odeur résineuse, mais elle a la possibilité d'atteindre la taille d'un arbre dans les endroits humides et abrités (Bammou et al., 2015), cette espèce est caractérisée par :

- **Feuilles** : persistantes Durant la saison hivernale, et qui rougit sous l'effet de la chaleur, et une durée de vie de 2 ans.
- **Fleurs** : apparaissent au printemps, d'environ 3 mm (millimètre) de large. Elles sont trop aromatiques. Cette espèce est unisexuées ; les fleurs femelles sont vert jaunâtre, alors que les fleurs mâles affichent une couleur rouge foncé.
- **Fruit** : c'est la graine sous forme d'une baie globuleuse de 2 à 3 mm de diamètre, avec un couleur rouge puis devient brunâtre à sa maturité en automne.
- **Résine** : C'est une sécrétion résineuse aromatique qui suinte du tronc coulant des plantes sont séchées au soleil et durcies en gouttes translucides.



**Figure 01** : Fleurs [A], Fruits rouges [B], Fruits noirs [C] et mastic [D] de lentisque L. (Ben Douissa, 2004).

## **I.2 Classification taxonomique**

En Algérie le genre *P.lentiscus* est renferme quatre espèces d'arbres et d'arbustes dioïques, dont la majorité sont connues pour leurs capacités à produire les oléorésines : *P.terebinthus*, *P. vera*, *P. lentiscus* et *P. atlantica* (**Bozorgi et al., 2013**).

La classification taxonomique de *P. lentiscus* est comme suivante :

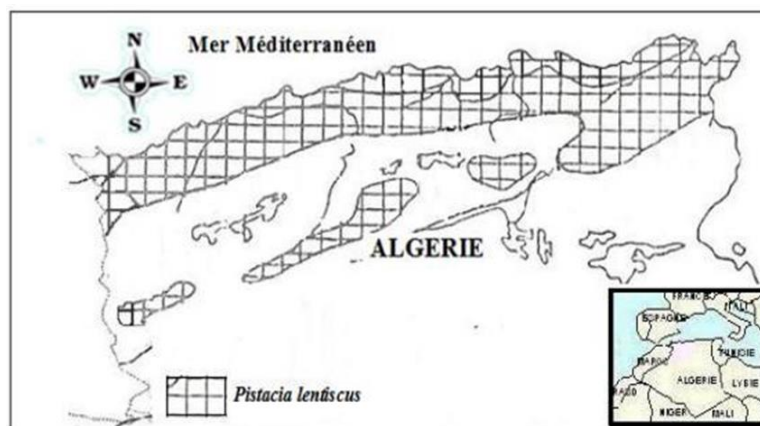
**Tableau I : Classification taxonomique de l'espèce P. lentisque (Berrichi et al., 2017).**

<b>Règne</b>	Plantae
<b>Embranchement</b>	Spermatophytes
<b>Sous embranchement</b>	Angiospermes
<b>Classe</b>	Dicotylédone
<b>Sous classe</b>	Dialypétales
<b>Série</b>	Diacifores
<b>Ordre</b>	Sapindale
<b>Famille</b>	Anacardiacees
<b>Genre</b>	<i>Pistacia</i>
<b>Espèce</b>	<i>Pistacia lentiscus</i> L

## **I.3 Répartition géographique de *Pistacia lentiscus* L.**

En Algérie, le genre *P.lentiscus* L. est largement répandu dans tell, et occupe l'étage thermo-méditerranéen. Il est présent sur différents types de sol en Algérie, dans les régions subhumides et semi-arides. Sa limite vers le sud se trouve aux alentours de Saida, (**Ait Said et al., 2013**) (Figure 02).





**Figure 02 :** Répartition géographique de l'espèce *P. lentiscus* en Algérie (Quezel P. et Santa S., 1963).

#### **I.4 Composition biochimique d'huile végétale de *Pistacia lentiscus* L.**

L'huile de *P. lentiscus* est obtenue par une méthode très similaire à celle de l'huile d'olive, par le pressage, les fruits de lentisque constitué à une teneur en matières grasses brutes de 32,8 % pour les fruits mûrs noirs, et de 11,70 % pour les fruits rouges (Charef et al., 2008).

D'après Charef et al., (2008) l'huile e des fruits de *Pistacia lentiscus* L. était composée de trois acides gras principaux, l'acide palmitique 16,3 %, l'acide oléique 55,3 % et l'acide linoléique 17,6 %, et renferme une quantité considérable d'acides gras insaturés 78,8%, et la partie insaponifiable comporte des tocophérols, des stérols et des composants phénoliques.

Plusieurs auteurs ont réalisé de nombreuses analyses de la composition chimique de cette huile : Duru et al., (2003), Zrira et al., (2003), Benhammou et al., (2008) ont trouvé que cette huile possède de bonnes qualités nutritionnelles grâce à sa teneur en acides gras saturés et insaturés.

#### **I.5 Vertus et utilisation d'huile végétale de *Pistacia lentiscus* L.**

Les propriétés potentielles de *Pistacia* ont reçu beaucoup d'attention. De plus, l'huile de *Pistacia* possède de bonnes qualités nutritionnelles grâce à leur richesse en acide gras. Les acides oléique et linoléique sont réputés pour leurs propriétés anti-inflammatoires, sont nécessaire à la réparation de la membrane cellulaire et à la respiration cellulaire, et augmente

l'hydratation de la peau, et les constituants phénoliques ont des propriétés antimicrobiennes et antioxydants (Saidi et al., 2009).

L'huile de lentisque est utilisée sous forme de pommade pour les brûlures, il est donc principalement utilisé dans le traitement des et brûlures cutanées en médecine traditionnelle. Scientifiquement l'huile a montré une efficacité sur des brûlures expérimentales chez le lapin et les rats, réduit la phase inflammatoire, favorise la contraction de la plaie et réduit la phase d'épithélialisation (Djerrou et al., 2010).

### **I.6 Activité antimicrobienne de *Pistacia lentiscus* L.**

Le monde végétal est connu pour leurs diverses propriétés thérapeutiques et aussi des propriétés contre maladies infectieuses affectant les humains et les animaux. Ces plantes peuvent fournir une nouvelle source d'agents antimicrobiens (George et al., 2008).

*P.lentiscus* est l'une des plante qui montré une efficacité antibactérienne, que ce soit les graines et les feuilles de et même l'huile, Benhammou et al., (2008) montre que *P.lentiscus* présentent une activité antibactérienne et fongiques, cette plante peut avoir une activité inhibitrice contre la croissance des souches bactériennes, Bacillus cereus et Staphylococcus aureus, et aussi activité antibactérienne contre Helicobacterpy.

## II Histopathologie de la peau et mécanisme de cicatrisation

### II.1 La peau

C'est l'organe le plus vaste du corps humain, constitue la membrane externe qui enveloppe intégralement la surface corporelle, qui formé une barrière anatomique et physiologique entre le milieu intérieure et le milieu extérieur. L'épaisseur de la peau varie en fonction du genre, de l'âge et de la partie du corps considérée. Il est plus fin chez les femmes, chez les personnes âgées (**Ferhat et Belhadi, 2016**).

### II.2 La structure de la peau

La peau se compose de trois couches distinctes, à savoir l'épiderme, le derme et l'hypoderme, comme illustré dans la figure 03 (**Abdeldjelil, 2016**).

#### Epiderme

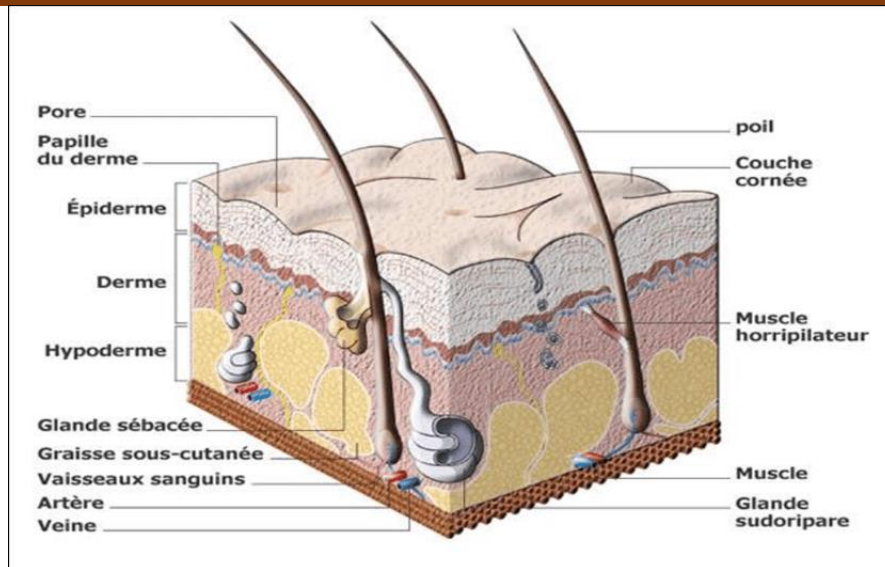
Représente la couche externe de la peau, il agit comme une couche protectrice, situé au-dessus du tissu conjonctif. Il se compose de quatre types de cellules distincts : les kératinocytes d'origine ectodermique, les mélanocytes de la crête neurale, les cellules de langerhans de la moelle osseuse hématopoïétique et les cellules de merkel issues des cellules souches épidermiques embryonnaires (**Dréno, 2009**).

#### Derme

Se situe entre l'épiderme et le tissu sous-cutané, il est responsable de la variation régionale de l'épaisseur de la peau, composé principalement de collagène, mais contient également élastine, vaisseaux sanguins, nerfs et glandes sudoripares. Ce dernier est divisé en derme papillaire riche en cellules, et le derme réticulaire (**Losquadro, 2017**).

#### Hypoderme

L'hypoderme est un tissu lâche et vascularisé, il relie la peau aux organes sous-jacents en leur apportant une certaine mobilité, il contient des adipocytes qui forment une membrane grasseuse (**Dadoune et al., 2000**).



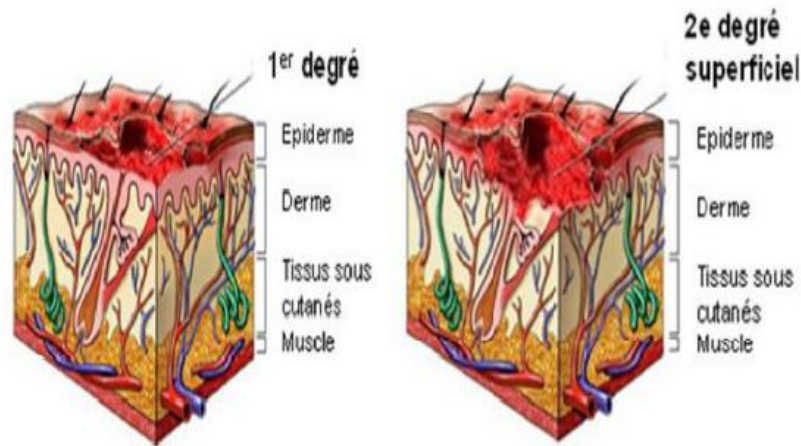
**Figure 03** : Schéma illustrant la structure de la peau de manière schématique (Oummad, 2013).

### II.3 Brûlures

C'est une destruction de tissu cutané sous l'action d'agent thermique, électrique ou bien chimique ou de radiation (Baritaud et al., 2013), cette destruction peut être locale ou générale selon la profondeur des lésions, les brûlures sont classées en trois degrés (Hé, 2006). On distingue :

Les brûlures dites «**superficielles**» concernent le premier et second degré superficiel. Dans les deux cas, c'est une lésion qui touche uniquement l'épiderme, sans l'atteinte de la membrane basale et les cellules de Malpighi (Figure 04) (Wassermann, 2002).

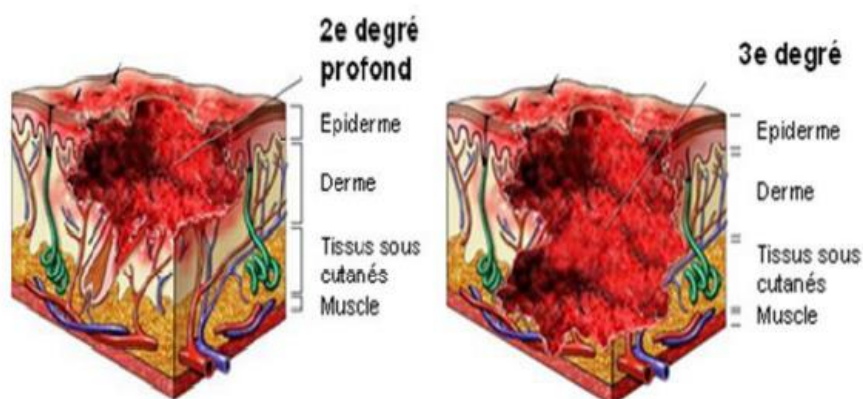
Ces lésions apparaissent rouges, chaudes et douloureuses. Caractérisées par l'absence de phlyctène. La cicatrisation peut se réaliser spontanément par ré-épidermisation depuis cette membrane grâce à la prolifération et à la migration des kératinocytes. Les séquelles fonctionnelles sont presque absentes (Wassermann, 2002).



**Figure 04** : Aspect histologique des brûlures superficielles (Robert, 2011).

Les brûlures dites « **profondes** » (Figure 05) concernent les brûlures profondes des deuxièmes et troisièmes degrés. Dans les brûlures du deuxième degré profond, la lésion détruit non seulement l'épiderme et la membrane basale, mais aussi une épaisseur très importante du derme, ne laissant intacts que le derme profond, les poils, des glandes sudoripares et des glandes sébacées (Hé, 2006).

Les brûlures au troisième degré se caractérisent par l'absence de phlyctène. La peau brûlée reste adhérente et sa couleur peut varier du blanc au noir en passant par le brun. C'est un type de nécrose qui touche la totalité de la peau, détruisant l'épiderme et le derme et s'arrêtant au niveau du l'hypoderme tissu, des muscles et même des tendons et des os. La guérison ne peut être obtenue que par l'excision de la nécrose suivie d'une greffe (Wassermann, 2002).



**Figure 05** : Aspect histologique des brûlures profondes (Robert, 2011).

### II.4 Complications infectieuses des brûlures

L'infection est longtemps restée l'un des causes de mortalités en cas des brûlures cutanées. Suite à la destruction de la barrière naturelle qui représente la peau, les dispositifs invasifs et l'immunodépression associée aux brûlures sont trois mécanismes qui contribuent à cette infection (**Ezzoubi et al., 2004**).

La peau brûlée offre un environnement propice à la croissance bactérienne, grâce à des conditions favorables telles que l'humidité, la chaleur et la présence de protéines dénaturées, qui favorisent leur développement (**Le Floch et al., 2015**).

### II.5 Cicatrisation cutanée

Est un processus biologique complexe et dynamique qui se déroule après une blessure dans le but de rétablir rapidement l'intégrité et l'homéostasie de la peau. Une fermeture appropriée de la lésion, ainsi que de l'implication de différents types de cellules, notamment les cellules inflammatoires, endothéliales, sanguines, épithéliales et immunitaires. Ces cellules interagissent avec la matrice extracellulaire pour faciliter le processus de cicatrisation (**Dereure, 2001**).

### II.6 Mécanismes de la cicatrisation

Suite à une agression, la peau subit une altération de son intégrité, et elle entreprend alors des mécanismes de régénération pour assurer la protection continue de l'organisme (**Moulin, 2001**). La recherche sur les plaies a permis de définir quatre processus de réparation tissulaire :

- **Phase d'hémostase**

Se produit dans les minutes suivant le traumatisme, les plaquettes scellent immédiatement le vaisseau endommagé en le bouchant et en sécrétant des substances vasoconstrictrices et en formant un caillot stable. Les plaquettes activent et sécrètent des glycoprotéines d'adhésion pour leur agrégation. Ils sécrètent également des facteurs qui interagissent et stimulent la cascade de coagulation intrinsèque par la génération de thrombine, qui à son tour initie la formation de fibrine à partir du fibrinogène. Enfin, les plaquettes sécrètent des facteurs de croissance tels que le facteur de croissance dérivé des plaquettes (**Schreml et al., 2010**).

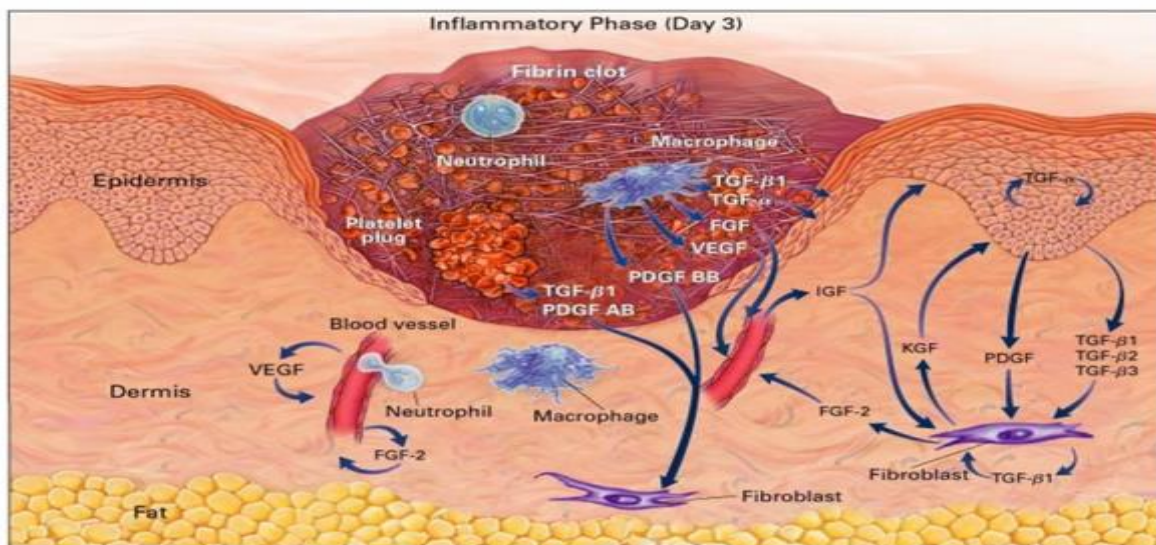


- **Phase d'inflammation**

Durant cette phase une vasodilatation aura lieu afin d'augmenter le flux sanguin vers le site lésé. L'inflammation se caractérise par un érythème, un œdème et une chaleur souvent associés à une douleur. Cette étape permet de l'élimination des débris grâce à des neutrophiles ou les leucocytes polymorphonucléaires (PMN). Cette réponse inflammatoire a pour but de rendre les vaisseaux sanguins perméables et ces derniers libèrent du plasma et des PMN dans les tissus environnants. Les neutrophiles phagocytent les débris et les micro-organismes (Couquet, Desmoulière, & Rigal, 2013).

Ces débris de dégradation attirent les fibroblastes et les cellules épithéliales, qui sont aidées par les mastocytes locaux. La cicatrisation est un processus nécessitant une forte coordination et communication entre les cellules de l'organisme. Ces cellules communiquent entre elles par la sécrétion de diverses cytokines et facteurs de croissance qui se lient aux récepteurs des cellules cibles. Une fois qu'une cytokine se lie à la cible, elle stimule cette cellule à se déplacer. D'autre part, les facteurs de croissance stimulent la cellule cible à se diviser et à synthétiser et libérer des substances telles que le collagène (Schreml et al., 2010).

Les monocytes se différencient en macrophages après leur sortie des vaisseaux sanguins et interagissent avec la matrice extracellulaire. Ces macrophages constituent une deuxième ligne de défense en éliminant les bactéries par phagocytose. Ils sécrètent également des enzymes qui se chargent de la dégradation des tissus nécrotiques et des cellules endommagées (Couquet, Desmoulière, & Rigal, 2013) (figure 06).

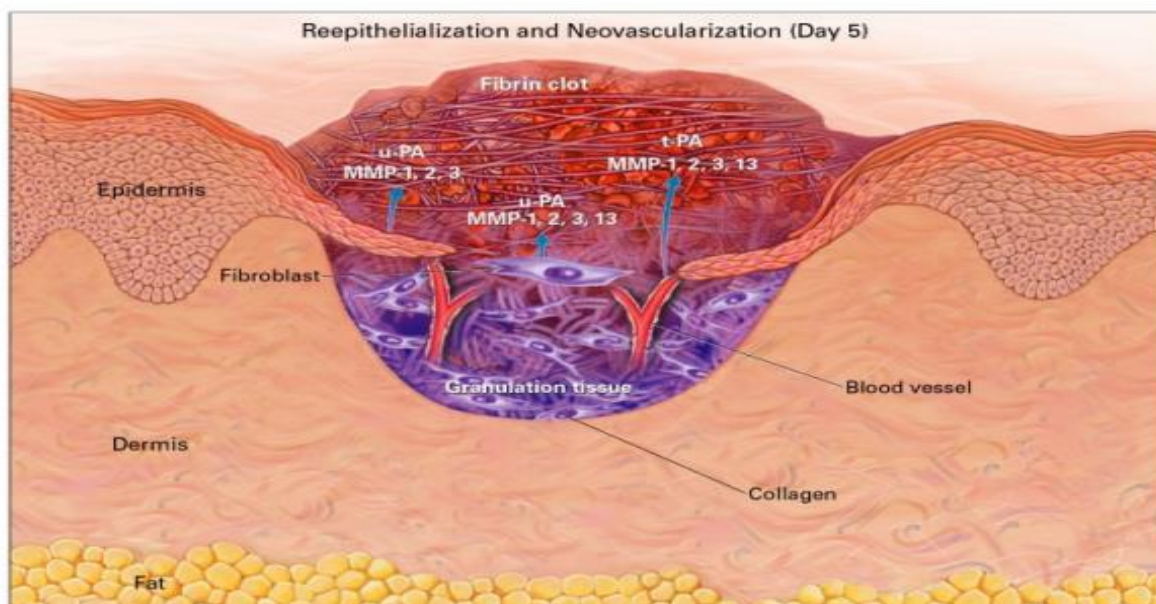


**Figure 06:** Phase inflammatoire de la cicatrisation (Singer et Clark, 1999).

- **Phase de la prolifération**

Le tissu de granulation, également appelé tissu de bourgeonnement (figure 07). Il est notamment constitué de macrophages, de fibroblastes et de myofibroblastes. Il se développe pour restructurer le derme détruit. Les fibroblastes provenant des berges de la plaie, acquièrent un phénotype myofibroblastique qui leur permet de se contracter, et conférer de ce fait une forte activité de synthèse de matrice extracellulaire (Couquet, Desmoulière, & Rigal, 2013).

Dans l'étape finale de l'épithélialisation la contraction aura lieu lorsque les kératinocytes se différencient pour former la couche externe protectrice, et la fermeture totale de la plaie (Schreml et al., 2010).



**Figure 07 : Phase proliférative de la cicatrisation (Singer et Clark, 1999).**

- **Phase de la maturation**

Elle est caractérisée par le remodelage de la matrice extracellulaire et la transformation du collagène dans le derme après la régénération épithéliale (Dereure, 2001).

Le collagène de type 3 est initialement synthétisé par les fibroblastes. Qui sera ensuite remplacé par le collagène de type 1. Avec le temps, les fibres se croisent et s'alignent le long des lignes de tension pour augmenter la résistance à la traction de la plaie (Schreml et al., 2010).

Les cellules principalement impliquées dans ce processus sont les fibroblastes. La maturation peut prendre jusqu'à deux ans après la guérison de la plaie (Couquet, Desmoulière, & Rigal, 2013).



# **Etude Expérimentale**

Lors de ce chapitre, on cherche à la formulation d'une crème cicatrisante à base d'huile de lentisque et leur application in vivo.

Cette étude est divisée en trois parties principales :

- La première partie comprend la caractérisation physico-chimique d'huile de lentisque, et à la formulation de la crème cicatrisante et le contrôle de qualité de la crème formulé. Cette partie et s'effectué au niveau du l'unité de production (SAIDAL, DAR EL BEIDA) (annexe 01), au sein du laboratoire chimique et physique et laboratoire contrôle qualité.
- La deuxième partie, consiste à d'évaluer l'efficacité de la crème préparer pour la cicatrisation des brûlures expérimentales chez les rats et aussi pour le contrôle de l'activité antibactérienne de la crème et l'huile de lentisque. Cette partie et s'effectué au niveau du centre de recherche et de développement (CRD, SAIDAL, BARAKI) (annexe 02), au sein du laboratoire de pharmacotoxicologie et laboratoire microbiologique.
- La troisième partie, pour les analyses histopathologies, s'effectuer dans le laboratoire d'anatomie pathologique du l'école nationale supérieur de vétérinaire à Alger.

## I Matériel

### I.1 Matériel et Produits chimiques utilisés

Dans l'annexe 03, vous trouverez un résumé du matériel et des produits utilisés dans cette étude expérimentale.

### I.2 Matériel végétal

Les fruits mûrs de *Pistacia lentiscus* L. ont été récoltés dans la région d'ouadhias wilaya de Tizi-Ouzou (nord-est algérien), en mois de janvier 2023. Un artisan local extrait l'huile végétale à partir des fruits récoltés. Les fruits sont d'abord lavés, séchés et broyés. Ensuite, la pâte obtenue est soigneusement malaxée avec de l'eau. Le mélange est ensuite versé dans un récipient contenant de l'eau chaud et laissé à reposer, permettant à l'huile de remonter à la surface par flottation. L'huile récupérée est conservé dans une bouteille opaque et conservée au frais jusqu'à son utilisation.

### I.3 Matériel animal

Des rats albinos de souche Wistar, de poids corporel  $200 \pm 20$  gramme, ont été utilisés comme un modèle expérimental pour la réalisation des brûlures thermiques. Ils proviennent

du CRD SAIDAL. Les dernier ont été identifiés et placés dans des cages transparentes en polypropylène, maintenues à température standard (22±1°C) et humidité relative (55± 10 %).

### I.4 Méthodes

Avant de commencer l'expérimentation, nous avons réalisé une centrifugation de l'huile végétale de lentisque à l'aide d'une centrifugeuse de type (ORTO ALRESA). Cette étape avait pour but de séparer la poudre fine résiduelle des graines de l'huile de lentisque. À la fin du processus de centrifugation, seule l'huile pure a été récupérée.

### I.5 Caractérisations organoleptiques de l'huile de lentisque

Les caractéristiques organoleptiques (aspect et odeur) sont utilisées comme moyen de détermination de la qualité de l'huile végétale.

### I.6 Caractérisations physico-chimiques de l'huile de lentisque

#### I.6.1 Analyses physiques

##### I.6.1.1 Densité relative

La densité relative est le rapport entre la masse d'un certain volume de cette huile à 20°C et la masse du même volume d'eau à 20°C (ISO 6883, 2000).

Ce teste est effectuer à l'aide d'un densitomètre à une température 20°C.

##### Mode opératoire

- Utilisez du papier absorbant pour nettoyer la lame du densitomètre;
- Etalonner l'appareil avec l'eau distillée ;
- Déposer quelques gouttes de l'huile de lentisque à analyser dans la lame de densitomètre et régler la température à 20°C, et effectuer la lecture des résultats.

##### I.6.1.2 Humidité

L'humidité (H) est à teneur en eau d'un échantillon, qui va disparaître sous l'action d'un chauffage, quantifiée en huile au moyen d'un dessiccateur dans une étuve dans des conditions définies.

Le taux d'humidité est calculé à partir de la différence de poids d'une prise d'essai avant et après séchage à l'étuve jusqu'à l'obtention d'un poids constant (ISO 662, 1998).

L'humidité de l'huile végétale est déterminée par l'expression suivante :

$$H (\%) = \frac{M1 - (M2 - M0)}{M1} \times 100$$

Avec :

**M<sub>0</sub>** : Masse du creusé vide (g) ;

**M<sub>1</sub>** : Masse de la prise d'essai (g) ;

**M<sub>2</sub>** : Masse du creusé contenant l'échantillon après chauffage (g).

### Mode opératoire

- Effectuer la pesée du creusé vide (**M<sub>0</sub>**) ;
- peser 10g d'huile (**M<sub>1</sub>**) ;
- placer dans l'étuve, le creuset contenant l'huile à une température de 103°C ;
- refroidir dans un dessiccateur ;
- Procéder à une dernière pesée (**M<sub>2</sub>**) jusqu'à l'obtention d'un poids constant.

### I.6.1.3 Indice de réfraction

L'indice de réfraction est le rapport du sinus de l'angle d'incidence à l'angle de réfraction de la lumière d'une longueur d'onde donnée. La technique la plus précise et la plus rapide pour mesurer l'indice de réfraction est consistée à utiliser un réfractomètre numérique avec contrôle automatique de la température. Le modèle nécessite moins de 2 ml d'échantillon et fournit des résultats en quelques secondes (**AFNOR, 2000**).

### Mode opératoire

- Utiliser du papier absorbant pour nettoyer la surface de la lame du réfractomètre;
- Etalonner l'appareil avec l'eau distillée. ;
- Déposer quelques gouttes d'huile végétale à analyser dans la lame de réfractomètre et régler le cercle de chambre sombre et claire dans la moitié, puis effectuer la lecture des résultats en prenant en compte de la température ambiante.

## I.6.2 Analyse chimique

### I.6.2.1 Indice d'acide

L'indice d'acide (IA) est le nombre de milligrammes de soude (NaOH) ou d'hydroxyde de potassium(KOH) nécessaires pour neutraliser les acides libres de 1 g d'huile végétale (**ISO : 660, 2003**).

### Mode opératoire

- Effectuer la pesée de 2 g d'huile ;
- Insérer la prise d'essai dans le ballon ;
- Ajouter 5 ml d'éthanol à 96% et 2 à 3 gouttes de phénolphaléine (indicateur) ;

- Titrer le liquide avec l'hydroxyde de potassium (0,1 N) jusqu'à obtention d'une couleur rose persistante pendant 30 secondes.

L'indice d'acide est évalué à l'aide de la formule suivante :

$$IA = \frac{56,11 \times V \times C}{M}$$

Avec :

**V** : volume de KOH utilisé (ml) ;

**M** : masse de la prise d'essai (g) ;

**C** : concentration de KOH (0.1N) (mol/l).

### I.6.2.2 Indice de Peroxyde

L'indice de peroxyde (IP) indique la quantité de peroxyde présente dans l'échantillon. Exprimé en milliéquivalents d'oxygène actif contenu dans un kilogramme de produit, Oxydation de l'iodure de potassium pour libérer de l'iode. Le principe est basé sur le dosage de l'iode libéré à partir des solutions de thiosulfate de sodium. (ISO : 3960, 2001).

#### Mode opératoire

- 5g d'huile de lentisque ont été pesés dans une fiole et combinée avec 12ml de chloroforme, Le mélange a été agité vigoureusement ;
- 18ml d'acide acétique glacial ainsi que 1 ml d'iodure de potassium (KI) sont ajoutés ;
- Le mélange est agité pendant 1 minute, puis laissé reposer pendant 5mn à l'abri de la lumière et à une température de 15 à 25°C ;
- Ajouter 75 ml d'eau distillée et titrer ensuite l'iode libéré avec solution de thiosulfate de sodium 0,01 N [C(Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>)] sous agitation vigoureuse, en utilisant une solution d'amidon (1 g/100 ml) comme indicateur jusqu'à disparition de la couleur ;
- Simultanément, un essai à blanc est réalisé.

L'indice de peroxyde est calculé selon l'équation :

$$IP(\text{meq O}_2/\text{Kg}) = \frac{(V - V_0) \times N}{M} \times 100$$

Avec :

**V** : volume de thiosulfate de Na de l'échantillon (ml) ;

**V<sub>0</sub>** : volume requis pour titrer le blanc (ml) ;

**N** : titre exact de thiosulfate de Na utilisé (mol/L) ;

**M** : prise d'essai (g).

### I.6.2.3 Indice de Saponification

Indice de Saponification (IS) Correspond à la quantité de potasse (KOH) en milligrammes nécessaire pour saponifier 1 gramme de lipide. Cet indice tient également compte de la longueur moyenne des chaînes d'acides gras présentes dans la matière grasse (ISO : 657, 2002).

#### Mode opératoire

- Avec une pipette graduée prélever 2 ml d'huile, puis les transférer dans une fiole de 250 ml. ;
- Ajouter 20ml de la solution KOH alcoolique (0.6N) ;
- Placer un réfrigérant
- Placer au bain-marie et chauffer jusqu'à ébullition pendant 1 heure ;
- Titrer avec HCl (0.5N) ;
- Simultanément, réaliser un essai à blanc.

La détermination de l'indice de saponification (IS) est donnée par la relation:

$$IS \text{ (mg KOH/g)} = \frac{(V_b - V) \times N}{m} \times 56.1$$

Avec :

**V<sub>b</sub>** : volume d'HCl requis pour titrer le blanc (ml) ;

**V** : volume d'HCl requis pour titrer l'échantillon (ml) ;

**N** : normalité de la solution d'HCl (mol/L) ;

**m** : prise d'essai (g).

### I.6.2.4 Indice d'iode

L'indice d'iode (II) est la masse de diode, exprimée en gramme, que l'on peut fixer par addition sur 100 grammes de lipide. Le principe est basé sur le titrage de l'excès de réactif de Wijs avec du thiosulfate de sodium. Ajouter de l'iodure de potassium pour former de l'iode (ISO : 3961,1996).

#### Mode opératoire

- Prélever 0,4g d'huile de lentisque et les placer dans une fiole 500 ml puis Ajouter 15 ml de tétrachlorure de carbone et 25 ml de réactif de Wijs;
- Agiter doucement la fiole après l'avoir bien bouchée, et la placer dans un endroit à l'abri de la lumière pendant 1heure à 20°C ;
- Additionner ensuite 20ml de KI (100g/l) et 150ml d'eau distillée ;

- Titrer avec le thiosulfate de Na (0,1N) en ajoutant quelques gouttes d'une solution d'empois d'amidon à 0,5% (indicateur), on détermine la fin de titrage quand notre solution devient incolore ;

- Un essai à blanc a été effectué parallèlement.

L'indice d'iode est déterminé selon la formule suivante :

$$II(\text{g de } 12/100 \text{ d'huile}) = 12,69 \times \frac{V_0 - V}{m} \times N$$

Avec :

$V_0$  : volume en ml de thiosulfate de Na pour le blanc (ml) ;

$V$  : volume en ml pour titrer l'échantillon (ml) ;

$N$  : titre exact de la solution de thiosulfate de Na utilisée (mol/L) ;

$m$  : prise d'essai (g).

### I.6.2.5 Indice d'ester

L'indice d'ester (IE) indique la quantité en milligrammes de potasse nécessaire à la saponification des esters présents dans 1 gramme de graisse. Calculé à partir de l'exposant Acidité (IA) et indice de saponification (IS) (FAO, 1979).

## I.7 Formulation de la crème cicatrisante

L'objectif de cette partie est de formuler une crème douée d'un effet cicatrisant à base de l'huile de lentisque (10%).

Le principe actif est représenté par l'huile végétale des grains de *Pistacia lentiscus* L (10%). Cette huile trouve une utilisation comme régénérant cellulaire (cicatrisant) à l'échelle artisanale.

### I.7.1 Les composants de la crème cicatrisante

La formulation de la crème est effectuée en respectant des conditions d'hygiène et les bonnes pratiques de fabrication afin de garantir une crème de haute qualité, hygiénique et exempte de contaminants microbiologiques. La préparation est de nature crémeuse pour une application cutanée, et consiste à une crème avec une masse de 50 g, nous avons deux phases de préparation, La phase aqueuse est composée d'ingrédients hydrophiles, tandis que la phase huileuse est constituée d'un mélange d'agents émulsifiants, de conservateurs, d'agents humectants et d'autres ingrédients (tableau II).

**Tableau II** : Les ingrédients de préparation de la crème.

<b>Phase Huileuse (36%)</b>	<b>Phase Aqueuse (64%)</b>	<b>Principe actif (10%)</b>
Propulen glycol	Eau purifiée	Huile végétale de lentisque
Myristate d'isopropyle		
Paraffine liquide		
Monostéarate de glycérole		
Strarate de macrogole		
Alcool cétostearyle		

➤ **Préparation de la phase huileuse**

On a déposé dans un bécher la quantité appropriée de Propulen glycol, Myristate, Paraffine liquide, Monostéarate de glycérole, Strarate de macrogole, Alcool cétostearyle, Le tous a été chauffé à bain marie jusqu'à 60°C.

➤ **Préparation de la phase aqueuse**

On a disposé dans un deuxième bécher l'eau distillé, On a chauffé jusqu'à  $T^{\circ} = 60^{\circ}C$ .

Lorsque les deux phases ont atteint la température de 60°C, nous avons versé la phase huileuse goutte à goutte dans la phase aqueuse sous agitation, la préparation laisser à l'air libre afin de permettre son refroidissement progressif jusqu'à 30°C, puis ont ajouté le 10% de principe actif (huile de lentisque) et mélanger jusqu'à l'obtention d'une crème homogène.

## **I.8 Contrôle de la qualité de la crème formulé**

Le contrôle de la qualité consiste à évaluer, au moyen de méthodes appropriées, si un produit préparé répond aux spécifications ou exigences préalablement définies. Cela inclut la prise de décisions concernant l'acceptation, le rejet ou la modification du produit.

### **I.8.1 Analyse des caractères macroscopiques**

L'analyse macroscopique de la crème fait partie des tests d'acceptation par les utilisateurs. L'inspection est effectuée visuellement directement sur la crème préparée pour



évaluer simultanément les variations de l'aspect, de couleur, d'odeur et de consistance (Moussaoui *et al.*, 2004).

### I.8.2 Analyses physiques

#### II.3.2.1 Détermination de pH

Afin de mesurer l'acidité des crèmes formulées et de vérifier si celles-ci conviennent à une utilisation sur la peau du corps, cette acidité est généralement interprétée en mesurant la valeur du pH. Elle se fait à l'aide d'un pH-mètre de type (METROHM 913), directement ou après dilution à 10% dans de l'eau distillée. Il est défini sur une échelle de 1 à 14 (Lambers *et al.*, 2006).

##### Mode opératoire

- Après avoir calibré l'appareil, rincez les électrodes avec de l'eau distillée ;
- Versez une quantité suffisante d'échantillon dans le récipient de mesure ;
- Introduisez les électrodes dans la crème ;
- Consulter l'affichage de l'appareil pour relever la valeur du pH.

#### II.3.2.2 Détermination de la conductivité

La conductivité électrique est utilisée pour différencier les émulsions eau/huile (E/H) ou huile/eau (H/E) en fonction de la conductivité de leur phase aqueuse. Une émulsion de type H/E présente une conductivité plus élevée que sa phase aqueuse, tandis qu'une émulsion de type E/H présente une conductivité nettement plus faible. La conductivité de la préparation a été mesurée à température ambiante (22°C), en utilisant un conductimètre de type (METROM 912), et l'unité de mesure est en micro-Siemens par centimètre ( $\mu\text{S}/\text{cm}$ ) (Le Hir, 1992).

##### Mode opératoire

- Après avoir calibré l'appareil, rincez les électrodes avec de l'eau distillée ;
- Versez une quantité suffisante d'échantillon dans le récipient de mesure ;
- Introduisez les électrodes dans la crème. ;
- Consulter l'affichage de l'appareil pour relever la valeur de la conductivité.

#### II.3.2.3 Mesure de la viscosité

Afin d'évaluer la stabilité physique et la plasticité de la crème, la viscosité a été mesurée à l'aide d'un viscosimètre de type (VISCO BASIC PLUS). Ces mesures ont été effectuées à une température de 20°C.

##### Mode opératoire

- Après avoir calibré l'appareil, rincez les électrodes avec de l'eau distillée ;

- Versez une quantité suffisante d'échantillon dans le récipient de mesure ;
- Introduisez les électrodes dans la crème ;
- Consulter l'affichage de l'appareil pour lire la valeur.

### II.3.2.4 Pouvoir d'étalement

Le pouvoir d'étalement a été déterminé avec une légère modification de la méthode recommandée par **Czarnecki et Gierucka (2007)**. L'étalement de la crème est mesuré sur le principe d'un extensomètre constitué d'une plaque fixe sur un deuxième support de plaque, les expériences ont été réalisées à température ambiante 22°C.

#### Mode opératoire

- Peser 1 g de crème.
- Préparer deux plaque, placé la crème au centre de la plaque et une deuxième plaque placée au-dessus de l'échantillon ;
- Placez un poids de 1 kg (kilogramme) sur la deuxième plaque supérieure ;
- Après 8 min, mesurer le diamètre de diffusion de l'échantillon.

Les expériences ont été réalisées en triple et les diamètres moyens ont été calculés ; nous avons appliqué la loi de surface :

$$S = \pi R^2 = \pi(D / 2)^2; (cm^2)$$

Avec :

**S**: Surface de diffusion (cm<sup>2</sup>) ;

**$\pi$**  : Rapport de périmètre ;

**D** : Diamètre de chaque diffusion (cm).

## I.9 Etude de l'activité antimicrobienne

L'évaluation qualitative de l'activité antimicrobienne de l'huile de lentisque et de la crème cicatrisante à base de l'huile de lentisque comprend l'estimation de l'inhibition de la croissance microbienne contact l'échantillon à tester et ceci au moyen d'une diffusion sur gélose à l'aide d'un disque absorbant.

### 1) Les souches testées

Les souches utilisées pour les tests antimicrobiens sont représentées dans le tableau III

**Tableau IV** : Les caractéristiques des souches employées.

	<b>Catégories</b>	<b>Souches testées</b>	<b>Références</b>
<b>Bactéries</b>	Gram +	Staphylococcus aureus	ATCC 6538
		Bacillus subtilis	ATCC 6633
	Gram -	Escherichia coli	ATCC 8739
		Pseudomonas aeruginosa	ATCC 9027
<b>Levures</b>	/	Candida albicans	ATCC 10231
		Saccharomyces cerevisiae	ATCC 9763

## 2) Méthodes d'études et techniques utilisées

Pour réaliser de cette étude nous avons utilisé :

- L'eau physiologique stérile pour la préparation et la dilution des suspensions bactériennes ;
- Un milieu gélose Sabouraud pour les levures ;
- Un milieu gélose Mueller Hinton pour les bactéries ;
- Les souches ont été fournies par (CRD) Gué de Constantine.

### ➤ Préparation de l'inoculum (pharmacopée européenne, 2020).

**Pour les bactéries :** Pour préparer les suspensions, utilisez une culture jeune de 18 heures et prélevez 3 à 5 colonies bien isolées et identiques. Mettez-les dans 5 ml d'eau physiologique stérile et agitez vigoureusement au vortex pendant quelques secondes. Cette procédure permet d'obtenir une concentration de  $10^7$  à  $10^8$  germes/ml (AFNOR, 1998).

**Pour les levures :** à partir d'une culture jeune de 48h, prélever des colonies bien isolées et de taille identique pour préparer des suspensions. Mettez-les dans 05 ml d'eau physiologique stériles Agiter au vortex pendant quelques secondes. Cela correspond à une concentration de  $10^7$ - $10^8$  UFC/ml (UFC : unité formant colonie) (AFNOR, 1998).

### ➤ Préparation de la couche du milieu

Chauffer le milieu gélosé Mueller-Hinton et Sabouraud à 95°C au bain-marie jusqu'à ce qu'ils fondent, puis effectuer une opération aseptique, 15 ml par boîte, répéter 02 fois pour chaque produit, verser une couche dans une boîte de Pétri, laisser refroidir et solidifier sur la paillasse.

### ➤ **Ensemencement par écouvillonnage**

Tremper un écouvillon stérile dans une suspension ajustée à environ 10<sup>7</sup> bactéries par millilitre. Il a ensuite été retiré du tube en l'essorant doucement contre les parois de la boîte pétrie. Ensemencer la boîte de Pétrie en frottant l'écouvillon sur toute la surface de la gélose et en faisant tourner la boîte 4 fois de 45° (Figure 08) (Larcher, 2016).



**Figure 08 :** Ensemencement par écouvillonnage (photo originale).

### ➤ **Dépôts des disques**

À l'aide d'une pince stérile, prélever un disque stérile et l'imbiber d'huile. En plaçant uniquement le bout du disque en contact, il absorbera progressivement l'huile jusqu'à son imprégnation complète. Laisser le disque diffuser pendant 30 minutes, puis le placer dans une étuve à une température de 35°C pendant 24 heures pour les bactéries, et à 25°C pendant 48 heures pour les levures.

### ➤ **Réalisation des puits**

Pour la crème à l'aide d'une en porte pièce de 9 mm réaliser des puits et remplis les puis par la crème. Et on le laisse diffuser 30 min avant de le mettre à l'étuve à une température de 35°C pendant 24 h pour les bactéries et à 25°C pendant 48 h pour les levures.

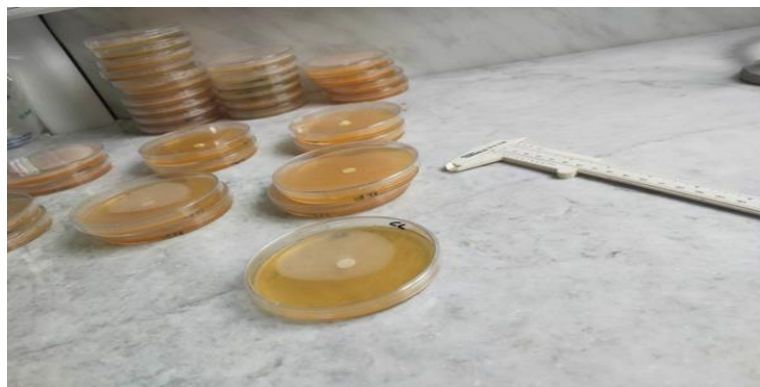
### **3) Lecture**

Les résultats sont obtenus en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition autour de chaque disque à l'aide d'un pied à coulisse (mm) (figure 09). Ces valeurs représentent le

diamètre de la zone d'inhibition et peuvent être symbolisées par des signes en fonction de la sensibilité des souches vis-à-vis de nos échantillons (ponce et *al.*, 2003).

**Tableau IV :** Règles de mesure du diamètre de la zone d'inhibition.

<b>Diamètre (mm)</b>	<b>signe</b>	<b>inhibition</b>
D < 9mm	-	Non sensible
9_14	+	sensible
15_19	++	Très sensible
D > 20 mm	++	Extrêmement sensible



**Figure 09 :** Lecture des résultats antimicrobiens (photo originale).

## **I.10 Evaluation de l'activité cicatrisante in vivo**

### **1. Produits**

#### **A. Produits Anesthésiants**

- Zoletil 50 ((Tilétamine 25 mg/ml + Zolazépam 25mg/ml) en intra-péritonéale (IP) ;
- Lidocaïne LS 2% en application locale.



**Figure 10 : Produits anesthésiants utilisés (photo originale).**

### B. Produit de référence

Sulfadiazine argentique crème 1% (Figure 11). Est un composé blanc hautement insoluble synthétisé à partir de nitrate d'argent et de desulfadiazine de sodium. Est un agent antibactérien appartenant à la famille des sulfamides utilisés dans les études expérimentales et cliniques pour une application topique. C'est un médicament utilisé pour prévenir et traiter les infections bactériennes ou fongiques qui peuvent survenir lors de brûlures. C'est l'un des traitements les plus couramment utilisés pour les brûlures (McNulty *et al.*, 2004).



**Figure 11 : Produit de référence sulfadiazine (photo originale).**

## 2. Réalisation des brûlures expérimentales

Le protocole expérimental utilisé dans cette étude est conforme aux recommandations de soins standards pour les animaux utilisés dans la recherche et l'enseignement (CCPA, 1993).

### a) Répartition des lots

La veille de l'expérimentation, les rats ont été pesés et identifiés au niveau de la queue avec un marqueur indélébile et mettre dans des cages étiquetées et individuelles. Les animaux ont été répartis en trois lots comportant chacun 5 rats comme suit :

- **Lot Témoin (T)** : ne recevra à aucun traitement ;
- **Lot Référence (Réf)** : reçoit des applications dermiques de la sulfadiazine argentique 1% ;
- **Lot Essai (CL)** : recevra des applications dermiques de la crème préparée.

### b) Anesthésie

Les rats ont été anesthésiés par une injection intra péritonéale de Zoletil 50 (25 mg/ml + 25 mg/ml) (figure 12). Pour obtenir une anesthésie locale complète de la zone choisie, les animaux ont reçu une injection de Lidocaïne LS 2%.



**Figure 12 :** Injection de l'Anesthésie (photo originale).

Une fois l'animal endormi, la peau de la zone dorsale est rasée (figure 13) avec une tondeuse électrique spéciale animale (faire attention à ne pas se blesser), puis désinfectée avec une compresse stérile (CRD SAIDAL).



**Figure 13 :** Epilation des poils dans la zone dorsale (photo originale).

### c) Induction des brûlures



Les brûlures ont été réalisées grâce à une masselotte ronde (22 mm) (figure 14). Elle a été chauffée dans une plaque chauffante. Après chauffage, elle a été retirée rapidement, puis appliquée sans pression sur la zone épilée pendant 20 secondes (figure15) (**CRD SAIDAL**).



**Figure 14** : La masselotte chauffée (photo originale).

**Figure 15** : Induction des brûlures (photo originale).

### 3. Application du Traitement

Faire une application des traitements mis à l'essai sur la zone brûlée juste après l'induction des brûlures, une application tous les jours jusqu'à la fin de l'expérimentation (**CRD SAIDAL**).

- **Lot Témoin (T)** : Laissé sans traitement ;
- **Lot Référence (Réf)** : la sulfadiazine argentique ;
- **Lot Essai (CL)** : Traité par la crème cicatrisante.

### 4. Évaluation de l'aspect macroscopique

Une évaluation pondérale des rats mis en expérimentation, ainsi qu'une évaluation de l'état générale de l'animal par grille de score ont été faite chaque J4, J7, J10, J14, J17, J21, J24 de la période de traitement (**CRD SAIDAL**).

L'évaluation de la douleur a été réalisée par illustration de mesure d'échelle de la douleur l'évaluation des caractéristiques d'une plaie permet de comprendre son état et son évolution. La fermeture de la plaie a été évaluée en mesurant ses dimensions, tandis que l'inflammation a été évaluée par la tuméfaction, la rougeur et l'exsudat (**CRD SAIDAL**).

### 5. Évaluation de la cicatrisation



L'évolution de la cicatrisation des brûlures a été étudiée par planimétrie digitale ; le principe la méthode est de prendre des prises de photographie des plaies avec un intervalle de temps chaque J4, J7, J10, J14, J17, J21, J24, J28 et les traiter par un logiciel de traitement d'image (MESURIM) pour une éventuelle étude planimétrique de l'évolution des surfaces des plaies (**Chang et al., 2011**). Par la suite le pourcentage (%) de la contraction de plaie qui permet de déduire la diminution des dimensions de la plaie et d'évaluer la cicatrisation (**Gopinath et al., 2004**).

Le pourcentage (%) de la contraction a été déterminé par la formule suivante :

$$\% \text{ de contraction} = \frac{(\text{taille de plaie initiale } J_0 - \text{taille de plaie } J_n)}{\text{taille de plaie initiale}} \times 100$$

**J<sub>0</sub>** : Jour de la brûlure ;

**J<sub>n</sub>** : Jours des prises des photographies.

### 6. Fin d'expérimentation

A la fin de l'expérience, on a sacrifié un animal de chaque lot par l'injection intra péritonéale ou de sédatif afin de procéder à la dislocation cervicale. Un prélèvement d'un lambeau cutané est effectué et préserver dans un formol de 10% pour l'étude histopathologie.

### I.11 L'étude histopathologie

La présence de l'étude a été menée dans le laboratoire d'anatomie pathologique de l'école nationale supérieure de vétérinaire à Alger. Le protocole suivi est interne à l'école nationale supérieure de vétérinaires à Alger.

#### 1) Matériel et méthodes

Le matériel et les produits utilisés dans cette étude expérimentale sont résumés dans l'annexe 04.

#### Mode opératoire

##### 1. Préparation des échantillons

- Coupez et prélevez les échantillons de peau pour l'analyse ;
- Les échantillons doivent être coupés qui contiennent tout la plaie ;
- mettez les échantillons dans une Cassettes d'inclusions ;
- Fixez les échantillons dans un fixateur approprié, tel que le formol tamponné à 10 %.

##### 2. Traitement des échantillons

- Une fois fixés, les échantillons de peau doivent être déshydratés en utilisant une série d'éthanol à degrés croissant (70 °, 90°, 95 °, 100 °) ;
- Puis éclaircies dans deux bains de toluène ;
- Ensuite, les échantillons doivent être inclus dans de la paraffine fondue et placer dans un incubateur de 24h ;
- Déposez les échantillons dans une plaque à froid et rajouter la paraffine.

### 3. Coupe des échantillons

- Utilisez un microtome pour couper les échantillons inclus en paraffine en tranches de 4 à 6 micromètres d'épaisseur ;
- Placez les coupes sur des lames de verre propres et laissez-les sécher à température ambiante pendant 1h.

### 4. Coloration des coupes

La coloration topographique hemalun eosine ; c'est une Coloration des noyaux par une laque aluminique basique l'hemalun, et le fonds par un seul colorant acide l'éosine.

#### Mode opératoire

1. Déparaffiner : (5 min xylène) et (7 min xylène).

2. hydrater :

- A 100° → 60s à agitations ;
- A 90° → 60s à agitations ;
- A 70° → 60s à agitations ;
- Eau distillé (E.D) : 03 mn.

3. Coloration :

- L'hématine 30 s ;
- Laver pendant 3 mn à l'eau courante (plusieurs bains) ;
- Colorer 4 min à l'éosine ;
- Rinçage à E.D.

4. Déshydrater :

- A 70 ° → 30s à agitations ;
- A 90° → 60s a agitations ;
- A 100° → 01mn à agitations ;

5. Eclaircir : (5 min xylène).

6. Monter : résine (Eukitt).

#### Résultats

- NOYAU: VIOLET.

- FOND: ROSE.

### **5. Observation microscopique**

Utilisez un microscope optique pour observer les coupes de peau colorées. Examinez les différentes couches de la peau, y compris l'épiderme, le derme et l'hypoderme, pour évaluer les changements histologiques associés à la brûlure et à la cicatrisation. Recherchez des caractéristiques telles que la présence d'inflammation, la régénération tissulaire, la formation de tissu de granulation et la réorganisation des fibres de collagène.

### **6. Analyse des résultats**

Analysez les résultats obtenus à partir des observations microscopiques et documentez les caractéristiques histologiques observées à chaque stade de cicatrisation.

## II Résultats et discussion

### II.1 Caractérisation organoleptique de l'huile de *P.lentiscus* L.

L'huile végétale de lentisque est obtenue par une méthode traditionnelle des fruits mûrs de *Pistacia lentiscus* L. Ces caractéristiques constituent un moyen de vérification et de contrôle de la qualité de l'huile végétale étudiée, sont présentées dans le tableau VI.

**Tableau VI:** Caractérisations organoleptiques d'huile végétale de *Pistacia lentiscus*.

<b>Aspect</b>	Liquide
<b>Odeur</b>	A une odeur forte caractéristique de <i>Pistacia lentiscus</i> L.

L'aspect liquide et mobile de l'huile de lentisque facilite son utilisation et son application. Il est souvent préférable que les huiles soient fluides et mobiles, car cela permet une dispersion et une absorption plus faciles lorsqu'elles sont utilisées en cosmétiques (AFNOR, 2000).

L'odeur distinctive de la *Pistacia lentiscus* L. est souvent considérée comme unique et reconnaissable. Cette particularité peut être appréciée dans les domaines de la parfumerie, de l'aromathérapie et de la cuisine, où elle apporte une note aromatique spécifique (AFNOR, 2000).

### II.2 Caractérisations physicochimiques de l'huile de *P.lentiscus* L.

Toutes analyses physiques et chimiques de l'huile lentisque sont illustrées dans le tableau suivant :

**Tableau VII** : Les paramètres physicochimiques d'huile de lentisque.

<b>Paramètres physico-chimiques</b>	<b>Moyennes</b>	<b>Norme COI 2015</b>
Densité	0,919 ± 0,002	<b>0,906 – 0,920</b>
Humidité (%)	4,4 ± 0,565	<b>≤ 1%</b>
Indice de réfraction	1,471 ± 0,001	<b>1,467-1,470</b>
Indice d'acide (mg KOH/g d'huile)	2,94 ± 0,197	<b>0,8 - 3,3</b>
Indice de Peroxyde (meqO <sub>2</sub> /kg)	1,145 ± 0,055	<b>≤ 20</b>
Indice de saponification (mg KOH/g d'huile)	193,545 ± 3,966	<b>184 - 196</b>
Indice d'iode (g d'iode/g d'huile)	9,994± 0,671	<b>Non indiqué</b>
Indice d'ester (mg KOH/g d'huile)	190,235 ± 4,292	<b>Non indiqué</b>

### 1. Densité

La densité dépend de la température et de la composition chimique de l'huile. Il nous renseigne sur les propriétés de la composition en acides gras, notamment la longueur de la chaîne, la présence ou l'absence de structure et de fonction sur la chaîne carbonée (**Haouli et al., 2015**).

D'après les résultats obtenus, la valeur de la densité mesurée pour l'huile de lentisque est de (0,9195 ±0,002). Elle est conforme à la norme (0,906 – 0,920) établie par le comité oléicole international **COI 2015**.

La densité mesurée pour l'huile *Pistacia lentiscus* L. est de même ordre (0,918 à 0,920) que celles rapporté par **Boukeloua et al (2012)** dans son étude.

### 2. Humidité

Le pourcentage d'humidité de l'huile est également un bon indicateur pour l'hydrolyse des triglycérides (**Haouli et al., 2015**).

Le taux d'humidité de notre échantillon est de ( $4,4 \pm 0,565$  %) est plus élevé par rapport aux normes **COI, 2015** ( $\leq 1\%$ ), les résultats d'humidité obtenus par (**Kechidi et al., 2020**) (0,47%) et (**Boukeloua et al., 2012**) ( $11,6 \pm 0,1$ ) sont éloigné de notre résultat.

Les valeurs inférieures à 1% considérée comme niveau d'humidité acceptable pour les huiles. Mais des valeurs d'humidité élevées ont confirmé de mauvaises conditions d'extraction (**COI 2015**), Cella confirme que la méthode d'extraction de notre huile est influence sur le taux d'humidité de notre échantillon.

### 3. Indice de réfraction

L'indice de réfraction est dépend de la composition chimique de l'huile et de la température. Il croit avec l'insaturation et la présence sur les chaînes grasses de fonctions secondaires (**Amara et al., 2019**).

L'indice de réfraction mesuré pour notre huile est de ( $1,471 \pm 0,001$ ). Cette valeur conforme aux exigences des normes de conseil oléicole international **COI, 2015** (1,467-1,470). Notre résultat est proche de celles rapportées par **Boukeloua et al., (2012)** et **Kechidi et al., (2020)** ( $1,465 \pm 0,3$ ) ; (0,47) respectivement.

Cette indice est renseigne sur la qualité d'huile, le faible indice de réfraction indique sa faible réfraction de la lumière ce qui pourrait favoriser son utilisation dans les produits cosmétiques qualité (**Amara et al., 2019**). Donc notre huile est de bonne qualité.

### 4. Indice d'acide

L'indice d'acide peut indiquer l'état de conservation de l'huile (**Abaza et al., 2002**). La valeur d'indice d'acide notre échantillon est de ( $2,94 \pm 0,197$  mg KOH/g), Cette valeur est située dans l'intervalle signalée dans le conseil oléicole international **COI, 2015** (0,8 - 3,3).

**Charef et al., (2008)** ont rapporté des valeurs d'acidité ( $7,7\pm 0,3$  et  $24\pm 0,5$  mg KOH/g) pour l'huile de lentisque, respectivement extraite des baies noires et rouges, et **Boukeloua et al., (2012)** ont rapporté ( $6,203 \pm 0,5$  mg KOH/g) dans leur étude.

L'indice d'acide indique le taux d'acides libres, une faible quantité d'acides libres prouve une bonne conservation d'huile (**Amara et al., 2019**).

### 5. Indice de Peroxyde

L'indice de peroxyde est de ( $1,145 \pm 0,055$  meqO<sub>2</sub>/kg), la valeur obtenue est inférieure à 20 meq O<sub>2</sub>/kg d'huile et donc conforme aux normes **COI, 2015**. D'autres études réalisées avec l'huile de lentisque provenant indiquent des valeurs plus ou moins différentes (**Kechidi et al., 2020**) et (**Boukeloua et al., 2012**) ( $6,0$  meqO<sub>2</sub>/kg) ; ( $1,12\pm 0,06$  meqO<sub>2</sub>/kg) respectivement.

La valeur faible de l'indice de peroxyde de notre échantillon d'huile de lentisque peut être liée à l'action des antioxydants qui lui confèrent une stabilité oxydative (**Amara et al., 2019**). Et donc notre huile Considéré comme ayant un niveau d'oxydation acceptable.

### 6. Indice de saponification

L'indice de saponification est plus élevé lorsque la chaîne carbonée des acides gras est courte, ceci montre que notre huile ont riches en acides gras à chaîne courte (**Haouli et al., 2015**).

Le résultat de l'indice de saponification de l'huile de lentisque est de ( $193,545 \pm 3,966$ ), de sorte que notre indice de saponification de l'huile répond à la norme **CIO, 2015** (184 – 196). Cette valeur de l'indice est de proche à celle qui rapporté par (**Boukeloua et al., 2012**) ( $193,30\pm 0,05$  mg KOH/g ) ; et semble relativement faible de celle obtenue par (**Kechidi et al., 2020**), à savoir un indice de saponification de l'ordre de 269,28 mg KOH/g.

### 7. Indice d'iode

L'indice d'iode donne idée sur les acide gras et leur esters (**Haouli et al., 2015**).

La valeur de l'indice d'iode de notre échantillon est de ( $4,758 \pm 2,243$  g d'iode/g) ; il est inférieur à ( $87,3$  g d'iode/g) celui trouvée par (**Charef et al., 2008**) pour la même huile.

## II.3 Contrôle de qualité de la crème formulé

### 1) Analyse des caractères macroscopiques

L'étude d'analyses macroscopiques consiste d'observer l'aspect de la crème formulé visuellement à l'œil nue (figure 16).



**Figure16** : Aspect macroscopique de la crème dermique (**photo originale**).

La crème formulé est de couleur jaune pâle qui rapporté au couleur d'huile de *P.lentiscus* L., et odeur caractéristique de lentisque, et une apparence crémeux homogène, doux au toucher, avec une application et pénétration lentement absorber par la peau ; et une sensation d'hydratation fraîche après étalement.

### 2) Analyses physiques

Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau VIII

**Tableau VIII** : Paramètres physiques de la crème formulé.

Paramètres physiques	Moyennes	Norme
pH	6,166±0,250	5,5 - 7
Conductivité (us/ cm)	2,356±0,060	/



<b>Viscosité (Pa.s)</b>	41,968±0,006	/
<b>Surface de diffusion (cm<sup>2</sup>)</b>	14,65±2,171	/

### 1. pH

Le potentiel d'hydrogène (pH) c'est la quantité d'ions d'hydrogène libre contenu dans huile, il indique sur l'acidité ou l'alcalinité du milieu. La valeur de pH de la crème anti cicatrisante formulé est de (6,004), ce chiffre est proche du pH cutané (pH= 5,5-7). Et par conséquent la crème formulé à base huile de lentisque est compatible avec l'usage dermique.

### 2. Conductivité

La conductivité se base sur le principe que les émulsions Huile/EAU (H/E), elles sont conductrices d'électricité tandis que les émulsions EAU/Huile (E/H), sont des isolants électriques. La conductivité de notre crème est de (2,356  $\mu$ S/cm) ce qui indique qu'il s'agit d'une émulsion E/H avec une conductivité très faible. Cette observation peut être expliquée par la viscosité de l'émulsion, car plus l'émulsion est épaisse, plus sa conductivité est faible.

### 3. Viscosité

La viscosité d'une crème dermatologique de 41 Pa.s (pascal-seconde) indique une viscosité relativement élevée. La viscosité mesure la résistance d'un fluide à l'écoulement, c'est-à-dire sa consistance et son épaisseur.

Une crème dermatologique avec une viscosité de 41 Pa.s sera considérée comme assez épaisse, cela peut être dû à une concentration élevée d'un des ingrédients visqueux de notre crème tels que des agents épaississants, cet aspect former une barrière qui protéger la plaie des agents extérieurs.

### 4. Pouvoir d'étalement

L'étalement joue un rôle énorme dans l'acceptation des consommateurs et garantit que la crème est répartie uniformément sur une plus grande surface de peau. L'étalement joue également un rôle important dans l'administration de doses standardisées de formulations médicamenteuses à la peau et l'efficacité des traitements topiques (Chen et al., 2016).

Notre résultat est (14,65  $\pm$  2,17 cm<sup>2</sup>), et selon Czarnecki et Gierucka (2007), le pouvoir d'étalement de la crème pour la peau est requis (15,19c cm<sup>2</sup>). On peut alors dire que

nos formulations sont très appréciées des consommateurs en raison de leur excellente capacité d'étalement.

### II.4 Etude de l'activité antimicrobienne

La présence d'une zone d'inhibition autour du disque de papier imbibé d'extrait brut étudié, ainsi que des puits contenant de la crème cicatrisante, indiquent l'activité antimicrobienne. Le diamètre de la zone d'inhibition varie en fonction de la bactérie (levure) et de l'extrait utilisé. Les différences observées dans l'activité antimicrobienne des extraits sont attribuables à leurs compositions chimiques variables. Nous avons considéré qu'un extrait présentait une activité antimicrobienne lorsque le diamètre de la zone d'inhibition était supérieur à 9 mm (Ponce *et al.*, 2003).

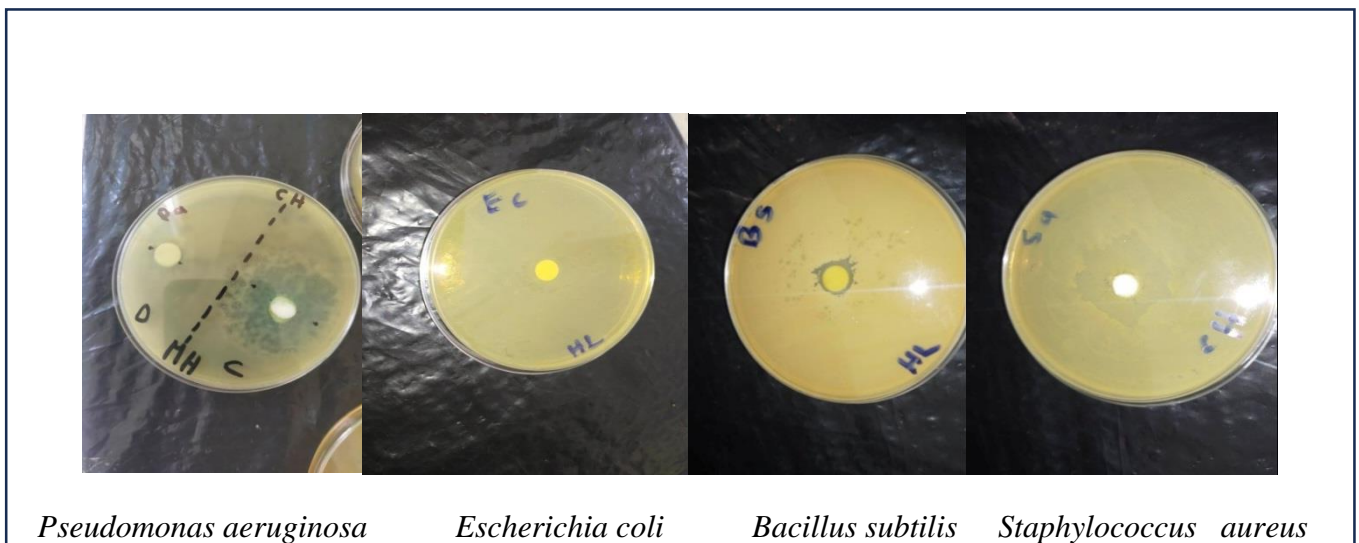
Après 24 heures d'incubation à 37°C pour les bactéries et les levures 48h d'incubation à 25°C, les zones d'inhibition observées autour des disques ou les puits de l'huile et de la crème sont illustré dans le tableau IIX.

Les résultats exprimés dans les (figures 17 et 18) montrent que les espèces bactériennes étudiées présentent des degrés de sensibilité différente vis-à-vis les extraits étudiés. La souche sera qualifiée de résistante (-) ce qui signifie l'absence d'une zone d'inhibition, sensible (+) pour une petite zone d'inhibition, très sensible (++) pour une zone d'inhibition moyenne, extrêmement sensible (+++) pour une zone d'inhibition très importante.

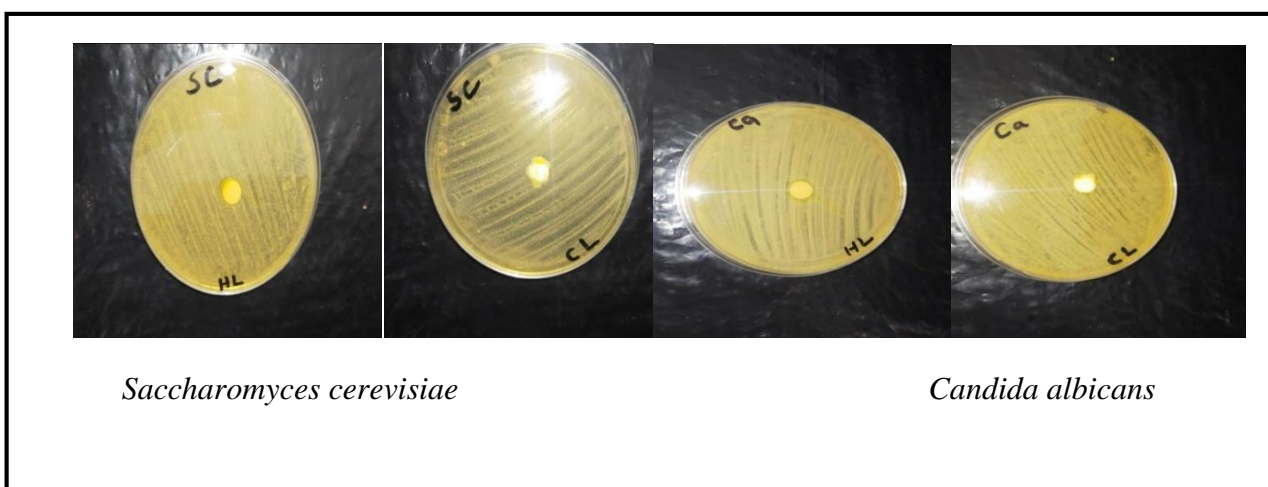
**Tableau IX :** Activité antimicrobienne d'huile de lentisque et la crème dermique sur les souches testés.

		Activité antimicrobienne	
		Huile	Crème
Les souches Bactériennes	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	+	+++
	<i>Escherichia coli</i>	-	-
	<i>Staphylococcus aureus</i>	+	+++

	<i>Bacillus subtilis</i>	+	-
Les levures	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	-	-
	<i>Candida albicans</i>	-	-



**Figure 17 :** L'antibiogramme des différentes souches bactériennes employées sur l'huile de lentisque et la crème cicatrisante (photo originale).



**Figure 18 :** L'antibiogramme des différentes levures employées sur l'huile de lentisque et la crème cicatrisante (photo originale).

L'huile brute de lentisque présentent également des effets antibactériens avec petite zone d'inhibition ( $12,5 \pm 0,5$  mm) vis-à-vis *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* ( $13 \pm 1$  mm), *Pseudomonas aeruginosa* ( $13,5 \pm 0,5$ mm), par contre elle est non inhibitrice sur la souche *Escherichia coli*, et aussi sur les levures donc aucune activité antifongique.

D'après **Mezni et al., (2012)**, ont observé un effet antibactérien était faible et non significatif contre la bactérie *Escherichia*. Les résultats antibactériens prouvent être variés en fonction du procédé d'extraction et le site de récolte des fruits utilisés pour l'obtention de l'huile.

*Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* sont non sensibles à la crème dermique, les levures testées aussi sont non sensibles donc aucune activité antifongique sur la crème formulée. Par contre une activité extrêmement sensible pour *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa*, avec un diamètre de ( $21 \pm 1$  mm) ( $20,5 \pm 0,5$  mm) respectivement, ces souches bactériennes spécifiques pour prévenir les infections graves donc notre crème elle promeut la cicatrisation.

La crème dermique à base d'huile de *Pistacia lentiscus* L. Est plus efficace que l'huile, donc la crème contient probablement des ingrédients supplémentaires en plus de l'huile de lentisque, ces ingrédients peuvent avoir un impact sur l'activité antibactérienne de la crème. Il est possible que la formulation de la crème soit améliorée l'efficacité antibactérienne de l'huile de lentisque, conduisant ainsi à une zone d'inhibition plus grande.

## II.5 Evaluation de l'activité cicatrisante in vivo

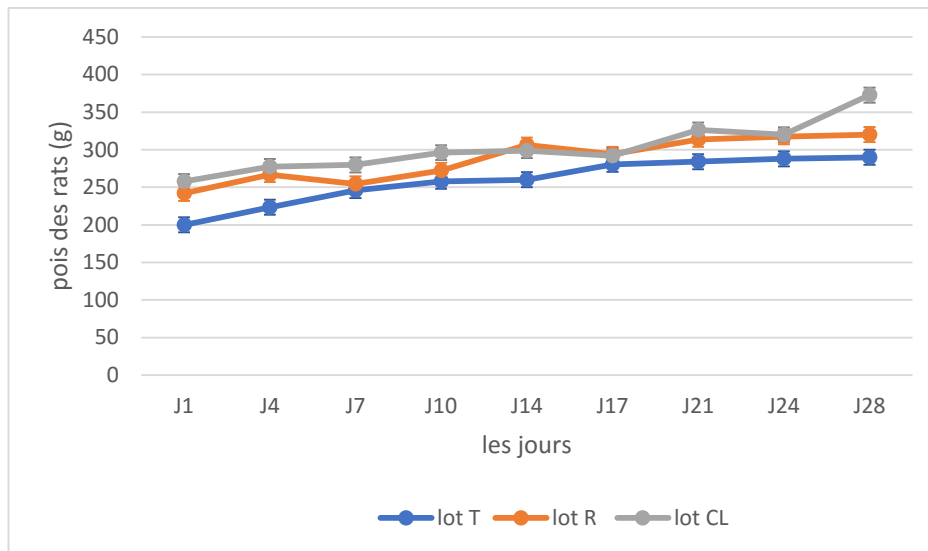
### 1. Enregistrement des mortalités au cours de l'expérience

Il existe des principes éthiques et des protocoles réglementaires qui guident les décisions de sacrifice des animaux en cas de souffrance (**CCPA, 1993**). Ces principes sont basés sur le respect de la vie et du bien-être des animaux et sur la minimisation de toute détresse inutile (**Larrère, 2002**).

Dans la période expérimentale, le 3<sup>ème</sup> rat dans le lot T à J7 ; 5<sup>ème</sup> rat à J21 dans le lot CL, nous avons sacrifiés les deux rats à cause de leurs souffrances.

### 2. Evolution pondérale

Cette étude est portée sur l'évolution de poids corporelle des rats des trois rats durant toute la période de traitement (Figure 19).



**Figure 19 :** Évolution pondérale des trois lots durant la période d'expérimentation.

Dans le premier jour, les poids des rats des différents lots étaient  $200 \pm 23,98$   $242 \pm 9,74$   $257,8 \pm 6,37$  g, dans les groupes témoin, référence et la crème respectivement.

Du J1 au J28, il y a eu une augmentation du poids corporelle pour le lot témoin jusqu'à  $290 \pm 24,04$  g. Les rats continuent leur croissance malgré la brûlure qu'ils ont subie.

Les résultats montrent une augmentation progressive du poids corporel des rats de lot référence au J1 à J4  $266,8 \pm 14,62$  g, puis on a noté un chute de poids à J7 et à J17. Un rétablissement du poids pondéral été marqué à partir de J21 à J28 avec  $320,2 \pm 16,46$  g.

Une augmentation importante du poids corporel pour le lot de la crème a été notée de J1 à J14  $298,8 \pm 32,79$  g, puis un chute de poids été noté au J17 avec  $292 \pm 39,95$  g, puis une augmentation importante au-delà du J21 à J28 avec  $372,75 \pm 10,68$  g.

**Torres et Nowson, (2007)** ont montré que la sévérité du facteur de stress semblait jouer un rôle clé dans la consommation alimentaire, ce qui pourrait affecter le poids corporel dans un modèle de rat dans une étude comparative.

La diminution de poids est probablement liée directement aux processus de cicatrisation en effet, comme tous les phénomènes physiologiques, les nutriments est plus importants dans le processus de la cicatrisation des plaies. Les plaies infectées exigent souvent l'augmentent de l'apport nutritionnel associée à la perte d'appétit (**Hilaly et al.,**

2004), ce qui pourrait expliquer cette perte du poids. De même, la perte de poids chez les rats traités à la sulfadiazine peut être due à une complication de ce traitement. En effet, la sur consommation de sulfadiazine peut entraîner certains risques systémiques (neutropénie, érythème, etc.) (Sarkhail *et al.*, 2011).

### 3. Évolution du processus cicatriciel

#### A. Evolution de surface et de pourcentage de contraction des plaies

Afin d'évaluer l'activité cicatricielle du la crème cicatrisante formulé, il est nécessaire de comparer les surfaces calculée, et aussi le pourcentage de contraction. Les résultats sont illustrés dans le tableau :

**Tableau X:** Evolution de surface et de pourcentage de contraction des trois les lots.

Les jours			Les lots		
			Lot T	Lot CL	Lot R
J1		Surface (cm <sup>2</sup> )	2,59±0,42	2,41±0,19	2,37±0,23
		%de contraction	/	/	/
J4		Surface (cm <sup>2</sup> )	2,43±0,40	2,54±0,25	2,93±0,58
		%de contraction	/	/	/
J7		Surface (cm <sup>2</sup> )	2,67±0,45	3,58± 029	3,91±0 ,37
		%de contraction	/	/	/
J10		Surface (cm <sup>2</sup> )	6,22±0,94	4,90±0,80	4,16±0,29
		%de contraction	/	/	/
J14		Surface (cm <sup>2</sup> )	6,56±0,60	3,46±0,45	3,31±0,73
		%de contraction		/	/
J17		Surface (cm <sup>2</sup> )	4,4±1,13	3,9±0,66	2,61±0,27
		%de contraction	/	/	/
J21		Surface (cm <sup>2</sup> )	2,92±0,25	1,56±0,36	1,63±0,38
		%de contraction	/	35,17±12,25	34,56±11,23
		Surface (cm <sup>2</sup> )	2,06±0,62	0,70±0,20	0,96±0,19

J24		%de contraction	34,95±15,62	70,07±11,36	59,31±7,02
		Surface (cm <sup>2</sup> )	1,1±0,54	0,27±0,038	0,35±0,12
J28		%de contraction	49,44±19,71	88,30±2,33	84,31±7,22

Dans cette étude, l'activité cicatricielle chez les rats a été résumée en trois phases distinctes :

❖ Phase inflammatoire (J1-J10)

A J1, toutes les plaies avaient des surfaces proches, ainsi que les mêmes signes de l'inflammation. Après 10 jours, les plaies traitées avec la crème à base d'huile de lentille (CL) (10%) ont enregistré la plus petite surface moyenne ( $4,90 \pm 0,80 \text{ cm}^2$ ), suivi du lot de référence ( $4,16 \pm 0,29 \text{ cm}^2$ ), suivi du groupe témoin ( $6,22 \pm 0,94 \text{ cm}^2$ ), une phase inflammatoire s'installe à mesure que les surfaces des plaies augmentent au cours de ces jours. Cette phase se caractérise par le début de la formation de croûtes, avec la présence d'érythème et d'œdème dans les trois lots.

❖ Phase prolifération (J10-J21)

Au cours de cette phase, la surface des plaies diminuent avec une installation complète de la croûte et une formation progressive de tissu granuleux qui se compose essentiellement des fibroblastes et des myofibroblastes qui synthétisent le collagène (**Schreml et al., 2010**), donc c'est le début de processus de réparation. A la fin de cette étape, une chute de la croûte avec un début de formation du tissu épidermique ont été observés chez les rats des lots la crème (10%) à base de (CL) et le lot référence alors que dans le lot témoin, le tissu commence à s'installer vers le 24<sup>ème</sup> jour. La surface des plaies du lot traitées par la crème (10%) à base de (CL) ( $1,56 \pm 0,36 \text{ cm}^2$ ) est plus petite que celle enregistré lors de traitement par sulfadiazine argentine ( $1,63 \pm 0,395 \text{ cm}^2$ ), et pour le lot témoin ( $2,92 \pm 0,25 \text{ cm}^2$ ), ce qui explique l'efficacité de notre crème pour la guérison des bruleurs.

❖ Phase de maturation (J21-J28)

Durant cette période, le collagène se réorganise pour renforcer la structure de la cicatrice. La réduction de la surface des plaies traitées par la crème (10%) à base de (CL) ( $0,27 \pm 0,038 \text{ cm}^2$ ) est proche que celle de lot référence ( $0,35 \pm 0,13 \text{ cm}^2$ ) donc les deux lots est plus rapide que le lot témoin ( $1,10 \pm 0,54 \text{ cm}^2$ ) qui présentent une maturation tardive. L'observation précoce de l'effet positif de la crème à base de (CL) (10%) et de sulfadiazine sur la

régénération épithéliale des brûlures du deuxième degré profond met en évidence son impact bénéfique dans le processus de guérison.

Les pourcentages de rétraction (tableau X )montre que de J 1 à J21, les trois lots ont été enregistré des pourcentages de rétraction négatifs. Cela s'est traduit par une augmentation de la taille des plaies par rapport à la taille de la plaie initiale.

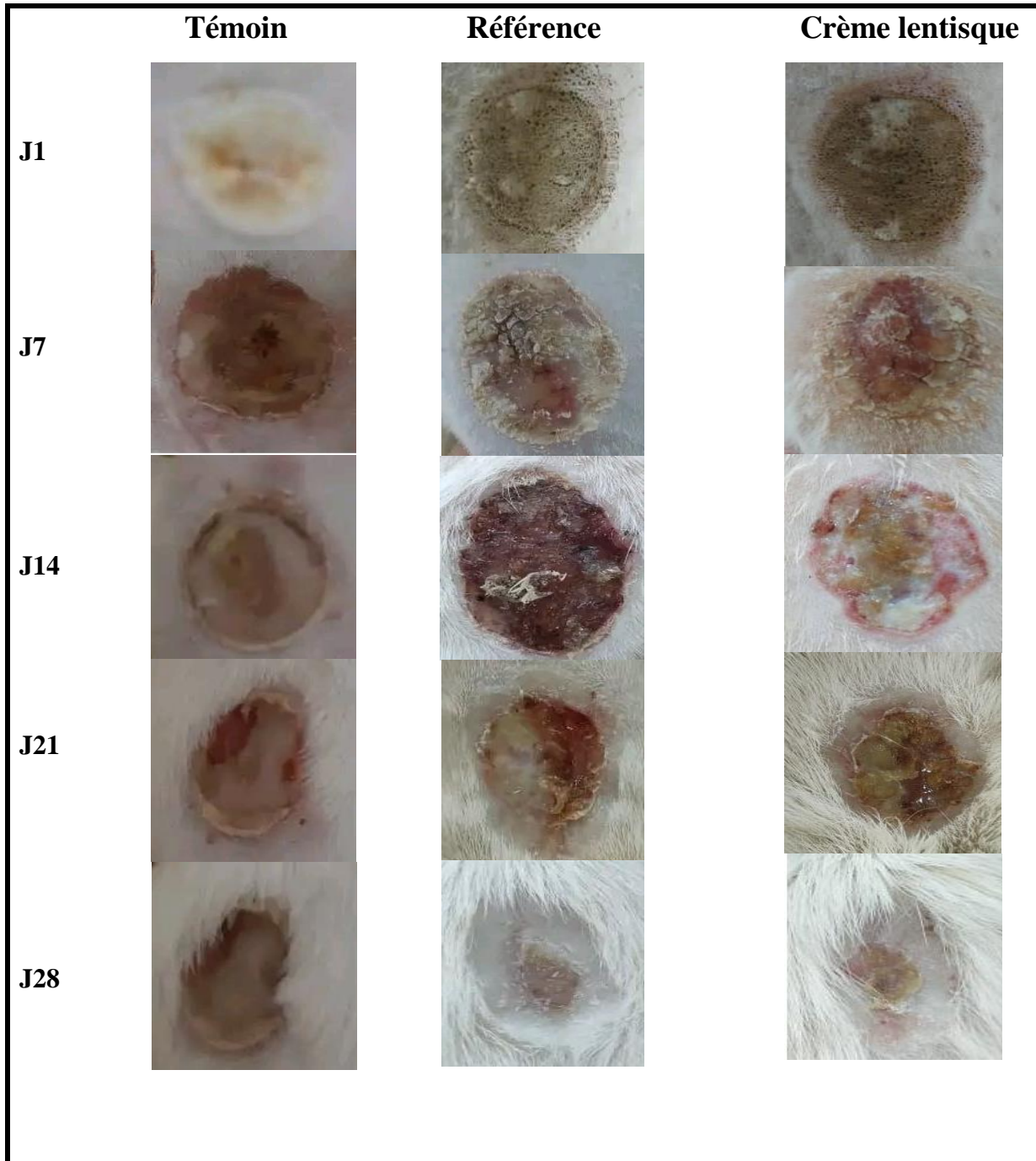
A partir de J21, les plaies du lot CL et lot R ont enregistrés leur première réduction de taille significative par rapport au lot Témoin, leur pourcentage de rétraction a atteint  $35,17 \pm 12,25\%$  et pour les plaies de référence  $34,56 \pm 11,23$  par contre le lot de témoin (T) ont a des pourcentages de rétraction négatifs.

À J28, toutes les plaies du lot CL et lot R ont enregistré un pourcentage de contraction proche, et donc la crème formulé a montré des effets thérapeutiques proches à ceux de la sulfadiazine d'argent. En effet, ce mélange permet, d'une part, une période d'inflammation assez longue et, d'autre part, une contraction de 88% à partir de J28.

### C. Etat d'évolution des plaies

Les photos ci-dessous montrent le rétrécissement des différentes plaies en fonction de la durée de traitement.





**Figure 20 :** Aspect des brûlures durant l'étude des lots : témoin ; référence et crème lentisque (photo originale).

Au début de l'expérience, les plaies des trois lots ont été augmentées, correspondant à la phase inflammatoire (œdème, érythème). Ce résultat diffère de celui trouvé par **Djerrou et al.**, (2013) et **Maameri (2014)**, qui ont affirmé que l'huile de lentisque favorise la

cicatrisation dès la première semaine, même s'il faut également noter que ces deux derniers ont utilisé des modèles expérimentaux différents, et aussi une huile récolté de différents place. À partir du jour 21, la surface de la plaie a commencé à rétrécir, de sorte que la crème formulée a eu un effet cicatrisant, ce qui est cohérent avec les résultats montrés par **Abdeldjalil (2016)**.

**Djerrou (2011)** a montré que l'huile de lentisque est riche en acide gras dont l'acide palmitique, oléique et linoléique avec une fraction insaponifiable qui contient des tocophérols, des stérols et des composants phénoliques. Ces différents constituants fournissent les lipides nécessaires à la réparation des couches de l'épiderme endommagées suite à des brûlures, les acides oléiques et linoléiques possèdent des propriétés anti-inflammatoires de cette huile agirait par divers mécanismes, mettant en jeu un effet de barrière et de protection, un effet antioxydant.

Ces études ont démontré le rôle de l'huile végétale de lentisque et le miel dans la cicatrisation en les employant seule, donc leur combinaison donne des effets synergiques pour la cicatrisation.

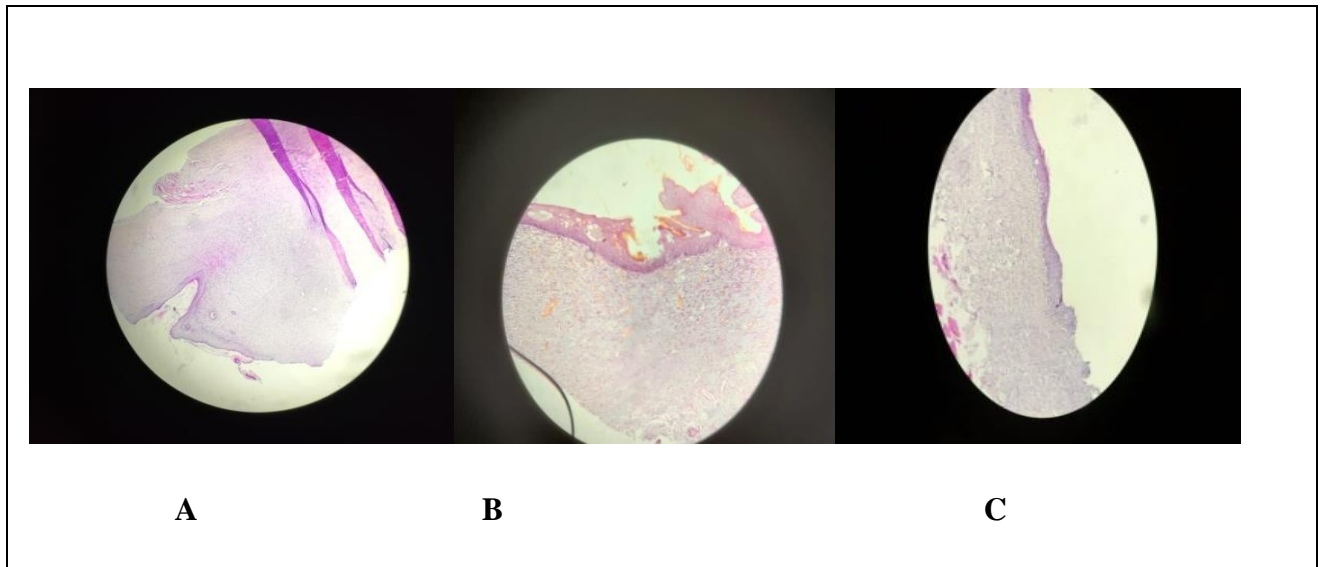
la sulfadiazine argentique est utilisé comme un traitement pour le lot de référence, ces composés d'argent sont le pilier du traitement topique des brûlures depuis le début des années 1960 (**Jewo et al., 2009**).

Malgré ces nombreux avantages, mais de nombreux effets indésirables et effets secondaires de la sulfadiazine argentique ont été signalés tels que : les cas de toxicité rénale et de leucopénie, qui limitent son utilisation pendant de longues périodes de temps, des cas de guérison retards ont été signalés et des réactions allergiques à l'argent chez certains patients (**Fraser-Moodie, 1992**).

**Muller et al., (2003)** ont démontré que le sulfadiazine argentique atténue l'activité des neutrophiles et la prolifération lymphocytaire, ce qui provoque l'augmentation de taille des plaies, ce qui est en accord avec notre résultats, cette augmentation est due à l'effet toxique de la sulfadiazine argentique sur les neutrophiles qui sont responsables de la lutte contre les infections bactériennes.

### II.6 L'étude histopathologie

Nos résultats microscopiques des coupes histopathologie (figure 21) sont comme suivants :



**Figure 21 :** Coupes histopathologies des trois lots (photo originale).

Avec :

**A:** lot sain;

**B:** lot référence;

**C:** lot crème lentisque.

D'après les résultats observés les deux lots Réf et CL, ont un épiderme légèrement mince, ce qui signifie que sa couche superficielle est moins épaisse que la normale. La présence d'une couche de kératine dans le lot CL indique que les kératinocytes de l'épiderme ont commencé à se différencier et à produire de la kératine, une protéine fibreuse qui confère une résistance et une imperméabilité à la peau (**Yahiaoui et al., 2018**).

La couche basale de l'épiderme de lot CL est décrite comme étant en palissade, ce qui signifie que les cellules basales sont organisées en rangées régulières et alignées. Cette organisation en palissade est considérée comme normale et est généralement observée dans des conditions de régénération ou de croissance épidermique saine (**Schreml et al., 2010**).

Le derme de lot CL est décrit comme étant lâche, ce qui peut indiquer une diminution de la densité des fibres de collagène et d'élastine dans cette couche de la peau au tant que le

derme de lot R est léger, fibreux et dense, ce qui peut signifier qu'il est moins épais ou moins dense que d'habitude. Le fait qu'il soit fibreux et dense peut indiquer une bonne résistance mécanique et une structure solide. La vascularisation légère du derme de lot CL indique la présence de vaisseaux sanguins qui apportent des nutriments et de l'oxygène aux cellules du derme et de l'épiderme.

Absence de follicules pileux dans le lot CL Il est noté qu'il n'y a pas de follicules pileux présents dans le derme. Les follicules pileux sont des structures situées dans le derme et responsables de la croissance des cheveux. Leur absence peut indiquer une zone de peau sans cheveux ou peut être associée à des changements pathologiques spécifiques (**Schreml et al., 2010**).

Présence légère des glandes dans le lot CL Bien qu'il ne soit pas précisé quelles glandes sont présentes, il est mentionné qu'il y a une légère présence de glandes, leur légère présence peut être considérée comme normale ou peut indiquer une répartition ou une densité glandulaire atypique (**Dereure, 2001**).

L'examen histologique a révélé une présence significativement plus abondante de fibroblastes dans les plaies des groupes traités avec sulfadiazine argent et la crème à base de l'huile de *Pistacia lentiscus*. Cela suggère que les deux produits à la promotion du fibroblaste, ce qui entraîne une cicatrice de moyenne qualité. De plus, la néovascularisation était plus marquée dans les sections de tissu cutané des rats traités avec la crème à base de l'huile de *Pistacia lentiscus* par rapport aux sulfadiazine argent. Ces résultats sont corrélés à ceux rapportés par **Abdeldjalil et al, (2016)** utilisant de l'huile de *Pistacia lentiscus*, et par **Hemida et al, (2021)**.

# Conclusion

Cette étude visait à apporter une contribution à l'amélioration de la médecine traditionnelle en utilisant l'huile végétale de *Pistacia lentiscus* L. dans le développement d'une préparation thérapeutique accessible et efficace pour le traitement des brûlures cutanées, la sélection de cette plante était basée sur sa grande disponibilité dans notre région.

Dans notre travail nous avons évalués les paramètres physicochimiques de l'huile extraite à partir de fruit mature de l'espèce *Pistacia Lentiscus* par une arisant à Tizi Ouzou en janvier 2023, il en ressort que cette huile a des paramètres physiques proche de ceux d'une huile d'olive vierge (densité= 0,90. Humidité = 4,4 %. IR= 1,47), et des paramètres chimiques (IA, IP, IS, IE) ont été prouvé la qualité de notre huile suivant les directives du COI, 2015.

La formulation d'une crème dermique à base d'huile de lentisque (10%) donne une crème à une consistance crémeux homogène et odeur caractéristique de *P.lentiscus*, qui s'étale facilement et lentement absorbé par la peau. Il a été suivi le contrôle qualité de la crème par différents paramètres physiques mené à conclure que la crème est une émulsion E/H avec une conductivité = 2,3 (us/ cm), PH = 6,1 neutre qui vise qu'elle est compatible avec l'usage dermique et viscosité = 41,9 (Pa.s), et pouvoir étalement de 14,6 cm<sup>2</sup> qui donne une crème facilement étalable.

L'activité antimicrobienne a été étudié pour la crème formulé ainsi que l'huile de *P.lentiscus*, cette étude montre que l'huile de lentisque a une petite activité antibactérienne pour les souches *Staphylococcus aureus* (12,5 ±0,5 mm), *Bacillus subtilis* (13 ±1 mm), *Pseudomonas aeruginosa* (13,5 ±0,5mm), par contre elle est non inhibitrice sur la souche *Escherichia coli*, et aussi aucune activité antifongique. Par contre la crème a une activité plus efficace que l'huile pour *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa*, avec un diamètre de (21±1 mm) (20,5±0,5 mm) respectivement, et non sensible pour *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, et les levures.

Notre étude aussi sur les brûlures expérimentales de deuxième degré profond chez les rats, parmi à évaluer l'effet cicatrisant de la crème à base d'huile de lentisque en le comparant à la sulfadiazine argent.

Les résultats planimétriques obtenus ont révèlés un effet cicatrisant similaire de notre crème sur la guérison des plaies par rapport à la sulfadiazine argent, qui peut créer des effets secondaires lors de son utilisation à moyen terme.

La diminution de taille des plaies a été observé chez les lots traités avec la crème à base d'huile de lentisque a un pourcentage de rétraction (88%) proche que les lots traités avec la sulfadiazine argent (84%) à J28.

L'étude des coupes histopathologies des échantillons des trois lots T, R, CL, montre que le processus de cicatrisation dans les lots R et CL sont proche, ce qui confirme que la crème formulé a un effet cicatrisant similaire à celle de sulfadiazine.

Dans cette étude en fixant comme perspectives :

- Avoir une huile avec une méthode d'extraction bio vraiment ;
- Formuler des crèmes avec plusieurs concentrations d'huile, et évaluer leur efficacité selon leur concentration, afin d'optimiser la meilleure ;
- Utiliser l'huile de *Pistacia lentiscus L.* comme référence dans l'étude expérimentale ;
- Augment la durée expérimentale plus que 28 jours, afin de suivre la guérison des rats a 100 %.

# **Références bibliographiques**



### - A -

**Abaza,L., Msallem ,M., Daoud, D. and Zarrouk,M.(2002).** Caractérisation des huiles de sept variétés d'olivier tunisiennes. John Libbey Eurotext, Oléagineux Corp gras Lipides, Vol. 9, N°2, pp. 174-9.

**Abdeldjelil, M.(2016).** Effets Cicatrisants de Produits à Base d'huile de Lentisque (*Pistacialentiscus L.*) Sur Les Brûlures Expérimentales Le Rat. Thèse de Doctorat Université des Frères Mentouri Constantine 161 p ,171p.

**AFNOR.(2000).** "Receuil de normes" les huiles essentielles. Tome 2. Monographies relatives aux huiles essentielles. AFNOR, Paris, p. 661-666.

**AFNOR.(1998).**NF V04-501. Microbiologie des aliments - Préparation de l'échantillon pour essai, de la suspension-mère et des dilutions en vue de l'examen microbiologique des viandes et produits à base de viande.

**Ait Said S., Torre F., Derridj A., Gauquelin T., MEVY J.-P.(2013).** Gender, Mediterranean Drought and Seasonality: PSII Photochemistry in *Pistacia lentiscus L.* *Photosynthetica*, 51(4): 552-564.

**Amara N.,Benrima A.,Anba C.,Belikhir H.(2019).**Activité antimicrobienne de l'huile des fruits du pistachier lentisque (*pistacia lentiscus L.*), *Revue agrobiologia* 9(2) : 1669-1676.

### - B -

**Bammou M., Daoudi A., Slimani I., Najem M., Bouiamrine E., Ibijbijen, J, Nassiri L. (2015).** Valorisation du lentisque <<*Pistacia lentiscus L.*>>: Etude ethnobotanique, Screening phytochimique et pouvoir antibactérien. *Journal of Applied Biosciences* 86:7966- 7975.

**Ben Douissa F.(2004).** Etude Chimique et Biologique de *Pistacia lentiscus*, Grenoble, 1, 330-331.

**Benhammou, N., Bekkara, F.A, Kadifkova Panaskova, T. (2008).** Antioxidant and antimicrobial of the *Pistacia Lentiscus* and *Pistacia atlantica* extracts. *African journal of pharmacy and pharmacologie* vol.2(2) pp. 022-08.

**Berrichi, M., Chikh, M., Haddad,A., Allam,F., Gueffar M Et Belkhodja Y.(2017).** quelques aspects histo-morphologiques du pistachier de l'atlas (*pistacia atlantica desf.*) dans le nord occidental de l'atlas tellien (tlemcen - algerie), laboratoire de recherche n° 31: , université de tlemcen, tlemcen, algérie. p 112.

**Baritaud, S., Desmoulière,A. , Durand-Fontanier ,S., Martin, C., Pesteil , A., Sparsa,F., (2013).** Les principales plaies susceptibles d'être traitées par le mielThe main wounds treatable by hone, Pages 32-35.

**Boukelouaa, A., Belkhirib, A., Djerrou, Z., Bahri, L., Boulebda, N., Hamdi P.Y. (2012).** Acute toxicity of *Opuntia ficus indica* and *Pistacia lentiscus* seed oils in mice. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative medicines*, 9(4): 607- 611.

**Bozorgi, M., Memariani, Z., Mobli, M., Surmagh, M. H. S., Shams-Ardekani M. R. Rahimi R., 2013.** Five *Pistacia* species (*P. vera*, *P. atlantica*, *P. terebinthus*, *P. khinjuk*, and *P. lentiscus*): A review of their traditional uses, phytochemistry, and pharmacology; *Scientific world journal*; 33p.

### - C -

**CCPA, Le Conseil canadien de protection des animaux (1993)** Manuel sur le soin et l'utilisation des animaux d'expérimentation. Édité: Olfert, E.D., Cross B.M., McWilliam A. <http://www.ccpa.ca> .

**Chang, A. C., Dearman, B., Greenwood, J.E. (2011).** A Comparison of Wound Area Measurement Techniques: Visitrak versus Photography. *Open access journal of plastic surgery. Eplasty*. 11: e18.

**Charef M., Yousfi M. & M. Saidi , (2008).** -Determination of fatty acid composition of acorn (*Quercus*), *Pistacia Lentiscus* seeds growing in Algeria . *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 85: 921–924.

**Conseil Oléicole International. (2015).** COI /T.15 / NC n° 3/ Rév.6 (Novembre). Norme commerciale applicable aux huiles d'olive et huiles de grignons d'olive.

**Couquet, Y., Desmoulière, A., & Rigal, M.-L., (2013).** Les propriétés antibactériennes et cicatrisantes du miel. *Actualités Pharmaceutiques*, 52(531), 22-25p.

**Czarnecki W., Gierucka . (2007).** Cosmetic cream from lipid fraction of *Juglans regia* and its properties. Department of applied pharmacy, medical university of Lublin.

### - D -

**Dadoune J. P., Hadjiisky P., Siffroi J. P., Vendrely E. (2000).** *Histologie*. 2<sup>ème</sup> éd., Flammarion, p 190, 267-272, et 393p.

**Djerrou, Z., Djaalab, H., Riachi, F., Serakta, M., Chettou, A., Maameri, Z., Boutobza, B., Hamdi-Pacha, Y. (2013).** Irritantcy potential and sub acute dermal toxicity study of *Pistacia Lentiscus* fatty oil as a topical traditional remedy. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines* 10, 480–489.

**Djerrou, Z., Hamdi-Pacha, Y., Belkhiri, A., Djaalab, H., Riachi, F., Serakta, M., Boukeloua, A., Maameri, Z. (2011).** Evaluation of *Pistacia Lentiscus* Fatty Oil Effects on

Glycemic Index, Liver Functions and Kidney Functions of New Zealand Rabbits. *Afr J Tradit Complement Altern Med* 8, 214–219.

**Dréno, B.(2009).** Anatomie et physiologie de la peau et de ses annexes. In *Annales de Dermatologie et de Vénérologie* (Vol. 136, pp. S247-S251).

**Duru, M.E., Cakir, A., Kordali, S., Zengin, H., Harmadar, M., Izumi, S., Hirata, T. (2003).** Chemical composition and antifungal properties of essential oils of three Pistacia species. *Fitoterapia* 74, 170-176.

- E -

**Ezzoubi, M., Benbrahim, A., Elmounjid, S., FassiFihri, J., Bahechar, N., Boukind, E.H., (2004).** Conduite pratique de l'antibiothérapie chez les brûlés. *Annals of Burns and FireDisasters*. 17,(1) :25-33.

- F -

**FAO. (1979).** Manuel of food quality contrl. ED: 3 commidities. Food and Agriculture organization of the United Nations. Rome. 409p.

**FAO. (1979).** Manuel of food quality contrl. ED: 3 commidities. Food and Agriculture organization of the United Nations. Rome. 409p.

**Fayolle, P. (1992).** Plaies par brûlures : particularités physiopathologiques et thérapeutiques. *Le point vétérinaire*, vol.24, numéro spécial « chirurgie plastique et reconstructrice.79-86p.

**Ferhat, A et Belhadi, M., (2016).** Evaluation de L'activité Cicatrisante et de L'effet Anti-Inflammatoire de *Carthamuscaeruleus* L. Université M'hamedBougara de Boumerdes.Algerie. 19-20-21 p.

**Fraser-Moodie, A. (1992).** Sensitivity to silver in a patient treated with silver sulphadiazine (Flamazine). *Burns* 18, 74–75.

- G-

**GEORGE, A. C., CUTLER, R. R., HUMBER, D. P. (2008).** Antibacterial activity of plants used in traditional medicines of Ghana with particular reference to MRSA. *Journal of Ethnopharmacology*, 116(1), 102–111.

**Gopinath D., M. R., Ahmed, K., Gomathi, K., Chitra, P. K., Sehgal, Jayakumar R.(2004).** Dermal wound healing processes with curcumin incorporated collagen films, *Biomaterials*, 25, (10):1911–1917.

- H -

**Haouli A., Seridi R., Djemli S., Bourdjiba O(2015).** Contribution to the Analysis of Pistacia lentiscus Extracted Oil. *Journal of Agricultural & Environmental Sciences*, 15(6): 1075-1081.

**Hemida H , Doukani K, Zitouni A, Miloud B, Beggar H, Bouhenni H(2021).** Assessment of wound healing activity of ethanolic extracts of Pistacia lentiscus L. leaves and Quercus ilex L. bark in full thickness skin excision in rats. *Advances in Traditional Medicine*.

**Hé, D. (2006).** Bilan des connaissances actuelles sur la cicatrisation des plaies cutanées chez le chien et le chat (PhDThesis). Paul-Sabatier de Toulouse, 234p.

**Hilaly, J.E., Israili, Z.H., Lyoussi, B.(2004).** Acute and chronic toxicological studies of Ajuugaiva in experimental animals. *Journal of Ethnopharmacology* 91, 43–50.

### - I -

**ISO 3657 : (2002).** Corps gras d'origines animale et végétale -- Détermination de l'indice de saponification.

**ISO 3960 : (2001).** Corps gras d'origines animale et végétale- détermination de l'indice de peroxyde.

**ISO 3961 : (1996).** Corps gras d'origines animale et végétale - Détermination de l'indice d'iode.

**ISO 660 : (2003).** Corps gras d'origines animale et végétale- détermination de l'indice d'acide et de l'acidité.

**ISO 662 : (1998).** Détermination de la teneur en eau et en matières volatiles.

**ISO 6883 : ( 2000).** Corps gras d'origines animale et végétale- détermination de De la densité relative.

### - J -

**Jewo, P.I., Fadeyibi, I.O., Babalola, O.S., Saalu, L.C., Benebo, A.S., Izebu, M.C., Ashiru, O.A.(2009).** A comparative study of the wound healing properties of moist exposed burn ointment (MEBO) and silver sulphadiazine. *Annals of Burns and Fire Disasters* 22, 79.

### - K -

**Kechidi M., Chalal M A., Amel B ., Asma G., Brahim T., Mohamed A., Mohamed, O.(2020).** Determination of the fixed oil quality of ripe pistacia lentiscus fruits and Opuntia-ficus indica seeds. Preprint,392084.

### - L -

**Lambers H., Piessens S., Bloem A., Pronk H et Finkel P. (2006).** Natural skin surface pH is on average below 5, which is beneficial for its resident flora. *Int J Cosmet Sci.* 28(5), p 359-370.

**Lanfranchi F., Mai B T., Girard M.(1999).** La fabrication d'huile de lentisque (Linsticu ou chessa) en Sardaigne, *Journal d'agriculture traditionnelle et de botanique appliquée*, 41, p. 81-100.

- Larrière, R. (2002).** éthique et experimentation animale, Nature Sciences Sociétés, France.
- Le Floch, R., Naux, E., Arnould, J.F. (2015).** L'infection bactérienne chez le patient brûlé. *Ann Burns FireDisasters* 28, 94–104p.
- Le Hir A. (1992).** Pharmacie galénique. 6eme édition. Paris : Masson, p 377.
- Losquadro, W. D.(2017).** Anatomy of the Skin and the Pathogenesis of Nonmelanoma Skin Cancer. *Facial Plastic SurgeryClinics of NorthAmerica*, 25(3), 283–289p.
- Larcher.C, (2016).** Antibiogramme standard, 15p .

### - M -

- Maameri-Habibatni, Z. (2014).** Pistacia lentiscus L.: Evaluation pharmacotoxicologique (PhDThesis). Thèse de Doctorat en Sciences. Université Constantine 1, Algérie. 56-102.
- McNulty, C., Rodgers, G. L., Mortensen, J. E. (2004).** An Overview of the Topical Antimicrobial Agents Used in the Treatment of Burn Wounds. *Continuing Education Topics & Issues. Article 273, 0.1 CEC, 74-78.*
- Mezni F., Maaroufi A., Msallem M., Boussaid M., Larbi Khouja M. et Khaldi A. (2012).** Fatty acid composition, antioxidant and antibacterial activities of Pistacia lentiscus L. fruit oils. *Journal of Medicinal Plants Research.*
- Moulin, Y., (2001).** Comprendre le processus de cicatrisation. *L'infirmière du Québec*, 37.
- Nergiz, C., &Ötleş, S.** Chemical composition of Nigella sativa L. seeds. *Food Chemistry*, 48(3), 259-261p.
- Muller, M.J., Hollyoak, M.A., Moaveni, Z., Brown, T.L.H., Herndon, D.N., Heggers, J.P. (2003).** Retardation of wound healing by silver sulfadiazine is reversed by Aloe vera and nystatin. *Burns* 29, 834–836.

### - O -

- Oummd, adil., (2013).** Cicatrisation des plaies chez l'enfant. Thèse de doctorat en médecine, université mohammed y souissi, 219p.

### - P -

- Pharmacopée européenne. (2020 ),** 10<sup>eme</sup> édition.
- PONCE A.G., FRITZ R., DE LVALLE C. ET ROURA S.I. (2003).** Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard.
- Ponce A.G., Fritz R., DE Lvalle C. et Roura S.I. (2003).** Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard.

### - Q -

**Quezel, P., & Santa, S. (1963).** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales (No. 581.965 Q8).

### - R

**ROBERT S., OUESLATI H., ALLO J.-C. (2011).** Brûlures thermiques, chimiques et électriques aux urgences [en ligne]. Urgence Online : Campus numérique de médecine d'urgence. Disponible sur : (consulté le 01/05/2023).

**Riddle, J.M. (2002).** History as a tool in identifying « new » old drugs. In B. S. Buslig and J.A. Manthey (Eds.).

### - S -

**Saidi, Y., Hasnaoui, F., Hasnaoui ,B. (2009).** Production potentiality in fruits, biomass, oil, essential oil and medicinal properties of the mastic tree (*Pistacia lentiscus*) in Kroumirie, N-W Tunisia. EFI Proceeding No. 5.

**Sarkhail, P., Esmaily, H., Baghaei, A., Shafiee, A., Abdollahi, M., Khademi, Y., Sarkheil, P. (2011).** Burn healing potential of *Nigella sativa* seed oil in rats. International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research, 2(1), 34.

**Schreml, S., Szeimies, R., Prantl, L., Karrer, S., Landthaler, M., & Babilas, P., (2010).** Oxygen in acute and chronic wound healing. British Journal of Dermatology, 163(2), 257-268p.

**Singer, A, J et Clark, RA., (1999).** Cutaneous Wound Healing. N Engl J Med 341(10): 738-46p.

### -T-

**Torres, S., J , Nowson. C. A (2007).** Relationship between stress, eating behavior, and obesity, DOI: 10.1016/j.nut.2007.08.008.

### - W -

**Wassermann, D., (2002).** Critères de gravité des brûlures. Epidémiologie, prévention, organisation de la prise en charge: Elsevier.

### -Y-

**Yahiaoui, F ., Zaouani, M ., Kardjadj , M., Laghouati, A ., Kadour, R. , Bouzid , N ., Ben-Mah ,M.H. (2018).** Antibacterial, Antioxidant and Wound Healing Activities of *Marrubium vulgare* and *Cytisus triflorus* Extracts Native to Algeria Évaluation de l'activité antibactérienne, antioxydante et cicatrisante des extraits de *Marrubium vulgare* et de *Cytisus triflorus* d'Algérie, DOI 10.3166/phyto-2018-0015.

- Z -

**Zrira, S., Elamrani, A., Benjilali, B., (2003).** Chimical composition of the essantial oil of Pistacia Lentiscus L. from Morocco –A seasonal variation. Flavour and Fragrance Journal, 18: 475-480.

# **Annexe**



## Annexe 01

### Présentation de Site de production de Dar El Beida

L'unité de Dar El Beida existe depuis 1958, elle appartenait au laboratoire français LABAZ avant sa nationalisation en 1970, Elle situer dans la zone industrie Route de wilaya N°11 BP 141, Dar El Bieda, Alger. L'activité de cette unité était limitée en la fabrication de quelques médicaments et Produits cosmétiques, mais actuellement elle produit une gamme de médicaments très large Dans plusieurs formes galéniques : Comprimés, Gélules, Sirops (solutés buvables), Forme pâteuses (pommades, gel, crème), Suspension buvable, Sels, et Solution dermique.

L'unité de Dar el Beida est caractérisée par une capacité de production très importante (43 millions unités de vente par an). Aussi l'usine est dotée d'un laboratoire de contrôle de la qualité chargé de l'analyse Physico-chimique et microbiologique et d'une surface de stockage.

Depuis le temps il y a eu lieu aux transformations Suivantes :

- Agrandissement de l'unité de 3600m<sup>2</sup> à 6600 m<sup>2</sup> ;
- La mise au point des produits pharmaceutiques algériens ;
- Extension du magasin de stockage ;
- Modernisation des chaînes et des ateliers.

## Annexe 02

### Présentation de centre de recherche et de développement

En 1975, un Laboratoire de Recherche et de Développement CRD a été créé par un pharmacien Algérien, il est situé à une douzaine de kilomètres au sud-ouest d'Alger. Cette entreprise nationale détenant le monopole de l'importation, de la distribution, de la production des médicaments et des produits pharmaceutiques.

L'usine possède 5 ateliers de production répartis comme suit :

- 3 ateliers de production de différents produits (atelier suppositoires, atelier comprimés, atelier ampoules buvables).
- 2 ateliers pour les solutés massifs (atelier de solutés massifs poches, atelier de soluté massif flacons). En plus d'un laboratoire de contrôle de la qualité chargé de l'analyse physicochimique, microbiologique, toxicologique et de la gestion technique et documentaire. Dans le cadre de sa stratégie.

Le CRD est chargé principalement de :

- L'élaboration de la politique et du développement des axes de recherche en rapport avec les missions stratégiques de SAIDAL dans le domaine des sciences médicales, plus particulièrement dans l'innovation pharmaceutique ;
- La participation à l'élaboration de la politique de développement des médicaments du groupe SAIDAL;
- L'assistance technique aux filiales de production;
- La réunion des ressources humaines lui permettant d'assurer une veille technologique et une démarche prospective au profit du groupe.

## Annexe 03

Tableau I : Matériel utilisés

Verrerie	appareillage
Béchers	Centrifugeuse
Fioles	Réfrigérants
Erlenmeyer	Etuve
Eprouvettes graduées	Balance analytique
Pipette et micropipettes	Refractomètre
Spatule	Densitomètre
Creuset en porcelaine	Burette
Tube à essai	Spectrophotomètre visible(UV)
Fiolle jaugée	Bain ultrason
entonnoir	Four à moufle
pince	Bec bunsen
Boite pétri	Agitateur vortex
Flacons	incubateur

Tableau II : Produits chimiques utilisés

Nom	Formule générale
Ethanol	$C_2H_6O$
Phénophtaléine	$C_{20}H_{14}O_4$
Acide chlorhydrique	HCL
Hydroxyde de potassium	KOH
Solution de l'amidon	$C_6H_{10}O_5$
Cyclohexane	$C_6 H_{12}$
Chloroforme	$CHCl_3$
Acide acétique	$CH_3COOH$

Thiosulfate de sodium	$\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$
Tétrachlorure de carbone	$\text{CCl}_4$
Acétate d'éthyle	$\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_2$
Iodure de potassium	$\text{KI}$
Reactif de Wijs	$\text{ICl}_3$

**Annexe 04****I. Matériel utilisés****Tableau III : Matériel utilisés**

<b>Appareils</b>	<b>Matériels</b>
Microtome (Leica RM2125)	Pince
Incubateur (nuve incubator EN055)	Cassettes d'inclusions
Bain marie (Leica HI1210)	Lames
Plaque froid (Leica EG1150)	scalpel
microscope optique	

**II. Produits utilisés**

- Formol tamponné à 10 % ;
- Éthanol ;
- Toluène ;
- Paraffine liquide ;
- Hématoxyline de Harris
- Eosine à 1.5 % ED ;
- Hématoxyline de Groat. Lithium de carbonate: solution saturée = 1.2 gr% E.D ;
- Ponceau: dissoudre 0.2 gr du ponceau dans 300 ml de l'E.D+ 0.1 gr de fuchsine +0.6 ml d'acide acétique ;
- Eau acétifié à 1% dans l'E.D ;
- Orange G acide phosphomolybdique: dissoudre 2 gr d'orange G et 3 à 5 gr d'acide phosphomolybdique ou phosphotungstique dans 100 ml d'E.D ;
- Bleu d'aniline (ou vert lumière ou vert solide FCF): dissoudre 0.1 à 0.2 gr de bleu d'aniline dans 100 ml l'E.D +0.2 ml acide acétique.

## Résumé :

Dans cette étude nous avons procédé à l'évaluation des caractères physicochimiques d'huile de *Pistacia lentiscus* L. qui montre une qualité chimique importante (IA = 2,94 mg KOH/g ; IP = 1,14 meqO<sub>2</sub>/kg ; IS = 193,54 mg KOH/g). Une formulation de la crème cicatrisante à base d'huile de lentisque avec une concentration de 10%, suivi un contrôle des paramètres physique (conductivité = 2,3 us/ cm. pH = 6,1 et viscosité = 41,9 Pa.s. et pouvoir étalé de 14,6 cm<sup>2</sup>), et l'évaluation de l'activité antimicrobiennes qui montre que notre crème ainsi que l'huile ont été efficaces contre les infections bactériennes et non efficaces pour les infections fongiques. Notre crème est menée pour traiter des brûlures expérimentales chez les rats, le processus de la cicatrisation a été évalué par les surfaces des plaies et les pourcentages de rétractions de la plaie à J1, J4, 7, 10, 14, 17, 21, 24 et J28, en comparaison avec une « sulfadiazine d'argent » comme référence et un témoin. Les résultats ont montré que la cicatrisation du lot crème était proche de celle du lot de référence, ces résultats démontrent que la crème à base d'huile de *Pistachia lentiscus* L. peut améliorer la cicatrisation des plaies dans un modèle des brûlures cutanées profondes au deuxième degré et soutenir son utilisation pharmaceutique.

**Mots clés :** *Pistacia lentiscus* L., huile de lentisque, brûlures cutanées, crème à base d'huile de lentisque.

**Abstract:**

In this study we have proceeded to the evaluation of the physicochemical characteristics of oil of *Pistacia lentiscus* L. which shows an important chemical quality (IA = 2.94 mg KOH / g; IP = 1.14 meqO<sub>2</sub> / kg; IS = 193 .54 mgKOH/g). A formulation of the healing cream based on lentisk oil with a concentration of 10%, followed by a check of the physical parameters (conductivity = 2.3 us/cm. pH = 6.1 and viscosity = 41.9 Pa.s. and spreading power of 14.6 cm<sup>2</sup>), and the evaluation of the antimicrobial activity which shows that our cream as well as the oil are effective against bacterial and non-effective for fungal infections. Our cream is designed to treat experimental burns in rats, the healing process was evaluated by the wound surfaces and the percentages of wound retractions at D1, D4, 7, 10, 14, 17, 21, 24 and D28, in comparison with a "silver sulfadiazine" as a reference and a control. The results showed that the healing of the cream batch was close to that of the reference batch, these results demonstrate that the oil-based cream of *Pistachia lentiscus* L. can improve wound healing in a model of deep skin burns in the second degree and support its pharmaceutical use.

**Key words:** *Pistacia lentiscus* L., mastic tree oil, skin burns, cream based on lentisk oils.

## الملخص :

في هذه الدراسة ، انتقلنا إلى تقييم الخصائص الفيزيائية والكيميائية لزيت الضرو والذي يُظهر جودة كيميائية مهمة (IA = 2.94 mg KOH / g ؛ IP = 1.14 meqO<sub>2</sub> / kg ؛ IS = 193.54 mgKOH / g). تركيبة من الكريم العلاجي تعتمد على زيت الضرو بتركيز 10٪ ، يليه فحص المعلمات الفيزيائية (الموصلية = 2.3 ميكرو سيمنس / سم . PH = 6.1 واللزوجة = 41.9 Pa.s. وقوة انتشار 14.6 سم<sup>2</sup> )، وتقييم النشاط المضاد للميكروبات الذي يظهر أن كريمتنا وكذلك الزيت فعالان ضد الالتهابات البكتيرية وليس فعال على الالتهابات الفطرية. تم تصميم كريمتنا لعلاج الحروق التجريبية في الفئران ، وتم تقييم عملية الشفاء من خلال أسطح الجرح والنسب المئوية لتراجع الجرح في الأيام 1 و 4 و 7 و 10 و 14 و 17 و 21 و 24 و 28 ، مقارنةً بـ " سلفاديازين الفضة " كمرجع وعنصر تحكم. أظهرت النتائج أن شفاء دفعة الكريم كان قريباً من شفاء الدفعة المرجعية ، وأظهرت هذه النتائج أن الكريم ذو الأساس الزيت الضرو يمكن أن يحسن التئام الجروح في نموذج لحروق الجلد العميقة من الدرجة الثانية و هذا يدعم استخدامه الصيدلاني.

**الكلمات المفتاحية :** نبات الضرو ، زيت شجرة الضرو ، حروق الجلد، كريم اساسه زيت الضرو.