

République Algérienne Démocratique et Populaire

Université Abdelhamid Ibn  
Badis-Mostaganem  
Faculté des Sciences de la  
Nature et de la Vie



جامعة عبد الحميد بن باديس  
مستغانم  
كلية علوم الطبيعة والحياة

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

## MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par

Mr. TAYEB PACHA Mustapha

Mr. HASSEN Amine Abdellah

Pour l'obtention du diplôme de

### MASTER EN BIOLOGIE

Spécialité : **Pharmaco-Toxicologie**

THEME

Effet cicatrisant d'une pommade à base d'extrait de *Cordyceps  
militaris*

« Etude expérimentale chez les rats »

Soutenue publiquement le ...../...../2021

DEVANT LE JURY

Présidente	M <sup>me</sup> MISSOUN Fatiha	MCA	U. Mostaganem
Examinatrice	M <sup>me</sup> KRIBI Soraya	MCB	U. Mostaganem
Encadreur	M <sup>me</sup> AMARI Nesrine Ouda	MCA	U. Mostaganem

Année universitaire : 2020-2021

## **Remerciements**

*Tout d'abord, nous remercions le dieu, notre créateur de nos avoir donné la force, la volonté et le courage afin d'accomplir ce travail. La réalisation de ce mémoire a été possible grâce au concours de plusieurs personnes à qui on voudrait témoigner toute notre reconnaissance.*

*Nos vifs remerciements à tous les membres du jury ainsi qu'à Mme « Missoun Fatiha », maitre de conférences au département de Biologie de l'université de Mostaganem d'avoir accepté d'assurer la présidence du jury et pour ses conseils et sa gentillesse, et Mme « Kribi Soraya » maitre de conférences au département de Biologie de l'université de Mostaganem d'avoir bien voulu nous honorer de sa présence et examiner notre travail.*

*Nous tenons également à présenter nos remerciements les plus distingués à notre encadreur Mme « Amari Nesrine Ouda » maitre de conférences au département de Biologie de l'université de Mostaganem pour son soutien, ses conseils qui ont été précieux et nous ont permis de mener à bien notre travail. Nous tenons aussi à remercier vivement nos enseignants pour leur soutien inestimable.*

*Nous tenons également à présenter nos remerciements les plus distingués à notre chef de parcours et directeur de laboratoire de pharmacognosy & API- phytothérapie monsieur « Djebli Noureddine » professeur au département de biologie de l'université de Mostaganem, et lui témoigner notre gratitude pour sa patience, son soutien, et surtout ses judicieux conseils.*

*Nos remerciements s'adressant aussi à tous les techniciens du laboratoire.*

*Nos sentiments de profonde gratitude vont à nos professeurs qui nous ont enseigné durant tous nos études. Enfin, nous tenons à remercier toutes les personnes ayant participé de près ou de loin à l'exécution de ce modeste travail. A tous ceux qui nous ont initiés aux valeurs authentiques, en signe d'un profond respect*

## ***Dédicaces***

*A mes plus chers au monde, à mes parents.*

*A mon père, grâce à ton soutien, tes conseils, tes orientations, ton aide et tes prières que je suis là. Espérant que je suis à la hauteur de tes pensées. Que dieu te donne de la santé et te protège pour nous.*

*A ma mère, grâce à ton amour, tes inquiétudes, tes sacrifices, tes encouragements, et tes prières que j'arrive là. Espérant que tu es satisfaite de ton fils. Que dieu te donne de la santé et te garde pour nous.*

*A mon frère « Nouredine », tu es mon bras droit. Je ne te souhaite que du succès et du bonheur. Que dieu te protège pour nous.*

*A ma petite sœur « Chifae ». Tu es mon bâton. Je te souhaite la réussite dans ton parcours. Que dieu te protège pour nous.*

*A Mme AMARI Nesrine qui doit voir dans ce travail la fierté d'un savoir bien acquis.*

*À mon collègue et mon binôme « Amine » pour tout le moment de stress et de fatigue que j'ai partagés avec toi.*

*A mes partenaires au cours de ce travail « Manel, Wafa », pour l'ambiance conviviale que nous avons vécue tout le long du travail. Que dieu vous donne ce que vous souhaitez.*

*A mes Amis, merci pour votre aide. Je vous souhaite la réussite dans vos parcours académiques, professionnels et personnels.*

*A ma grande famille, du bébé jusqu'aux grands-parents, merci pour votre aide et votre amour. Que dieu vous protège.*

***Tayeb pacha Mustapha***

## ***Dédicaces***

*A ma chère mère la source de joie, nul mot ne parviendra jamais à exprimer tout l'amour que je te porte. J'espère que je réalise aujourd'hui un de tes rêves. Qu'ALLAH te bénisse et t'alloue bonne santé, bonheur et longue vie afin que je puisse à mon tour te combler.*

*A ma chère grande mère Naanaa que je l'aime beaucoup et qui m'encourage toujours, que dieu te garde pour moi.*

*A mon petit frère malik que j'aime trop. Je ne te souhaite que du succès et du bonheur. Que dieu te protège pour nous.*

*À mes oncles Nabil, Wahab et Réda, mes tantes Dounia, Fairouz et Dalila pour leur soutien et leur tendresse, sans oublier mes petits cousins et cousines (Adem, Amir, Imane, Noor, Dalia, Rania, Tania, Lydia, Cylia et Lamis) que dieu vous protège.*

*A Mme AMARI Nesrine qui doit voir dans ce travail la fierté d'un savoir bien acquis.*

*À mon collègue et mon binôme Mustapha pour tout le moment de stress et de fatigue que j'ai partagés avec toi.*

*A mes partenaires au cours de ce travail Manel et Wafaa pour l'ambiance conviviale que nous avons vécue tout le long du travail, que dieu vous donne ce que vous souhaitez.*

*À tous mes amis.*

*À toute personne qui a participé de près ou de loin, directement ou indirectement, à la réalisation de ce travail.*

*Enfin à la mémoire de mon père et grand-père bouguerra décédés, que dieu les a accueillis dans son vaste paradis.*

***Hassen Amine Abdellah***

## Table des matières

### Liste des figures

### Liste des tableaux

### Liste des abréviations

Introduction .....	1
--------------------	---

### Partie bibliographique

#### Chapitre I : Peau et cicatrisation

I.1. La peau .....	3
I.1.1. Les différentes couches de la peau .....	3
I.1.1.1. Epiderme .....	3
I.1.1.1.1. Population cellulaire de l'épiderme .....	4
I.1.1.1.1.1. Les kératinocytes .....	4
I.1.1.1.1.2. Les mélanocytes .....	4
I.1.1.1.1.3. Les cellules de Langerhans .....	5
I.1.1.1.1.4. Les cellules de Merkel .....	5
I.1.1.1.1.5. Organisation de l'épiderme .....	6
I.1.1.2. Le derme .....	7
I.1.1.2.1. Matrice extracellulaire .....	8
I.1.1.2.1.1. Composition de la matrice extracellulaire .....	8
I.1.1.3. Hypoderme .....	8
I.1.1.4. Les annexes cutanées .....	9
I.1.1.4.1. Follicules pileux et poils .....	10
I.1.1.4.2. Glandes sébacées .....	10
I.1.1.4.3. Glandes sudoripares ou sudorales .....	11
I.2. Cicatrisation .....	12
I.2.2. Cicatrisation des plaies .....	12
I.2.3. Description des processus fondamentaux de la cicatrisation .....	13
I.2.2.1. Processus fondamentaux de la cicatrisation .....	14

I.2.2.1.1.1. Phase vasculaire .....	15
I.2.2.1.1.2. Phase de détersion cellulaire .....	15
I.2.2.1.2. Phase proliférative .....	16
I.2.2.1.2.1. Formation du tissu de granulation .....	16
I.2.2.1.2.2. Contraction de la plaie .....	17
I.2.2.1.2.3. Épithélialisation ou épidermisation .....	17
I.2.2.1.2.4. Processus de maturation .....	18
I.2.2.1.3. Phase de remodelage .....	18
I.2.2.2. Les facteurs influençant la cicatrisation .....	18
I.2.2.2.1. Facteur infectieux retardant la cicatrisation .....	19
I.2.2.2.2. Facteurs non infectieux retardant la cicatrisation .....	20

## **Chapitre II : Phytothérapie**

II.1. Généralité .....	21
II.1.1. La phytothérapie traditionnelle .....	21
II.1.2. La phytothérapie clinique .....	21
II.2. Principe de la phytothérapie .....	22
II.3. Intérêt de la phytothérapie .....	22
II.4. Différents types de la phytothérapie .....	22
II.4.1. Aromathérapie .....	22
II.4.2. Gemmothérapie .....	22
II.4.3. Herboristerie .....	22
II.4.4. Homéopathie .....	23
II.4.5. Phytothérapie pharmaceutique .....	23
II.5. Les plantes médicinales .....	23
II.6. De la plante au médicament .....	23
II.7. Les différentes formes galéniques .....	23
II.8. Formes galéniques administrées par voie cutanée .....	24
II.9. Principaux types de préparations semi-solides pour application cutanée .....	24
II.9.1. Les pommades .....	24
II.9.2. Les pâtes .....	24
II.9.3. Les gels .....	25

II.9.4. Les crèmes .....	25
II.10. La phytothérapie pour soigner et cicatriser les plaies .....	25
II.11. Plantes à activité cicatrisantes .....	25

### **Chapitre III : *Cordyceps militaris***

III.1. Généralité .....	29
III.2. Description .....	29
III.3. Information sur la culture .....	30
III.3. Type de culture .....	30
III.3.1.2. Pré-culture (culture en pente et sur plaque) .....	30
III.3.1.3. Culture populaire/indigène .....	30
III.3.1.3.1. Production de frai .....	30
III.3.1.3.2. Culture de riz décortiqué .....	30
III.3.1.3.3. Culture de sciure de bois .....	31
III.3.1.4. Culture spéciale/culture de laboratoire .....	31
III.3.1.4.1. Culture par agitation .....	31
III.3.1.4.2. La culture submergée .....	31
III.3.1.4.3. Culture liquide de surface .....	31
III.3.2. Milieux de culture .....	32
III.3. Classification .....	32
III.4. Origine de <i>Cordyceps militaris</i> .....	33
III.5. Composants chimiques .....	33
III.6. La substances actives dans <i>C. militaris</i> .....	35
III.7. Activités biologiques de <i>C. militaris</i> .....	36
III.8. Utilisations médicinales/applications cliniques de <i>C. militaris</i> .....	38

### **Partie expérimentale**

#### **Chapitre I : Matériels et méthodes**

I. Matériels et méthodes .....	39
I.1. Matériels .....	39
I.1.1. Matériel biologique .....	39
I.1.1.1. Matériel animal .....	39

I.1.1.1.1. Répartition et traitement des animaux .....	40
I.1.1.2. Matériel végétal .....	40
I.2. Méthode .....	41
I.2.1. Test de toxicité aigüe .....	41
I.2.2.1. Paramètres biochimiques mesurés .....	42
I.2.2.1.1. Méthode de dosage .....	42
I.2.2.1.2. Test de FNS .....	43
I.2.3. Formulation de la pommade .....	43
I.2.3.1. Préparation de la crème de base .....	43
I.2.3.2. Préparation de la pommade 5% et 10% de l'extrait .....	43
I.2.3.3. Test d'irritation cutanée .....	44
I.2.4. Induction de plaies par excision .....	45
I.2.5. Evaluation de la cicatrisation .....	45
I.2.6.1. Etude planimétrique avec mesure de la surface des plaies .....	46
I.2.6.2. Etude histologique des biopsies cutanées .....	46
I.2.6.2.1. Macroscopie .....	46
I.2.6.2.2. Déshydratation .....	47
I.2.6.2.3. Substitution .....	47
I.2.6.2.4. Imprégnation .....	47
I.2.6.2.5. Inclusion et enrobage .....	47
I.2.6.2.6. Coupe .....	47
I.2.6.2.7. Déparaffinage .....	47
I.2.6.2.8. Réhydratation .....	47
I.2.6.2.9. Coloration .....	48
I.2.6.2.10. Montage .....	48
I.2.6.2.11. Lecture microscopique .....	48
I.2.7. Analyse statistique des résultats .....	48

## **Chapitre II : Résultats et discussion**

II.1. Résultats .....	50
II.1.1. Test de toxicité .....	50

II.1.1.1. Paramètres biochimiques mesurés de l'extrait aqueux de <i>C. militaris</i> .....	50
II.1.1.1.1. TGP et TGO .....	51
II.1.1.1.2. Créatinine .....	51
II.1.1.1.3. Urée sanguine .....	52
II.1.1.1.4. FNS .....	53
II.1.1.2 Résultats de l'étude histologique des organes .....	55
II.1.2. Test d'irritation de l'extrait de <i>C. militaris</i> .....	59
II.1.3. Evaluation de la cicatrisation des plaies traitées avec différentes pommades .....	59
II.1.3.1 Etude planimétrique avec mesure de la surface des plaies traités avec différentes pommades .....	62
II.1.3.2. Effets de la Pommades sur les plaies par excision .....	63
II.1.3.3. Etude histologique des biopsies cutanées des rats traités avec différentes pommades .....	65
II.2. Discussion .....	68

### **Chapitre III : Conclusion**

II.3. Conclusion et perspectives.....	74
---------------------------------------	----

### **Références bibliographiques**

### **Annexes**

## *Liste des figures*

<b>Figure 1</b> : Représentation schématique de la peau .....	3
<b>Figure 2</b> : Les différentes cellules de l'épiderme .....	4
<b>Figure 3</b> : Couches cellulaires de l'épiderme .....	6
<b>Figure 4</b> : Représentation schématique et coupe histologique du tissu adipeux sous-cutané montrant des adipocytes .....	9
<b>Figure 5</b> : Les annexes cutanées .....	10
<b>Figure 6</b> : Le follicule pilo-sébacé .....	11
<b>Figure 7</b> : Glande sudoripare eccrine .....	12
<b>Figure 8</b> : Ordre séquentiel des phases de la cicatrisation adaptée .....	13
<b>Figure 9</b> : Phase inflammatoire .....	15
<b>Figure 10</b> : Phase proliférative .....	17
<b>Figure 11</b> : Les différentes formes galéniques en phytothérapie .....	24
<b>Figure 12</b> : Aspect morphologique de <i>Cordyceps militaris</i> .....	29
<b>Figure 13</b> : <i>Cordyceps militaris</i> naturel <b>A</b> et cultivé <b>B</b> .....	30
<b>Figure 14</b> : les structures des composés .....	36
<b>Figure 15</b> : Placement des rats dans des cages .....	40
<b>Figure 16</b> : Extrait de Sk gold (mushroom) .....	41
<b>Figure 17</b> : Conditionnement de la pommade à base d'extrait de <i>C. militaris</i> 5% et 10 % .....	44
<b>Figure 18</b> : Histogrammes de TGO et TGP des souris témoins et traités avec <i>C. militaris</i> .....	51
<b>Figure 19</b> : Histogrammes de la créatinine sérique des souris témoins et traités avec <i>C. militaris</i> ...	52
<b>Figure 20</b> : Histogrammes de l'urée sanguine des souris témoins et traités avec <i>C. militaris</i> .....	53
<b>Figure 21</b> : Résultats de FNS des souris témoins et souris traités avec <i>C. militaris</i> .....	54
<b>Figure 22</b> : Observation microscopique d'une coupe histologique des cerveaux des souris témoins et souris traités avec l'extrait de <i>C. militaris</i> .....	56
<b>Figure 23</b> : Observation microscopique d'une coupe histologique des foies de souris témoins et souris traités avec l'extrait de <i>C. militaris</i> .....	57
<b>Figure 24</b> : Observation microscopique d'une coupe histologique des reins de souris témoins et souris traités avec l'extrait de <i>C. militaris</i> .....	58
<b>Figure 25</b> : Effets d'extraits sur la vitesse de contraction des surfaces des plaies dans le temps .....	63
<b>Figure 26</b> : Chronologie de contraction des plaies .....	64
<b>Figure 27</b> : Observation microscopique d'une coupe histologique des rats traités avec différentes pommades .....	67

---

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1</b> : Phases de la cicatrisation des plaies .....	14
<b>Tableau 2</b> : Plantes à activité cicatrisante .....	26
<b>Tableau 3</b> : Classification botanique de l'espèce étudiée <i>C. militaris</i> .....	33
<b>Tableau 4</b> : La composition chimique de <i>C. militaris</i> .....	35
<b>Tableau 5</b> : La composition de <i>C. militaris mycélium</i> .....	35
<b>Tableau 6</b> : Les activités biologiques de <i>C. militaris</i> .....	37
<b>Tableau 7</b> : Répartition et traitement des plaies induites par excision chez les rats .....	40
<b>Tableau 8</b> : Les ingrédients pour préparer la crème de base .....	43
<b>Tableau 9</b> : Evaluation du potentiel d'irritation cutanée de la crème à base d'extrait aqueux de <i>C. militaris</i> (Formation d'érythème et d'escarre) .....	44
<b>Tableau 10</b> : Evaluation du potentiel d'irritation cutanée de la crème à base d'extrait aqueux de <i>C. militaris</i> (Formation d'œdème) .....	45
<b>Tableau 11</b> : Paramètres d'évaluation de la cicatrisation .....	46
<b>Tableau 12</b> : Les signes cliniques de test de toxicité à la dose de 5000mg/Kg PC de l'extrait aqueux de <i>C. militaris</i> .....	50
<b>Tableau 13</b> : Résultats de TGP et TGO des souris témoins et traités avec <i>C. militaris</i> .....	51
<b>Tableau 14</b> : Concentration de la créatinine sérique des souris témoins et traités avec <i>C. militaris</i> .....	51
<b>Tableau 15</b> : Concentration de l'urée sanguine des souris témoins et traités avec <i>C. militaris</i> .....	52
<b>Tableau 16</b> : Résultats de FNS des souris témoins et traités avec <i>C. militaris</i> .....	53
<b>Tableau 17</b> : Effets des pommades sur les paramètres des plaies en fonction des scores .....	60

## Liste des abréviations

- **C. *militaris*** : *Cordyceps militaris*.
- **CMH** : Complexe majeur d'histocompatibilité.
- **CM** : Cellules de Merkel.
- **JDE** : Jonction dermo- épidermique.
- **MEC** : Matrice extracellulaire.
- **GAGs** : Glycosaminoglycanes.
- **PDGF** : Platelet-Derived Growth Factor.
- **TGF- $\beta$**  : Transforming growth factor beta.
- **LTB4** : Leucotriène B4.
- **PDA** : Potato dextrose agar.
- **HPLC** : chromatographie en phase liquide haute performance.
- **KDa** : Kilodalton.
- **FNS** : Formule de numération sanguine.
- **TGO** : Transaminase Glutamo-oxaloacétique.
- **TGP** : Transaminase Glutamo-Pyruvique.
- **GLDH** : Glutamate déshydrogénase.
- **GB** : Globules blancs.
- **GR** : Globules rouges.
- **Hb** : Hémoglobine.
- **Hte** : Hématocrites.
- **PLT** : Plaquettes.

## ***Résumé***

Le *Cordyceps* est l'un des champignons médicaux importants dans les pays asiatiques, en raison de ses divers effets bénéfiques sur la santé humaine. Les activités pharmacologiques de l'extrait de *Cordyceps* sont principalement axées sur les effets anticancéreux, antimétastatiques et de modulation immunitaire. Une étude *in vivo* a été effectuée chez les rats afin de démontrer expérimentalement la toxicité aigüe et l'activité cicatrisante de l'extrait aqueux de *Cordyceps militaris*. La toxicité aigüe a été évaluée sur les souris Swiss albinos à la dose unique de 5000 mg/Kg de poids corporel. De plus, des analyses biochimiques visant à étudier les principaux effets toxiques sur les tissus et en particulier sur le cerveau, le foie et les reins effectuées sur les échantillons de sang prélevés sur tous les animaux juste avant le sacrifice. Ainsi, le cerveau, le foie et les reins ont été prélevés après le sacrifice pour des observations microscopiques et des analyses histologiques. Avant de commencer l'application topique, une formulation de la pommade de *C. militaris* a été appliquée sur la peau des rats pour le test d'irritation de la peau. Des plaies ouvertes par excision de 2 cm<sup>2</sup> de diamètre ont été créées au-dessus de la colonne vertébrale. Tous les produits ont été appliqués par voie topique sous forme de pommade. Les paramètres étudiés ont été les surfaces des plaies en utilisant la méthode de la planimétrie directe ainsi que la vitesse de la contraction de la plaie. L'application de la pommade a été effectuée tous les jours et les mesures ont été prises tous les 3 jours pendant 21 jours. Les résultats montrent que l'extrait aqueux de *C. militaris* n'induit aucun effet toxique et aucun signe de mortalité ou coma. Aussi, les examens histopathologiques des organes n'ont pas révélé de changements pathologiques négatifs par rapport aux organes de témoin. La pommade de *C. militaris* appliquée sur la peau n'a montré aucun signe d'inflammation (érythème ou œdème) sur le dos des rats. Les résultats de l'activité cicatrisante ont exhibé une guérison observée après 21 jours de traitement, un pourcentage d'inhibition 97,86% et 98,68%, pour *C. militaris* 5% et 10% respectivement, 97,28% pour Madécassol, 82,07% pour groupe placebo, 78,14% pour groupe témoin. Cependant, l'effet a montré une activité statistiquement significative par rapport au témoin. Eventuellement, les résultats obtenus de l'application de la pommade de *C. militaris* montrent que cet extrait accélère la cicatrisation. Il se pourrait qu'il exerce son activité accélérant l'hémostase, en diminuant la phase inflammatoire, ce qui favorise l'accélération de la phase de ré-épithélisation. L'étude histopathologie portée sur le tissu cutané des rats confirme l'effet cicatrisant de l'extrait aqueux de *C. militaris*.

**Mots clés :** Activité cicatrisante, *Cordyceps militaris*, *in vivo*, Madécassol, toxicité aigüe, rats, pommade

## ***Abstract***

*Cordyceps* is one of the important medical mushrooms in Asian countries, due to its various beneficial effects on human health. The pharmacological activities of *Cordyceps* extract are mainly focused on anticancer, antimetastatic and immune modulating effects. An *in vivo* study was performed in rats to experimentally demonstrate the acute toxicity and wound healing activity of *Cordyceps militaris* aqueous extract. Acute toxicity was evaluated in Swiss albino mice at a single dose of 5000 mg/Kg body weight. In addition, biochemical analyses to investigate the main toxic effects on tissues and in particular on the liver and kidneys were performed on blood samples taken from all animals just before sacrifice. Thus, the brain, liver and kidneys were collected after sacrifice for microscopic observations and histological analyses. Before starting topical application, a formulation of *Cordyceps militaris* ointment was applied to the skin of rats for skin irritation test. Open excision wounds of 2 cm<sup>2</sup> in diameter were created above the spine. All products were applied topically as an ointment. The parameters studied were the wound surfaces using the direct planimetry method as well as the speed of wound contraction. The application of the cream was performed every day and measurements were taken every 3 days for 21 days. The results show that the aqueous extract of *Cordyceps militaris* does not induce any toxic effects and no signs of mortality or coma. Also, histopathological examinations of the organs did not reveal any negative pathological changes compared to the control organs. *Cordyceps militaris* ointment applied to the skin showed no signs of inflammation (erythema or edema) on the back of the rats. The results of the healing activity showed a healing observed after 21 days of treatment, a percentage of inhibition 97.86% and 98.68%, for *Cordyceps militaris* 5% and 10% respectively, 97.28% for Madecassol, 82.07% for placebo group, 78.14% for control group. However, the effect showed statistically significant activity compared to the control. Eventually, the results obtained from the application of *C. militaris* cream show that this extract accelerates healing. It could be that it exerts its activity accelerating the hemostasis, decreasing the inflammatory phase, which favors the acceleration of the re-epithetization phase. The histopathology study on the skin tissue of rats confirms the healing effect of the aqueous extract of *Cordyceps militaris*.

**Keywords** : Healing activity, *Cordyceps militaris*, *in vivo*, Madecassol, acute toxicity, rats, ointment

## ملخص

يعتبر *Cordyceps* من الفطريات الطبية المهمة في الدول الآسيوية، لما له من آثار مفيدة متنوعة على صحة الإنسان. تركز الأنشطة الدوائية لمستخلص *Cordyceps* بشكل أساسي على التأثيرات المضادة للسرطان ومضادات التكتيف والمناعة. تم إجراء دراسة في الجسم الحي على الفئران لإثبات السمية الحادة ونشاط التنام الجروح بشكل تجريبي للمستخلص المائي من *Cordyceps, militaris*. تم تقييم السمية الحادة على الفئران البيضاء السويسرية بجرعة وحيدة مقدارها 5000 مجم / كجم من وزن الجسم. بالإضافة إلى ذلك، هدفت التحاليل الكيميائية الحيوية إلى دراسة التأثيرات السامة الرئيسية على الأنسجة وخاصة على الدماغ والكبد والكليتين على عينات الدم المأخوذة من جميع الحيوانات قبل التضحية مباشرة. وهكذا تمت إزالة المخ والكبد والكلية بعد التضحية من أجل الملاحظات الميكروسكوبية والتحليلات النسيجية. قبل البدء في التطبيق الموضوعي، تم وضع مستحضر من مرهم *C. Militaris* على جلد الفئران لاختبار تهيج الجلد. تم إنشاء جروح مفتوحة بقطر 2 سم فوق العمود الفقري. تم تطبيق جميع المنتجات موضعياً كمرهم. كانت المعلومات المدروسة عبارة عن أسطح جرح باستخدام طريقة القياس المباشر وكذلك معدل تقلص الجرح. تم تطبيق المرهم يومياً وأخذت القياسات كل 3 أيام لمدة 21 يوماً. أوضحت النتائج أن المستخلص المائي *C. Militaris* لا يسبب أي آثار سامة ولا علامات على الوفاة أو الغيبوبة. كما أن الفحوصات النسيجية المرضية للأعضاء لم تكشف عن أي تغيرات مرضية سلبية مقارنة بأعضاء التحكم. لم تظهر أي علامات التهاب (حمامي أو وذمة) على ظهور الفئران. أظهرت نتائج نشاط الشفاء الملحوظ بعد 21 يوماً من العلاج، بنسبة تثبيط 97.86%. و98.68%، ل *C. Militaris* 5% و10% على التوالي، 97.28% لماديكاسول، 82.07% لمجموعة الدواء الوهمي، 78.14% للمجموعة الشاهدة. وقد أظهر التأثير فعالية ذات دلالة إحصائية مقارنة بالمجموعة الضابطة. في النهاية، تظهر النتائج التي تم الحصول عليها من تطبيق مرهم *C. Militaris* أن هذا المستخلص يسرع الشفاء. يمكن أن يكون أنه يمارس نشاطه في تسريع الإرقاء، عن طريق تقليل المرحلة الالتهابية، مما يفضي إلى تسريع مرحلة إعادة التلقيح. أكدت دراسة التشريح المرضي التي أجريت على أنسجة جلد الفئران التأثير العلاجي للمستخلص المائي ل *C. Militaris*.

**كلمات مفتاحية:** نشاط الشفاء، *Cordyceps, militaris*، في الجسم الحي، ماديكاسول، سمية حادة، فئران، مرهم.

# **INTRODUCTION**

## Introduction

Les plaies sont le Résultat de blessures physiques, qui entraînent une rupture ou une ouverture de la peau. Afin de restaurer l'état fonctionnel perturbé de la peau, une cicatrisation correcte de la plaie est cruciale. La cicatrisation des plaies est un processus complexe qui, selon la gravité de la plaie, implique une cascade hautement coordonnée de réactions immunologiques et cellulaires sur une période de temps donnée. Ce processus nécessite des cellules sanguines, composants de la matrice extracellulaire (MEC), des cellules résidentes et des médiateurs solubles, qui contribuent à restaurer l'intégrité des tissus (**Makrantonaki et al., 2017; Amadeu et al., 2003**).

Le processus de cicatrisation peut être Catégorisé en trois étapes ; la première étape est la phase inflammatoire, Qui consiste en l'établissement de l'homéostasie et de l'inflammation. La deuxième étape est la phase proliférative, qui comprend la granulation, La contraction et l'épithélialisation. Enfin, la troisième étape est la phase de remodelage. Au cours de laquelle la force et l'apparence du tissu cicatrisé sont déterminées (**Belachew et al., 2020**).

La recherche de nouveaux composés efficaces qui améliorent la cicatrisation des plaies est un nouvel intérêt dans les sciences biomédicales modernes. De nos jours, de nombreux chercheurs s'intéressent à la phytothérapie en raison de la capacité de diverses plantes à guérir les plaies par le biais d'un processus de guérison, par des voies de réparation naturelles. Plus de 70 % des produits pharmaceutiques destinés Pour la cicatrisation des plaies dépendent principalement des plantes, mais seulement 20 % de ces produits dépendent de composés minéraux (**Elkhateeb et al., 2019; Lindequist et al., 2005**).

L'étude de l'effet des champignons sur la cicatrisation des plaies est cruciale. En outre, les résultats dépendent principalement du type de champignon, de sa souche, de la composition du milieu de culture pour le champignon, de la Partie du champignon utilisée dans l'étude (spores, mycéliums, corps fructifères), ainsi que les méthodes de production de ses principes actifs (le milieu de suspension, l'extractant) (**Kumarasamyraja et al., 2012; Lindequist et al., 2005**).

Parmi de nombreuses espèces de champignons ont été utilisées il y a longtemps dans les médecines traditionnelles. Le Genre *Cordyceps*, nom donné aux champignons sur les insectes et son existence est connue depuis 2000 avant J.-C. Le Champignon médicinal (espèce *Cordyceps*) est une source abondante de produits naturels utiles ayant diverses activités biologiques (**Gu et al., 2007**). L'un des plus importants médicaments traditionnels

chinois, qui appartient à la classe des Ascomycètes. Il a été Largement utilisé comme médicament brut et comme aliment tonique populaire en Asie orientale (**Ying et al., 1987**). Il contient de nombreux types de composants actifs (comme La cordycépine, les polysaccharides, l'ergostérol, le mannitol, etc.). En raison de ses diverses activités physiologiques, il est maintenant utilisé à de multiples fins médicinales (**Mizuno et al., 1999; Nag et al., 2005**).

Le présent travail s'inscrit dans l'objectif d'évaluer l'effet cicatrisant d'une crème à base de champignon *C. militaris* dans un modèle de plaie expérimentales chez le rat de souche Wistar.

Notre mémoire de fin d'études est divisée en deux parties :

- Partie théorique est développé en trois chapitres : le premier commençant par une définition de la peau et ses composants, puis mentionné les blessures et les brûlures qui l'affligent et en fin proposé une forme pharmaceutique (pommade et gel) pour traiter et enlever les cicatrices de la peau. Le deuxième chapitre est consacré à une étude bibliographique sur la phytothérapie. Par contre, Le troisième rassemble des données bibliographiques sur le *C. militaris*.

- Partie expérimentale regroupe le matériel et les méthodes utilisées et les résultats obtenus à partir de l'extrait aqueux de *C. militaris*, suivie par une discussion.

Enfin, Ce travail a été complété par une conclusion générale donnant une synthèse des résultats obtenus et résumera l'essentiel du travail réalisé, Suivis des perspectives devant faire l'objet de travaux programmés.

**PARTIE**  
**BIBLIOGRAPHIQUE**

# **CHAPITRE I**

*PEAU ET*

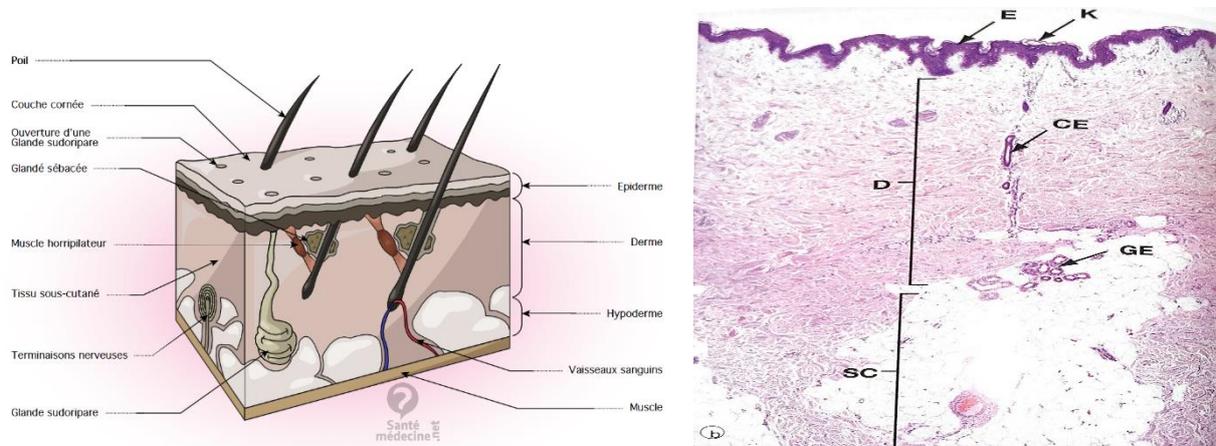
*CICATRISATION*

## I.1. La peau

La peau est un organe indispensable à la survie du corps humain, auquel elle assure notamment une protection vis-à-vis de l'environnement. Il est donc important qu'elle conserve ses propriétés physiologiques afin de ne pas affecter l'homéostasie corporelle. Cependant, son intégrité peut être altérée de différentes manières au cours de la vie (brûlure, coupure, déchirure...). Un processus de cicatrisation se met alors en place afin de combler la perte de tissu, permettant ainsi à la peau de retrouver son rôle barrière. L'enveloppe cutanée peut également être le siège de différents cancers épithéliaux plus ou moins invasifs. Une coopération semble s'établir entre les cellules cancéreuses et le stroma tumoral, ce qui renforce le caractère invasif de la tumeur. Le développement de nouvelles stratégies thérapeutiques dirigées contre le stroma tumoral pourrait donc constituer une alternative intéressante afin d'améliorer la prise en charge des patients atteints par des cancers cutanés particulièrement envahissants (Pierrick, 2016).

### I.1.1. Les différentes couches de la peau

La peau est composée de trois compartiments distincts, l'épiderme, le derme et l'hypoderme (Fig. 1).



**Figure 1 :** Représentation schématique de la peau. **E:** Epiderme; **K:** Kératine; **D:** Derme; **SC:** Tissu sous-cutané; **GE:** Glandes eccrines; **CE:** Les canaux (Pierrick, 2016; Stevens et al., 2008).

#### I.1.1.1. Epiderme

L'épiderme est la couche en contact direct avec l'environnement extérieur, elle protège l'organisme contre celui-ci. Elle empêche les agents pathogènes d'envahir l'organisme et maintient l'eau et les nutriments en son sein. Elle a une épaisseur moyenne de 100  $\mu\text{m}$ , mais celle-ci peut varier considérablement selon la région du corps (Kanitakis, 2002).

L'épiderme est un épithélium pavimenteux stratifié kératinisé constitué de cellules vivantes : les kératinocytes ainsi que des mélanocytes, cellules de Langerhans et de Merkel (Fig. 2) (Girotti, 2006).

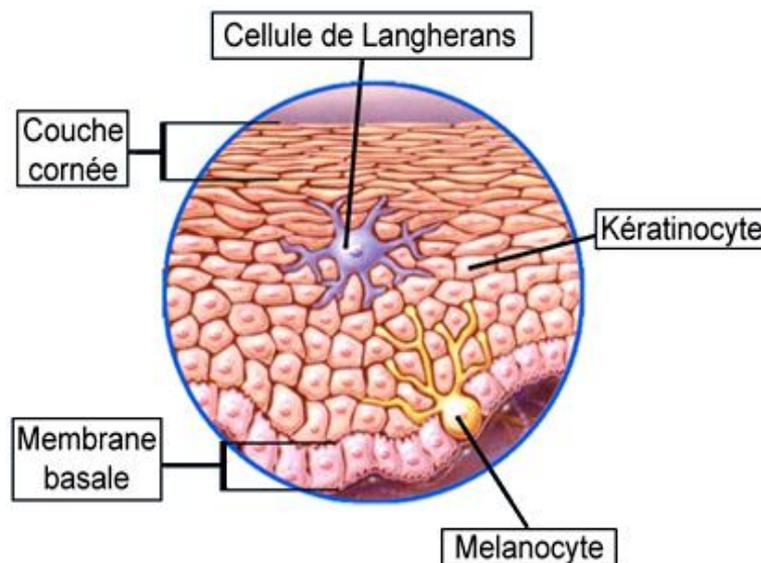


Figure 2 : Les différentes cellules de l'épiderme (Redon-Clauzard, 2003).

#### I.1.1.1.1. Population cellulaire de l'épiderme

##### I.1.1.1.1.1. Les kératinocytes

Les kératinocytes représentent 80 % des cellules épithéliales. Synthétisés au niveau de la couche basale, se différenciant au fil de leur diffusion et en s'éloignant de la jonction dermo-épidermique. Les kératinocytes se transforment en kératine, et sont responsables de la résistance du tissu. Au niveau de la couche cornée, les kératinocytes morts appelés cornéocytes, sont éliminés par desquamation caractérisée par un cytoplasme rempli de tonofilaments et un feuillet interne épaissi. Leur renouvellement est assuré par l'activité permanente de la couche basale (Tsatmali, 2002).

##### I.1.1.1.1.2. Les mélanocytes

Les mélanocytes constituent 5 % des cellules totales de l'épiderme. Ils sont situés au niveau de la couche basale de l'épiderme et sont en contact avec les kératinocytes environnants grâce à de nombreuses dendrites.

La présence de mélanocytes dans l'épiderme et le follicule pileux résulte d'un phénomène de migration et de différenciation de certaines cellules de la crête neurale dérivée de l'ectoblaste au cours de l'embryogenèse. Le moment à partir duquel ces cellules de la crête

neurale s'engagent dans une voie de différenciation pigmentaire n'est pas connu avec précision. Les précurseurs des mélanocytes sont dénommés mélanoblastes, et atteindront leur stade final de différenciation dans l'épiderme. Une partie des mélanoblastes migre de l'épiderme vers les follicules pileux.

Les mélanocytes produisent la mélanine. Substance responsable de la couleur de la peau, son rôle est de protéger les tissus des effets du soleil. Ces pigments photo-protecteurs ont en effet la propriété d'absorber les rayonnements de 200 à 2000 nm (**Dréno, 2009**).

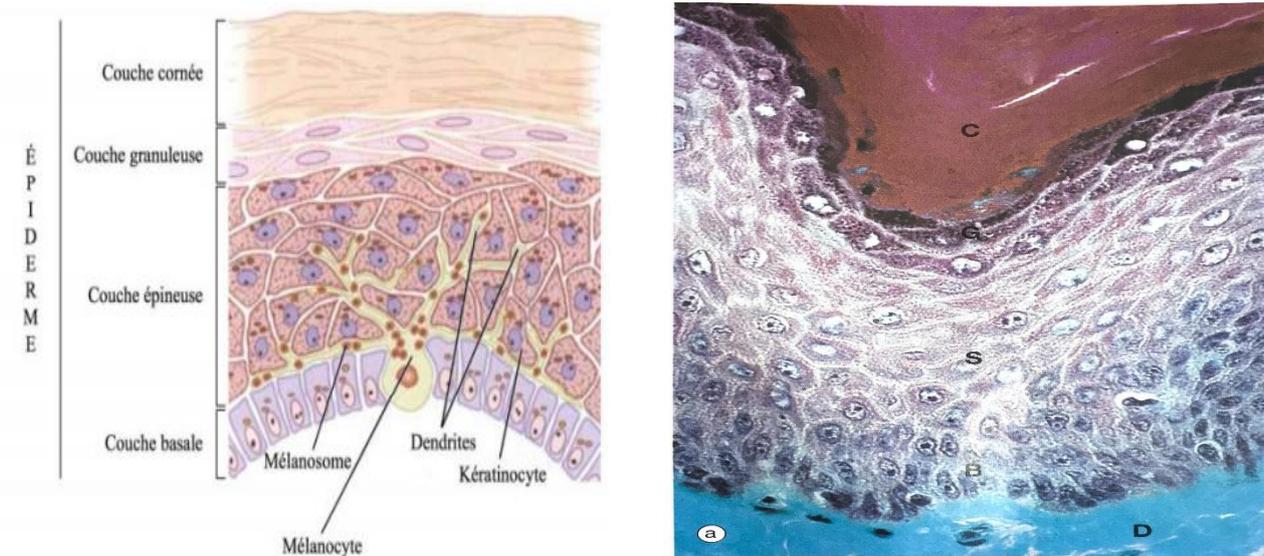
#### **I.1.1.1.1.3. Les cellules de Langerhans**

Les cellules de Langerhans appartiennent au groupe des cellules dendritiques présentatrices d'antigène au lymphocyte T. Produites au niveau des organes hématopoïétiques, elles migrent vers l'épiderme où elles sont considérées comme des cellules dendritiques. Le rôle des cellules de Langerhans est de capturer les antigènes, d'en assurer l'endocytose et de les réexprimer à leur surface avec les molécules de classe II du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) pour activer les lymphocytes T (**Dréno, 2009**).

#### **I.1.1.1.1.4. Les cellules de Merkel**

Au sein de l'épiderme, les cellules de Merkel (CM) sont des acteurs-clés du système neuro-endocrino-immuno-cutané. Elles envoient des prolongements dendritiques entre les kératinocytes et les cellules de Langerhans et peuvent former des synapses avec des neurones sensoriels, par ailleurs se sont des mécanorécepteurs à adaptation lente de type I responsables de la sensation tactile fine, celle du pianiste ou du lecteur de braille, par exemple ; elles détectent par leur microvillosités les déformations localisées, proches d'elles et libèrent des neuromédiateurs vers les fibres nerveuses voisines (**Maricich, 2009**).

### I.1.1.1.5. Organisation de l'épiderme



**Figure 3 :** Couches cellulaires de l'épiderme. **D:**Derme; **G:**Couches granuleuse; **B:**Couche basale; **S:**Couche des cellules à épines; **C:**Couche de kératine (Ackerman et al., 2006; Stevens et al., 2008).

On peut distinguer, de l'intérieur vers l'extérieur :

- la couche basale ou germinative = stratum germinativum
- la couche épineuse (corps muqueux de Malpighi) = stratum spinosum
- la couche granuleuse = stratum granulosum
- la couche cornée = stratum corneum (Matini, 2003).

#### ***Le stratum basali (membrane basale)***

Formée de l'ensemble des kératinocytes directement en contact avec la jonction dermo-épidermique (JDE) sur laquelle ils s'accrochent. Ils forment une seule assise de cellules cylindriques, relativement claires, au cytoplasme et au noyau allongés avec un grand axe perpendiculaire à la jonction dermo-épidermique (Venereol, 2005).

#### ***La couche épineuse (couche des acanthocytes, couche de Malpighi, Stratum spinosum)***

De forme polyédrique dans les couches profondes, les cellules de la couche spinocellulaire s'aplatissent progressivement vers les régions les plus superficielles. Les cellules sont connectées entre elles et à la couche basale par des desmosomes. Des tonofibrilles (filaments de cytokeratine) pénètrent dans les prolongements cytoplasmiques des kératinocytes et constituent le cytosquelette, assurant une certaine rigidité. Dans les couches supérieures, des granules font leur apparition dans le cytosol, marquant la transition avec la couche granuleuse (Kenneth et al., 2002).

### ***La couche granuleuse (stratum granulosum)***

De plus en plus aplaties, les cellules de la couche granuleuse voient progressivement disparaître leurs prolongements cytoplasmiques. Elles contiennent un grand nombre de granules intracytoplasmiques. On distingue deux types de granules. Les granules intracellulaires de keratohyaline et les keratinosomes. Les keratinosomes sont entourés d'une membrane d'origine golgienne et contiennent de nombreuses lamelles orientées parallèlement à leur surface. Ces granules, libérées par exocytose, sont supposées être les précurseurs des lamelles intercellulaires du stratum corneum. Des enzymes hydrolytiques y sont également associées et participent au processus de desquamation en déstructurant les desmosomes **(Kenneth et al., 2002)**.

### ***La couche cornée (stratum corneum)***

Formée de 5 à 10 assises de cornéocytes, cellules lamelleuses aux limites cytoplasmiques indistinctes qui desquament à la surface de la peau, assurant un rôle de barrière.

Ces différentes couches épidermiques sont intimement liées entre elles. La cohésion intercellulaire est renforcée par la présence de desmosomes dont le nombre augmente au cours de la différenciation. Le processus de kératinisation s'accompagne d'importantes modifications biochimiques telles que l'expression de nouvelles kératines acides et basiques et de nouvelles protéines de l'enveloppe des cornéocytes comme l'involucrine et la kératoline qui sont des marqueurs de la différenciation terminale **(Kenneth et al., 2002)**.

### **I.1.1.2. Le derme**

Le derme est le tissu conjonctif de soutien de la peau. Il assure les propriétés mécaniques nécessaires au maintien de l'intégrité cutanée, mais présente également des réseaux denses vasculaires et lymphatiques permettant l'apport de nutriments à l'épiderme. Il contient essentiellement des fibroblastes et une matrice extracellulaire (MEC) formée principalement de collagène et d'élastine **(Lugo et al., 2011)**.

Dans sa partie supérieure, le derme papillaire est en contact direct avec la JDE avec laquelle il forme des invaginations caractéristiques appelées "papilles dermiques". Il est composé d'une MEC lâche de collagène, de type I majoritairement, et possède une densité cellulaire élevée due à la présence de fibroblastes responsables de la Production et du remodelage de la MEC et de cellules immunitaires assurant la défense de l'organisme.

Le derme constitue aussi le siège d'implantation des annexes cutanées comme les glandes sébacées, les glandes sudoripares et les follicules pileux **(Mélissopoulos et al., 2012)**.

Le derme réticulaire, en profondeur, est formé de fibres plus épaisses de collagène de type I. Il est, de ce fait, plus dense et également moins cellularisé.

Véritable charpente de la peau, il est constitué de cellules fixes que sont les fibroblastes et de cellules mobiles que sont les cellules sanguines. À ces cellules s'associent des fibres de collagène, d'élastine et de réticuline. La cohésion de l'ensemble est assurée par la substance fondamentale constituée essentiellement de mucopolysaccharides et parmi eux l'acide hyaluronique identifiée par le bleu de toluidine. Au sein du derme se trouvent les vaisseaux qui s'arrêtent à la couche basale de l'épiderme, ce dernier ne contenant pas de vaisseaux, ce qui est important à savoir (**Dréno, 2009**).

C'est au niveau du derme que sont retrouvées les annexes cutanées telles que les bulbes pileux, les glandes sébacées et les glandes sudoripares (**Wong et al., 2016**).

#### **I.1.1.2.1. Matrice extracellulaire**

La matrice extracellulaire (MEC) est un réseau structuré et complexe de diverses macromolécules secrétées de nature protéique et glucidique et d'enzymes protéolytiques. La MEC lie entre elles des cellules homologues ou hétérologues et les organise en tissus (seuls les êtres unicellulaires n'ont pas de MEC). Elle fournit une charpente structurale et protectrice qui rend possible l'organisation et les propriétés physiques des tissus des êtres pluricellulaires. Elle régule la disponibilité de facteurs de croissance qui, en interagissant avec des récepteurs de la surface cellulaire, vont influencer l'activité des cellules permettant de gérer les événements développementaux et homéostatiques (**Ramirez et al., 2004; Huxley-Jones et al., 2008**).

##### **I.1.1.2.1.1. Composition de la matrice extracellulaire**

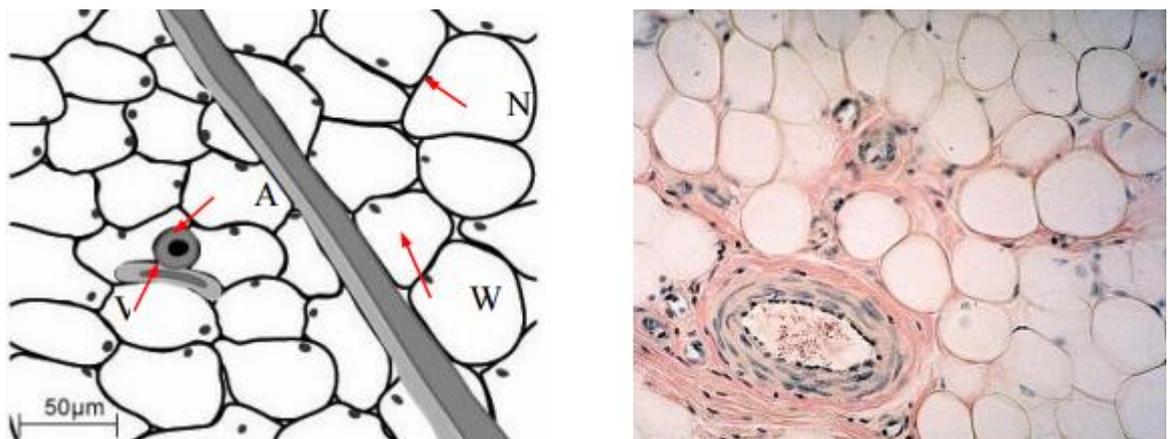
L'espace qui entoure les cellules, appelé espace extracellulaire, contient un ensemble de macromolécules, polysaccharides ou glycosaminoglycanes (GAGs), protéines fibreuses, sels et eau, que l'on désigne sous le nom de MEC. La MEC est présente à tous les niveaux de l'organisme, mais son abondance et sa composition varient selon les tissus : très abondante dans les tissus conjonctifs lâches, plus spécifique dans les tissus osseux et cartilagineux, très pauvre entre les cellules épithéliales (**Labat-Robert et al., 2005**).

#### **I.1.1.3. Hypoderme**

L'hypoderme qui constitue le compartiment le plus profond, permet d'ancrer la peau aux fascias des muscles et des os. Il s'agit d'un tissu conjonctif lâche contenant des lobules d'adipocytes mais également un réseau vasculaire très dense. Il a pour fonction de protéger des chocs, mais il est aussi impliqué dans la thermorégulation et le métabolisme énergétique *via* le stockage d'acides gras (**Alexander et al., 2015**).

L'hypoderme, appelé encore tissu sous-cutané, est situé sous le derme. Il est composé d'un tissu conjonctif lâche contenant des adipocytes et des fibres de collagène. Il comprend deux parties : une partie superficielle, le pannicule adipeux formé de lobules d'adipocytes, et une partie profonde ou couche fibreuse qui est reliée au derme par du tissu conjonctif dense, les ligaments cutanés. L'hypoderme est richement vascularisé. Cette propriété permet la capture rapide de médicaments injectés à son niveau. Il contient également des récepteurs sensitifs encapsulés, les corpuscules de Vater-Pacini (Gérard et al., 2016).

Il intervient dans le stockage et la libération des lipides. C'est un organe endocrinien qui synthétise et sécrète des adipokines, qui peuvent agir au niveau local ou par voie systémique et influencer tous les autres organes impliqués dans la physiologie. Mais il joue également un rôle fondamental dans la thermorégulation par le caractère isolant de la graisse. Il protège l'organisme des chocs. Ainsi, au niveau du talon, la graisse des lobules est semi-liquide et la division du pannicule adipeux réalise des chambres de pression hydraulique, absorbeur de pression (Fig. 4) (Gérard et al., 2016).

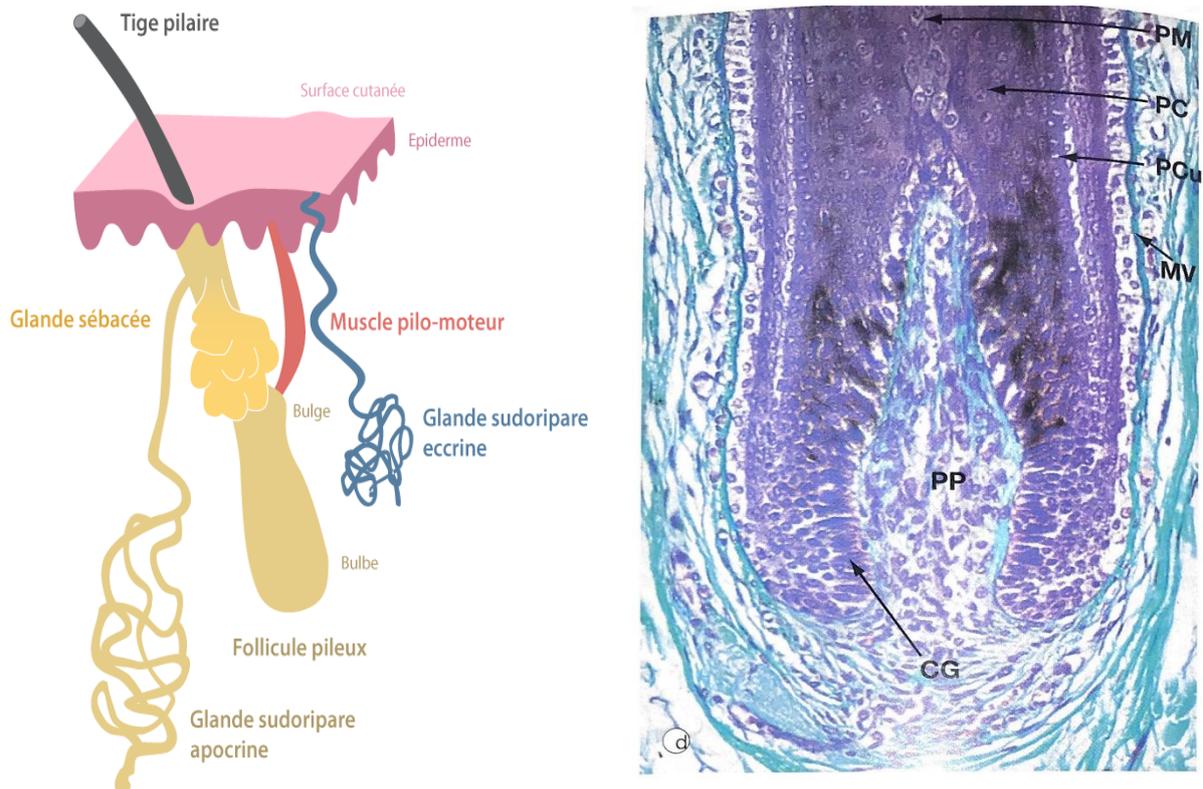


**Figure 4** : Représentation schématique et coupe histologique du tissu adipeux sous-cutané montrant des adipocytes. **W** avec un noyau **N** à la périphérie. Les adipocytes sont en contact avec la circulation sanguine via des artérioles (non visible ici) qui se ramifient à partir des artères les plus larges **A** et des veines **V** (Shen et al., 2005).

#### I.1.1.4. Les annexes cutanées

Les annexes cutanées regroupent les glandes cutanées qui sont les glandes sudoripares eccrines, les glandes sudoripares apocrines et les glandes sébacées (Dréno, 2009).

La formation des glandes annexées à la peau se fait grâce à une interaction épithélio-mésenchymateuse (Fig. 5) (Gérard et al., 2016).



**Figure 5 :** Les annexes cutanées. **PM:**Cellule prémédullaires; **PC:**Cellules précorticales; **PCu:**Cellules précorticales; **MV:**Membrane vitrée; **PP:** Papille du poil; **CG:**Cellules germinatives (Barry, 2001; Stevens *et al.*, 2008).

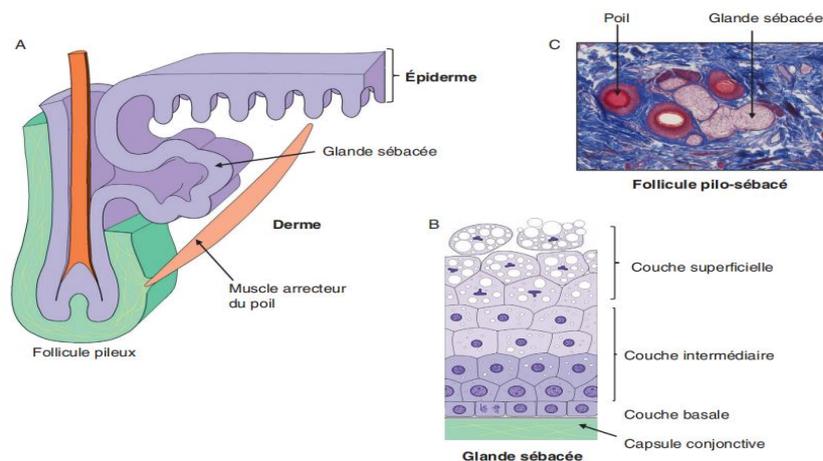
#### I.1.1.4.1. Follicules pileux et poils

Les poils sont des structures kératinisées qui dérivent d'invaginations des couches de l'épiderme. Le follicule pilo-sébacé comporte le poil et ses gaines, la glande sébacée et un muscle arrecteur (Gérard *et al.*, 2016).

#### I.1.1.4.2. Glandes sébacées

Les glandes sébacées sont annexées aux poils constituant ainsi le follicule pilosébacé (Dréno, 2009).

Dans la majorité des cas, les glandes sébacées sont en relation avec un follicule pileux et se forment à partir d'un bourgeon de la gaine épithéliale externe du follicule. Ce bourgeon s'enfonce et se ramifie dans le derme. Les glandes sébacées sont actives pendant la période foetale et participent à la formation du vernix caseosa protecteur qui recouvre le nouveau-né. Après la naissance, les glandes sébacées deviennent inactives et reprennent leur activité dans les deux sexes avec l'apparition des androgènes. Elles sécrètent alors le sébum. Dans certaines régions particulières comme le gland et les petites lèvres de la vulve, ces glandes se forment directement à partir des couches de l'épiderme (Fig. 6) (Gérard *et al.*, 2016).

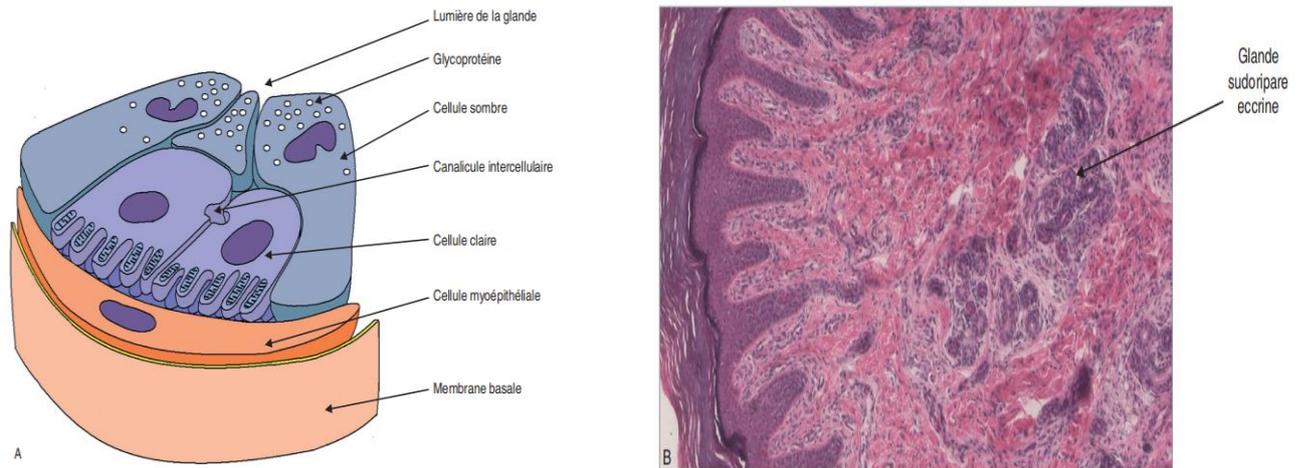


**Figure 6 :** Le follicule pilo-sébacé. **A:**Schéma d'un follicule pilo-sébacé. **B:**Schéma des couches de la glande sébacée. **C:**Coupe transversale d'un follicule pilo-sébacé (Schoëvaërt et Anne-Marie, 2016).

#### I.1.1.4.3. Glandes sudoripares ou sudorales

Les glandes sudoripares eccrines sont nombreuses, en moyenne 2 à 5 milliards chez l'homme. Elles élaborent un liquide aqueux, incolore et salé que l'on appelle la sueur. Ce sont de glandes exocrines avec un canal excréteur directement abouché à l'extérieur (Dréno, 2009).

Ces glandes cutanées dérivent de l'épiblaste. Ce sont des invaginations épidermiques qui s'enfoncent dans le derme sous-jacent. Elles apparaissent vers la 16ème semaine de développement et forment un bourgeon plein. Ce bourgeon se creuse progressivement et son extrémité distale se pelotonne pour former la partie sécrétrice de la glande. Des cellules myoépithéliales lui sont associées (Fig. 7) (Gérard et al., 2016).



**Figure 7 :** Glande sudoripare eccrine. A:Schéma d'une glande sudoripare ; B:Coupe transversale d'une glande sudoripare (Schoëvaërt et Anne-Marie, 2016).

## I.2. Cicatrisation

La cicatrisation, est un phénomène physiologique qui permet la restauration de l'intégrité de la peau après une lésion, en suivant plusieurs étapes dépendantes les unes des autres (Franz, 2007). Les principaux facteurs de ce processus sont : l'hémostase, l'inflammation, la prolifération cellulaire et le remodelage. Le temps de cicatrisation dépend de plusieurs facteurs intrinsèques comme la profondeur de la plaie, et des facteurs extrinsèques comme l'âge, l'état nutritionnel, infection associée, l'alitement et les comorbidités (Bagheri, 2018).

Un retard de cicatrisation peut survenir en cas de défaillance d'une ou plusieurs étapes de ce processus qui peut être d'origine métabolique, cardiovasculaire, infectieuse ou immunitaire, et ralentir de ce fait la cicatrisation de la plaie (Bagheri, 2018). Les plaies représentent un problème clinique lorsque la prise en charge est mal codifiée et ceci peut évoluer vers une infection sévère et une anomalie de cicatrisation (Boucher et al., 2017).

### I.2.2. Cicatrisation des plaies

Après une agression, la peau perd son intégrité, pour cela elle tente de se régénérer afin de continuer à protéger l'organisme. La recherche sur les plaies a permis de définir quatre processus ou étapes de réparation tissulaire (Moulin, 2001).

1. Hémostase
2. Inflammation
3. Prolifération (également appelée granulation et contraction)
4. Remodelage (également connu sous le nom de maturation)

Ces étapes de la cicatrisation sont interdépendantes, elles ne sont pas strictement séparées dans le temps mais se chevauchent (Hé, 2006).

### I.2.3. Description des processus fondamentaux de la cicatrisation

La cicatrisation est un phénomène continu comportant quatre phases : les phases vasculaires et de détersion pouvant être réunies au sein du processus inflammatoire, suivies des phases de réparation (phase proliférative) et de maturation (phase de remodelage). Toutes ces phases sont interdépendantes et se chevauchent sans séparation stricte dans le temps (Fig. 8). Les caractéristiques de durée et d'intensité pour chaque phase, varient en fonction de la plaie et du mode de cicatrisation (Hé, 2006; Kumar *et al.*, 2007; Guo et Dipietro, 2010).

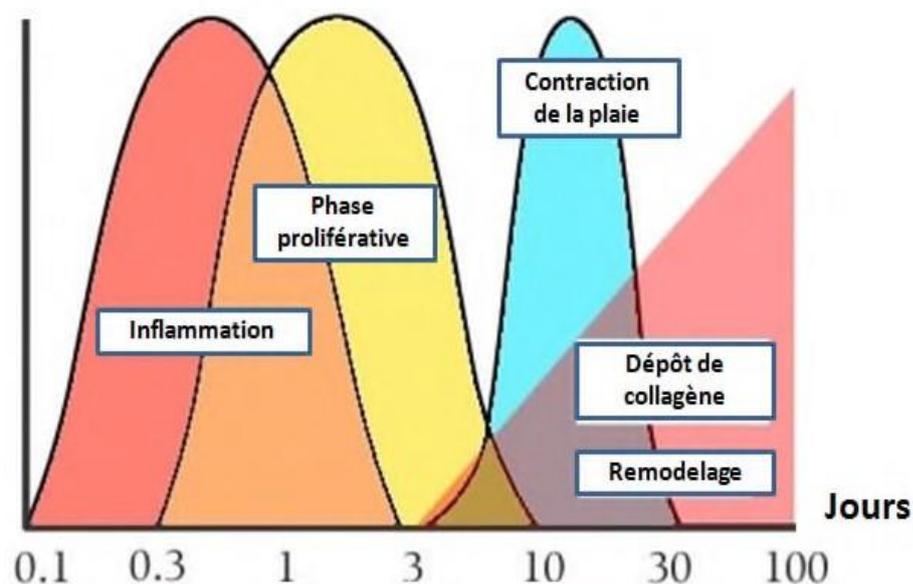


Figure 8 : Ordre séquentiel des phases de la cicatrisation adaptée d'après (Kumar *et al.*, 2007).

**Tableau 1** : Phases de la cicatrisation des plaies (Kane, 2006).

Phase de cicatrisation	Temps après la perte d'intégrité	Cellules impliquées en phase de cicatrisation	Fonction ou activité
<b>Hémostase</b>	Immédiat	Plaquettes	- Coagulation - Libération des facteurs de croissance
<b>Inflammation</b>	Jours 1-4	- Neutrophiles - Macrophages - Monocytes	- Phagocytose
<b>Prolifération (granulation et contraction)</b>	Jours 4-21	- Macrophages - Péricyte - Lymphocytes - Angiocytes - Neurocytes - Fibroblastes - Kératinocytes -Cellules épithéliales	- Remplissage de la cavité de la plaie - Rétablissement de la fonction de la peau - Fermeture de la plaie
<b>Remodelage (maturation)</b>	Jours 21-2 ans	- Fibrocytes - Fibroblastes	- Développement de la résistance à la traction

### I.2.2.1. Processus fondamentaux de la cicatrisation

Au moment de la blessure, le tissu est lésé et les plaquettes adhèrent au collagène et libèrent des facteurs de coagulation, le PDGF et le TGF- $\beta$  pour initier le processus de réparation (Diegelmann, 2004).

#### I.2.2.1.1. Phase d'inflammation

L'inflammation est une réponse vasculaire et cellulaire qui défend le corps contre les substances étrangères et dispose des tissus morts afin que la réparation puisse procéder. Elle implique une migration des neutrophiles en marge de l'incision (Fig. 9), en direction du caillot de fibrine. (Elzayat et al., 2018).

Les plaquettes facilitent non seulement la formation d'un bouchon hémostatique statique, mais sécrètent également plusieurs médiateurs de la cicatrisation de la plaie, tels que le facteur de croissance dérivé des plaquettes, qui attirent et activent les macrophages et les fibroblastes (Singer et Clark, 1999).

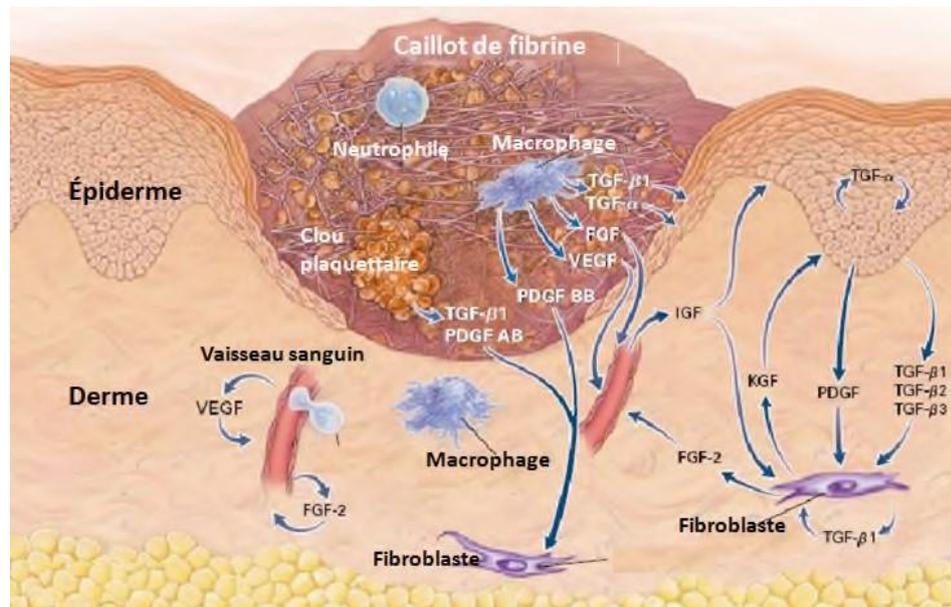


Figure 9 : Phase inflammatoire (Singer et Clark, 1999).

#### I.2.2.1.1.1. Phase vasculaire

La plupart des plaies cutanées comportent des effractions vasculaires, qui entraînent l'irruption du sang en dehors des vaisseaux ; les pertes sanguines causées par la brèche vasculaire sont limitées par une vasoconstriction locale associée à une agrégation des plaquettes sanguines ; ces dernières adhèrent au niveau des parois endothéliales et forment le clou hémostatique de Hayem qui assure l'hémostase primaire et initie la coagulation plasmatique. Les plaquettes activées amplifient l'hémostase primaire en induisant l'adhésion d'autres plaquettes et en renforçant la vasoconstriction par le biais des médiateurs qu'elles secrètent. Par ailleurs, les cellules endommagées libèrent de la thromboplastine qui déclenche une cascade de coagulation qui conduit à la transformation du fibrinogène en fibrine. Cette dernière s'agglutine avec les plaquettes pour former le caillot sanguin appelé clou hémostatique secondaire. Ce caillot permet, d'une part de rétablir l'étanchéité de la peau et d'autre part de servir de matrice pour la migration cellulaire durant les phases subséquentes de la cicatrisation (Margetic, 2012).

#### I.2.2.1.1.2. Phase de détersion cellulaire

C'est une phase catabolique de phagocytose et de lyse qui débute très tôt après la constitution de la plaie et ne s'arrête qu'après élimination de tout matériel (bactéries, débris nécrotiques, excès de fibrine, corps étranger...) pouvant entraver la cicatrisation. Les premiers leucocytes à arriver au niveau de la plaie sont les granulocytes neutrophiles qui ont comme rôle le contrôle de l'infection, (phagocytose des bactéries, des débris tissulaires et des complexes immuns).

Après une durée de vie brève (moins de 2 à 3 jours lors d'inflammation), ces leucocytes dégèrent rapidement et meurt en libérant des enzymes lytiques de leurs lysosomes ainsi que des métabolites à effet phlogogène (radicaux oxydants, LTB4) qui participeront à la lyse des débris cellulaires nécrotiques. L'ensemble exsudat inflammatoire, leucocytes dégénérés, et tissus nécrosés forment un exsudat ayant les mêmes caractéristiques que le pus (**Johnston, 1992; Fowler, 1993**).

#### **I.2.2.1.2. Phase proliférative**

En raison de l'importance des proliférations cellulaires, cette phase regroupe deux grands phénomènes anaboliques : la formation du tissu de granulation et l'épidermisation qui va recouvrir ce tissu (**Hé, 2006**).

##### **I.2.2.1.2.1. Formation du tissu de granulation**

Parallèlement à la détersion, se met progressivement en place le « tissu de granulation » ou « tissu de bourgeon charnu » qui va combler la perte de substance résultant de l'agression et de la détersion (**Verola, 2006**). Ce tissu transitoire est constitué de fibroblastes (et myofibroblastes) synthétisant du collagène et les autres éléments de la matrice extra cellulaire et d'une riche vascularisation issue de la néo-angiogenèse. La formation du tissu de granulation ne concerne que les zones de la plaie correctement préparées lors de la phase de détersion. En effet, sur une même plaie, certaines zones peuvent présenter une progression du tissu de granulation, alors que d'autres zones sont encore en phase de détersion (**Fig. 10**) (**Hé, 2006**).

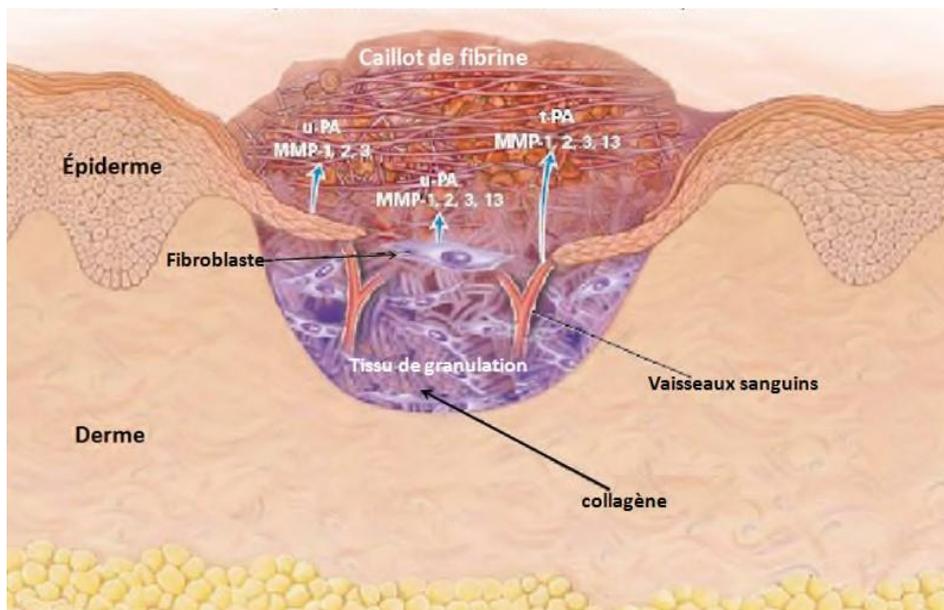


Figure 10 : Phase proliférative (Singer et Clark, 1999).

#### I.2.2.1.2.2. Contraction de la plaie

La contraction de la plaie permet la diminution de sa surface grâce à un mouvement centripète des berges de la plaie. Cette contraction est inconstante et dépend de la nature de la plaie, de sa localisation, de son mode de cicatrisation et de l'importance de perte de substances. Elle dépend également de la constitution de la peau, ainsi elle est importante chez les espèces à peau très lâche (rat), mais limitée chez les espèces à peau épaisse et immobile comme l'homme (Deleage, 2011).

La contraction débute lorsque le tissu de granulation comble entièrement la perte de substance et s'arrête, lorsque les marges de la plaie entrent en contact. Deux modèles de contraction sont proposés : le 1<sup>er</sup> modèle privilégie l'action des myofibroblastes situées aux marges de la plaie ; le 2<sup>ème</sup> modèle attribue le phénomène aux contractions des fibroblastes du tissu de granulation. Plusieurs auteurs suggèrent une combinaison de ces deux modèles. Avec une importance variable de chaque modèle en fonction des espèces (Deleage, 2011).

#### I.2.2.1.2.3. Épithélialisation ou épidermisation

La ré-épithélialisation est une étape importante pour le rétablissement de la continuité de la peau, lui permettant de récupérer ses capacités de protection contre le dessèchement et les autres agressions du milieu extérieur.

L'épithélialisation débute dans les 24 premières heures et elle est généralement entièrement terminée après deux semaines, notamment dans les plaies superficielles. Dans les

plaies profondes, sa durée dépend de la qualité du bourgeon de granulation (**Gerbault, 1999**). Les kératinocytes basaux des berges de la plaie (mais aussi des follicules pileux et des canaux des glandes eccrines) subissent une série de changements morphologiques et projettent des lamellipode (**Sarret et al., 1993**). Elle se libèrent de leurs attaches dermiques et entament par la suite une migration vers les zones déficitaires de façon centripète, et parfois centrifuge en cas de présence d'îlots épidermiques intacts (**Sarret et al., 1993**). La migration épithéliale prend fin lorsque les cellules entrent en contact avec les cellules épithéliales du bord opposé (phénomène d'inhibition de contact).

Quand la perte de substance est étendue, la migration cellulaire seule n'est pas suffisante pour la réparation épithéliale qui nécessite alors une intensification des mitoses des cellules épithéliales. Cette activité mitotique accrue concerne essentiellement les cellules épithéliales périphériques éloignées des marges de la plaie (**Fowler, 1993**).

En présence d'une croûte ou d'un caillot, les cellules épithéliales migrent sous la croûte puis sécrètent diverses protéases et collagénases capables de dissoudre la base de la croûte qui tombe une fois les cellules épithéliales ont recouvert toute la perte de substance (**Hé, 2006**).

#### **I.2.2.1.2.4. Processus de maturation**

Après la réparation de toutes les couches cutanées, la cicatrice continue d'être remodelée pour augmenter sa résistance et ses qualités au cours du processus de maturation. Ce dernier est dominé par le remodelage du tissu conjonctif néoformé associé à des modifications touchant l'épiderme et les annexes épidermiques avec restauration de la vascularisation et de l'innervation.

#### **I.2.2.1.3. Phase de remodelage**

Après la réparation de toutes les couches cutanées, la cicatrice continue d'être remodelée pour augmenter sa résistance et ses qualités au cours du processus de maturation. Ce dernier est dominé par le remodelage du tissu conjonctif néoformé associé à des modifications touchant l'épiderme et les annexes épidermiques avec restauration de la vascularisation et de l'innervation (**Cherif, 2016**). Une accumulation continue de collagène et une prolifération de fibroblastes. Il y a une réduction marquée de l'infiltration de leucocytes et de l'œdème. La phase implique la synthèse de fibres de collagène, entraînant une augmentation de la résistance à la traction de la peau (**Elzayat et al., 2018**).

#### **I.2.2.2. Les facteurs influençant la cicatrisation**

La cicatrisation est optimale en termes de vitesse et de qualité lorsque les facteurs nécessaires à la cicatrisation sont adéquats et que ceux qui s'y opposent sont contrôlés ou absents. Si on connaît de nombreux facteurs qui s'opposent à la cicatrisation, ceux qui la

favorisent ne sont pas encore parfaitement définis. Ces facteurs peuvent être physiques liés à l'environnement de la plaie, endogènes ou exogènes (**Hosgood, 2003**).

#### **I.2.2.2.1. Facteur infectieux retardant la cicatrisation**

La présence de bactéries dans une plaie peut entraîner :

- Une contamination : présence de bactéries dont le nombre n'augmente pas et n'entraîne pas de problème clinique.
- Une colonisation : les bactéries se multiplient mais sans endommager les tissus de la plaie.
- Une infection : les bactéries se multiplient, entraînant des dommages aux tissus de la plaie (infection locale) et une interruption de la cicatrisation. Les bactéries peuvent produire une dissémination de l'infection à proximité de la plaie ou entraîner une infection systémique (**Wuwhs, 2008**).

L'infection localisée est souvent caractérisée par les signes classiques de l'inflammation ; néanmoins, les bactéries (particulièrement en cas de plaies chroniques) peuvent entraîner un retard (ou un arrêt) de la cicatrisation, en l'absence de tels signes d'inflammation. Ce type plus discret d'infection localisée est désigné par le terme de « colonisation critique » ou d'infection « dissimulée » ou « occulte » (**Wuwhs, 2008**).

Une prolifération bactérienne excessive consomme de l'oxygène et du complément, abaisse le pH de la plaie, et entraîne la production de toxines. Ces facteurs peuvent entraîner une lyse cellulaire, une dégradation de la matrice extracellulaire, une favorisation de microthromboses avec comme conséquence un retard ou une interruption de la cicatrisation (**Senet et al., 2000**).

Selon leur gravité, les infections ont des conséquences variées sur la cicatrisation des plaies. - Une infection minime ne fera que prolonger la phase de détersion ; en revanche, une infection plus importante pourra entraîner une extension des foyers de nécrose et une importante prolongation de la phase de détersion, retardant considérablement la cicatrisation. - La cicatrisation peut s'arrêter au stade d'inflammation chronique suite à l'installation d'une infection chronique.

- L'infection peut entraîner une déhiscence de la plaie, des suppurations chroniques ou la formation d'abcès.

- Une infection grave non contrôlée, peut conduire à une septicémie mortelle (**Hé, 2006**).

**I.2.2.2.2. Facteurs non infectieux retardant la cicatrisation**

On distingue :

- Le déficit en oxygène et défaut de perfusion qui perturbe la cicatrisation et affectent la résistance aux infections.

- La malnutrition protéino-énergétique et les carences en certains nutriments spécifiques qui peuvent altérer toutes les phases de la cicatrisation et augmenter le risque d'infection. - Le stress qui est un cofacteur potentiel susceptible d'entraver la cicatrisation, par le biais d'une stimulation sympathique avec libération de substances influant sur la sécrétion de cortisol.

- Certaines pathologies associées entraînent des retards de cicatrisation, on peut citer : le diabète ; les pathologies vasculaires ; les troubles de la coagulation et pathologies hématologiques ; insuffisance rénale chronique ; déficits immunitaires ; certaines maladies congénitales affectant la synthèse normale de collagène ou d'élastine (Syndrome d'EhlersDanlos, syndrome de Marfan...).

- L'instaurations de certains traitements qui perturbent la réponse inflammatoire ou inhibent les défenses anti-infectieuses de l'organisme tels : les corticoïdes ; les anti-inflammatoires non stéroïdiens ; les chimiothérapies anticancéreuses et les anesthésiques locaux (**Gottrup, 2004**).

# **CHAPITRE II**

## *PHYTOTHÉRAPIE*

## **II. Phytothérapie**

### **II.1. Généralité**

La phytothérapie est l'art de traiter par les plantes médicinales. Elle est dite "médecine douce", terme impropre pouvant mettre le doute dans l'esprit du public : "douce" s'apparente à "sans danger". C'est une discipline allopathique destinée à prévenir et à traiter certains troubles fonctionnels et/ou certains états pathologiques au moyen de végétaux, de parties de végétaux ou de préparations à base de végétaux, qu'elles soient consommées ou utilisées en voie externe (**Wichtl et Anton, 2003**). On distingue deux types de phytothérapies.

Si l'on ne sait pas précisément ce que nos ancêtres mangeaient au début de l'humanité il y'a 5 à 7 millions d'années, il est certain que les plantes faisaient partie de leur alimentation quotidienne. Ils découvraient très tôt dans leur évolution que ces plantes ne représentaient pas uniquement une source d'alimentation mais pouvaient également soulager voire guérir certaines maladies (**Zeghad, 2009**). Aujourd'hui les principes actifs des plantes sont des composants essentiels d'une grande partie de nos médicaments et produits de soins (**Hans, 2007**). Malgré les multiples progrès de la médecine moderne, il y'a un net regain d'intérêt vis-à-vis de la phytothérapie. Selon l'OMS (Organisation Mondiale de la Santé) plus de 80% de la population mondiale ont recours à la pharmacopée traditionnelle pour faire face aux problèmes de la santé (**Farnsworth et al, 1986**). En effet sur les 300 000 espèces végétales recensées sur la planète plus de 200 000 espèces vivent dans les pays tropicaux d'Afrique ont des vertus médicinales (**Millogo et al, 2005**).

#### **II.1.1. La phytothérapie traditionnelle**

C'est une thérapie de substitution qui a pour but de traiter les symptômes d'une affection. Ses origines peuvent parfois être très anciennes et elle se base sur l'utilisation de plantes selon les vertus découvertes empiriquement. Elles concernent notamment les pathologies saisonnières depuis les troubles psychosomatiques légers jusqu'aux symptômes hépatobiliaires, en passant par les atteintes digestives ou dermatologiques (**Prescrire, 2007**).

#### **II.1.2. La phytothérapie clinique**

C'est une approche globale du patient et de son environnement est nécessaire pour déterminer le traitement, ainsi qu'un examen clinique complet. Son mode d'action est basé sur un traitement à long terme agissant sur le système neuro-végétatif. Dans ce type les indications sont liées à une thérapeutique de complémentarité. Elles viennent compléter ou renforcer l'efficacité d'un traitement allopathique classique pour certaines pathologies (**Moreau, 2003**).

## **II.2. Principe de la phytothérapie**

La phytothérapie repose sur l'utilisation de plantes médicinales à des fins thérapeutiques. En médecine classique, les fabricants pharmaceutiques extraient le principe actif des plantes pour en faire des médicaments. La logique de traitement est également différente entre la médecine classique et la phytothérapie. La médecine moderne est substitutive, c'est-à-dire que les médicaments classiques régularisent les fonctions de l'organisme et le soulagent du besoin de s'auto guérir. En phytothérapie, les plantes sont également utilisées comme des médicaments pour réguler les fonctions du corps. Selon les phytothérapeutes, une maladie ne survient pas par hasard. Elle est la conséquence d'un déséquilibre interne à l'organisme qui doit en permanence s'adapter à son environnement. La phytothérapie s'attache à analyser les systèmes constitutifs de l'organisme : systèmes neuroendocrinien, hormonal, immunitaire, système de drainage... (**Devoyer, 2012**).

## **II.3. Intérêt de la phytothérapie**

La phytothérapie se pratique sous différentes formes et uniquement dans le cas de maladies « bénignes ». Bien sûr, bon nombre de symptômes nécessitent des antibiotiques ou autres traitements lourds. Dans d'autres cas, se soigner par les plantes représente une alternative reconnue par la médecine et dénuée de tout effet toxique pour l'organisme (**Berlencourt, 2017**).

## **II.4. Différents types de la phytothérapie**

### **II.4.1. Aromathérapie**

Est une thérapeutique qui utilise les essences des plantes, ou huiles essentielles, substances aromatiques secrétées par de nombreuses familles de plantes, ces huiles sont des produits complexes à utiliser souvent à travers la peau (**Zeghad, 2009**).

### **II.4.2. Gemmothérapie**

Se fonde sur l'utilisation d'extrait alcoolique de tissus jeunes de végétaux tels que les bourgeons et les radicules (**Zeghad, 2009**).

### **II.4.3. Herboristerie**

Correspond à la méthode de phytothérapie la plus classique et la plus ancienne. L'herboristerie se sert de la plante fraîche ou séchée ; elle utilise soit la plante entière, soit une partie de celle-ci (écorce, fruits, fleurs). La préparation repose sur des méthodes simples, le plus souvent à base d'eau : décoction, infusion, macération. Ces préparations existent aussi sous forme plus moderne de gélule de poudre de plante sèche que le sujet avale (**Zeghad, 2009**).

#### **II.4.4. Homéopathie**

A recours aux plantes d'une façon prépondérante, mais non exclusive ; les trois quarts des souches sont d'origine végétale, le reste étant d'origine animale et minérale (Zeghad, 2009).

#### **II.4.5. Phytothérapie pharmaceutique**

Utilise des produits d'origines végétales obtenus par extraction et qui sont dilués dans de l'alcool éthylique ou un autre solvant. Ces extraits sont dosés en quantités suffisantes pour avoir une action soutenue et rapide. Ils sont présentés sous forme de sirop, de gouttes, de gélules, de lyophilisats... (Zeghad, 2009).

#### **II.5. Les plantes médicinales**

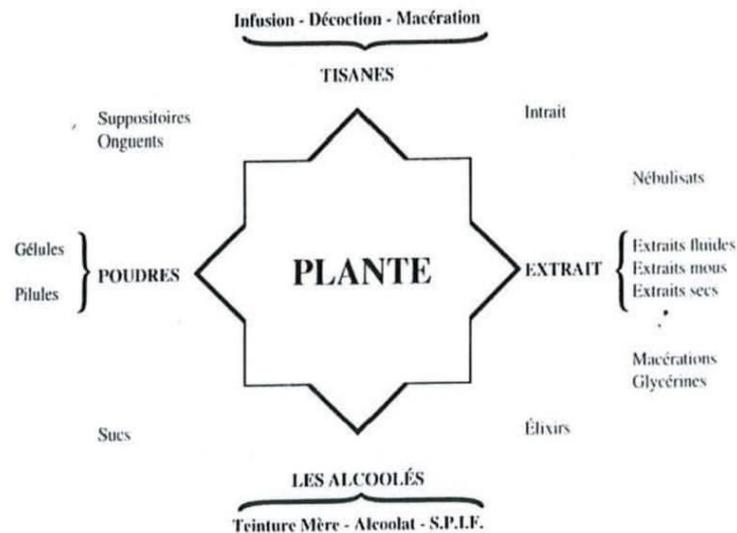
La définition d'une plante médicinale est très simple. En fait il s'agit d'une plante qui est utilisée pour prévenir, soigner ou soulager divers maux. Les plantes médicinales sont des drogues végétales dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses (Farnsworth et al, 1986). Environ 35 000 espèces de plantes sont employées par le monde à des fins médicinales, ce qui constitue le plus large éventail de biodiversité utilisé par les êtres humains. Les plantes médicinales continuent de répondre à un besoin important malgré l'influence croissante du système sanitaire moderne (Elqaj et al, 2007).

#### **II.6. De la plante au médicament**

La phytothérapie est un traitement basé sur l'emploi de plantes médicinales utilisées telles quelles en tisanes ou de médicaments préparés avec des plantes médicinales. De nombreuses formes galéniques pour l'utilisation des plantes médicinales sont possibles. A l'heure actuelle, certaines formes plus pratiques (gélules, comprimés) permettent de faciliter l'administration de l'ensemble des principes actifs (Bruneton, 2009).

#### **II.7. Les différentes formes galéniques**

La pharmacie galénique est l'art de transformer une substance présentant une activité thérapeutique en un médicament aisément utilisable pour un homme : les plantes peuvent adopter de nombreuses formes galéniques (Salle, 1991).



**Figure 11** : Les différentes formes galéniques en phytothérapie (Salle, 1991).

## II.8. Formes galéniques administrées par voie cutanée

Les formes galéniques destinées à la voie cutanée sont extrêmement nombreuses

- Préparations semi-solides pour application cutanée.
- Mousses médicamenteuses.
- Préparations liquides pour application cutanée.
- Cataplasmes.
- Formes adhésives cutanées.
- Poudres pour application cutanée.

## II.9. Principaux types de préparations semi-solides pour application cutanée

### II.9.1. Les pommades

Préparations composées d'un excipient monophasé dans lequel peuvent être dissoutes ou dispersées des substances liquides ou solides.

Différents types de pommades :

- Pommades hydrophobes.
- Pommades absorbant l'eau.
- Pommades hydrophiles (Denis, 2012).

### II.9.2. Les pâtes

Préparations semi-solides contenant de fortes proportions de poudres (> 50%) finement dispersées dans l'excipient

Nous avons 2 types de pâtes

Pâte lipophile ou hydrophobe : excipient = corps gras ou mélange de corps gras

Pâte hydrophile : excipient à base d'eau + excipient miscible à l'eau (**Denis, 2012**).

### **II.9.3. Les gels**

Préparations constituées par des liquides gélifiés à l'aide d'agents gélifiants appropriés

Différents types de gels

- Oléogels: gels hydrophobes
- Hydrogels : gels hydrophiles (**Denis, 2012**).

### **II.9.4. Les crèmes**

Les crèmes ou émulsions épaissies sont des préparations multiphasiques. Elles sont en général constituées

- D'une phase lipophile (huileuse...)
- D'une phase hydrophile (aqueuse...)

Pour stabiliser les deux phases, il est nécessaire d'ajouter

- Un ou plusieurs tensioactifs
- Un agent épaississant ou viscosant (**Denis, 2012**).

## **II.10. La phytothérapie pour soigner et cicatriser les plaies**

La phytothérapie permet de profiter pleinement des vertus et bienfaits des plantes. Elle constitue une des meilleures solutions naturelles pour soigner et cicatriser rapidement les plaies. De plus, elle présente un large choix de traitements et de remèdes à la fois bios et naturels (huiles végétales, mélanges, décoctions ou macérat...) pour guérir n'importe quel type ou degré de blessure. De même, la majorité des traitements à base de plantes ne présente pas de risques ou effets secondaires. Cependant, Il est préférable de consulter un spécialiste avant d'utiliser les plantes médicinales pour soigner et cicatriser les plaies.

Les extraits de plantes ou de fruits favorisent une cicatrisation à la fois rapide, naturelle et sans douleur. Utilisés en application locale (sous forme de mélanges ou de préparations) ou en traitement de fond, ils favorisent la résolution et la cicatrisation des plaies de façon beaucoup plus naturelle que les pommades et les crèmes d'origine industrielle (**Anonyme, 2021**).

### **II.11. Plantes à activité cicatrisantes**

L'homme a toujours utilisé les plantes depuis les temps les plus reculés pour soulager bon nombre de ses maux. L'activité cicatrisante des plantes est reconnue dans toutes les

civilisations. Cette « pharmacie naturelle » a toujours fait l'objet de nombreuses études scientifiques. Grâce aux résultats de ces recherches, les vertus et les mécanismes d'action des molécules bio actives de ces plantes sont aujourd'hui reconnues scientifiquement et adoptés par notre médecine contemporaine ainsi que par l'industrie cosmétique. Le tableau ci-après récapitule les différentes plantes, leurs parties utilisées, le model de plaie utilisée ainsi que le mécanisme d'action sur le processus de cicatrisation (**Tab.2**) (**Djerrou, 2011**).

**Tableau 2** : Plantes à activité cicatrisante (**Habbu et al., 2007**).

Plantes	Parties utilisées	Extraits	Références
Rosier ( <i>Rosa</i> spp. L.)	Fleur	Application topique de l'huile essentielle extraite des pétales de différentes espèces de roses. L'hydrolat de rose ou eau de rose sous-produit de la distillation, est également utilisé pour soulager les brûlures superficielles.	(Abdeldjeli et al., 2011)
Caféier ( <i>Coffea</i> spp. L.)	Grain	Application topique du café en poudre.	(Ait Said, 2011)
Rue des montagnes ( <i>Ruta montana</i> L.)	Feuille et Fleur	La poudre des feuilles séchées est saupoudrée sur une brûlure préalablement enduite d'huile d'olive ou de lentisque. L'huile essentielle extraite des feuilles et des fleurs peut également être appliquée sur les brûlures.	(Abd-El Aal et al., 2007)
Citronnier ( <i>Citrus x limon</i> (L.) Burm. f. (pro. sp.))	Fruit	Jus du citron dilué dans de l'eau froide appliqué en compresse pour soulager les brûlures superficielles, type coup de soleil	(Abdeldjeli et al., 2011)
Pomme de terre ( <i>Solanum tuberosum</i> L.)	Tubercule	Application topique de pelures, de tranches, ou de pomme de terre râpée crue en cataplasme.	(Ait Said, 2011)
Tomate ( <i>Solanum lycopersicum</i> L.)	Fruit	Application topique de tranches de tomate sur les brûlures récentes. Le concentré de tomate industrielle est également utilisé.	(Amhamdi et al., 2009)
Théier ( <i>Camellia sinensis</i> L. Kuntze)	Feuille	Infusion de feuilles du thé (vert) appliquée en compresse sur les brûlures.	(Abd-El Aal et al., 2007)
Ortie ( <i>Urtica dioica</i> L.)	Feuille	Cataplasme de feuilles bouillies dans du vinaigre de cidre.	(Abdi et Zhou, 2002)
Orge commune ( <i>Hordeum vulgare</i> L.)	Grain	La semoule d'orge mélangée avec des œufs est appliquée en cataplasme sur la brûlure.	(Abd-El Aal et al., 2007)
Maïs ( <i>Zea mays</i> subsp. <i>Mays</i> L.)	Grain	Application topique de l'huile des graines pour soulager les brûlures.	(Abd-El Aal et al., 2007)
Nigelle ( <i>Nigella arvensis</i> L.)	Graine	Application topique des graines moulues ou de leur huile.	(Ait Said, 2011)
Sésame ( <i>Sesamum indicum</i> L.)	Graine	Application topique de l'huile extraite des graines.	(Albuquerquea et al., 2014)

Pin maritime ( <i>Pinus spp.</i> L.)	Résine	Résine ou gemme de pin est utilisée comme ingrédient d'un onguent utilisé pour le traitement des brûlures.	(Abdi et Zhou, 2002)
Turbith ( <i>Globularia alypum</i> L.)	Feuille	Application des feuilles fraîches attendries dans de l'eau bouillie.	(Abd-El Aal et al., 2007)
Plantain ( <i>Plantago major</i> L.)	Feuille	Application en cataplasme des feuilles fraîches écrasées, de leur jus ou leur infusion sur les brûlures.	(Abd-El Aal et al., 2007)
Blé dur ( <i>Triticum durum</i> Desf.)	Grain	La semoule de blé est mélangée avec de l'eau froide pour former une pâte appliquée comme cataplasme sur la brûlure.	(Abdi et Zhou, 2002)
Grande mauve ( <i>Malva sylvestris</i> L.)	Feuille	Application en cataplasme des feuilles fraîches écrasées.	(Abd-El Aal et al., 2007)
Jasmin ( <i>Jasminum spp.</i> L.)	Fleur	L'huile essentielle des fleurs est utilisée pour améliorer l'aspect esthétique des cicatrices.	(Abd-El Aal et al., 2007)
Olivier <i>Olea europaea</i> L.)	Graine	L'huile d'olive est utilisée seule, mais également avec de nombreux autres produits pour faciliter leur utilisation ou permettre une extraction de leur principes actifs (macérât huileux).	(Anonyme, 2011)
Laurier vrai ( <i>Laurus nobilis</i> L.)	Feuille	Application des feuilles en cataplasme.	(Abd-El Aal et al., 2007)
Cannelier cannelier de Ceylan ( <i>Cinnamomum verum</i> J.Presl.)	Écorce	Poudre de l'écorce utilisée surtout pour l'élimination des cicatrices.	(Abu-Al-Basal, 2010)
Lin ( <i>Linum usitatissimum</i> L.)	Graine	Application topique de l'huile extraite des graines. Les graines de lin moulues sont mélangées avec du blanc d'œuf pour former une crème qui est appliquée topiquement sur la brûlure	(Abdi et Zhou, 2002)
Henné ( <i>Lawsonia inermis</i> L.)	Feuille	La poudre des feuilles (pilée et tamisée) est humectée d'eau pour former une pâte appliquée sur la plaie.	(Albuquerquea et al., 2014)
Basilic romain ( <i>Ocimum basilicum</i> L.)	Feuille	Feuilles fraîches écrasées appliquées en cataplasme.	(Abdeldjeli et al., 2011)
Marrube blanc ( <i>Marrubium vulgare</i> L.)	Sommités fleuries	Décoctions des sommités fleuries appliquée en compresse sur la peau lésée. Ou sommités fleuries écrasées et appliquées en cataplasme.	(Abd-El Aal et al., 2007)
Marjolaine ou Origan des jardins ( <i>Origanum majorana</i> L.)	Feuille et fleur	Huile essentielle des feuilles et des fleurs.	(Abd-El Aal et al., 2007)
Lavande ( <i>Lavandula</i>	Sommités fleuries	Huile essentielle ou alcoolat des sommités. Fleuries	(Aguerre, 2004)

<i>stoechas L.)</i>			
<b>Romarin</b> ( <i>Rosmarinus officinalis L.</i> )	Parties aériennes	Macérât huileux des parties aériennes.	(Abd-El Aal et <i>al.</i> , 2007)
Lentille cultivée ( <i>Lens culinaris Medik</i> )	Graine	Les graines de lentilles finement moulues sont saupoudrées sur la plaie préalablement enduite avec du beurre, de l'huile d'olive ou de l'huile de lentisque	(Abdeldjeli et <i>al.</i> , 2011)
Genévrier cade ( <i>Juniperus oxycedrus L.</i> )	Branches et bois	Application topique de l'huile de Cade. Il s'agit d'un liquide visqueux, brun foncé presque noir, obtenu par pyrolyse des branches et du bois du Genévrier cade.	(Abu-Al-Basal, 2010)

# **CHAPITRE III**

*CORDYCEPS*

*MILITARIS*

### III.1. Généralité

Les champignons font partie de l'histoire culturelle de l'humanité. Quand on parle de champignons, on pense tout d'abord à leur comestibilité ou leur toxicité et moins à leurs propriétés thérapeutiques. Cependant l'utilisation des champignons pour soigner, discipline appelée mycothérapie, existe depuis des temps immémoriaux, au même titre que la phytothérapie. La mycothérapie intéresse de plus en plus les pays occidentaux en quête de thérapeutiques préventives et curatives « naturelles ». Cette tendance actuelle à la recherche d'alternatives à l'utilisation des médecines conventionnelles, a vu le développement de la phytothérapie et voit poindre celui de la mycothérapie, avec l'apparition de plus en plus de compléments alimentaires à base d'extraits et/ou de poudres de champignons sur le marché (Rampin, 2017).

### III.2. Description

Le nom de *Cordyceps* est dérivé du *cordon* de mots latin, signifiant « club », et *cèpes*, ce qui signifie « tête ». Plusieurs espèces de *Cordyceps* sont considérées comme des agents thérapeutiques dans la médecine chinoise (Halpern et Georges, 2007).

*Cordyceps militaris* est un champignon rarement fourchu comprimé ou non, fréquemment sillonné 1–7cm de long, 2–6mm de large, orange à rouge avec périthèces au sommet immergés pointent à l'extérieur, ovoïdes  $500\text{--}720 \times 300\text{--}480\mu\text{m}$  avec une paroi de  $20\mu\text{m}$  d'épaisseur. La couche pseudo parenchymateuse asques étroits, cylindriques  $300\text{--}510 \times 3,5\text{--}5\mu\text{m}$  se rétrécit au sec. La longueur des variait entre 35 et 60mm (Fig.12 et 13). Les ascospores de ce champignon sont filiformes, multi septées, se brisant en fragments cellulaires à maturité  $2\text{--}4,5 \times 1\text{--}1,5\mu\text{m}$  (Mains, 1958).

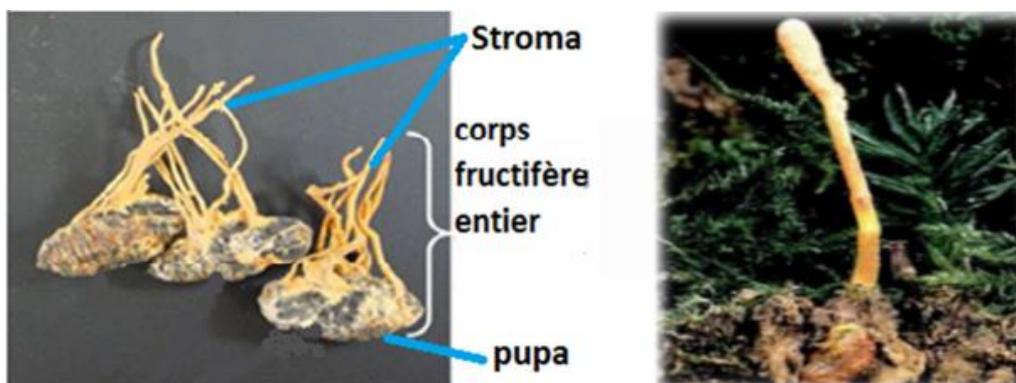


Figure 12 : Aspect morphologique de *Cordyceps militaris* (Lee Yue et al., 2008).

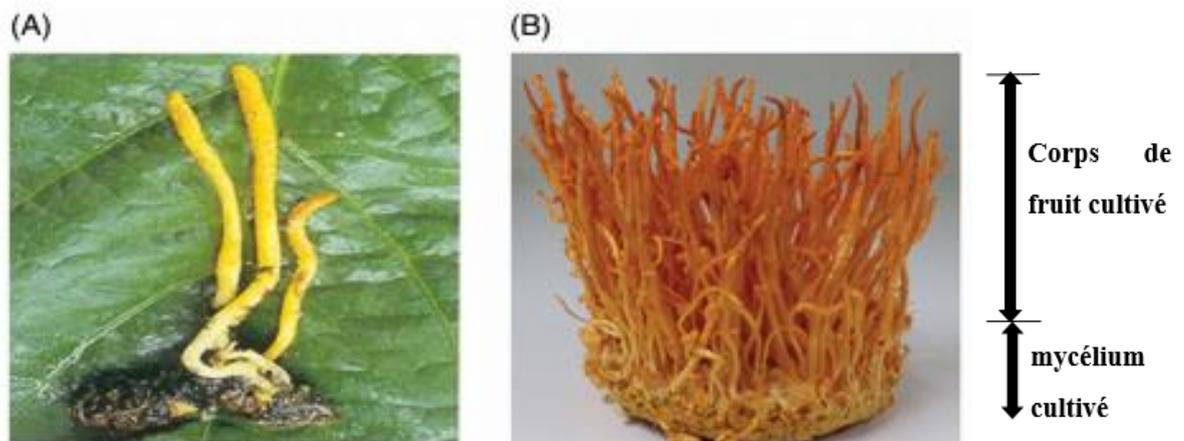


Figure 13 : *Cordyceps militaris* naturel A et cultivé B (Eunhyun et al., 2020).

### III.3. Informations sur la culture

#### III.3.1. Type de culture

##### III.3.1.1. Culture de stockage/stock culture

La culture de base est généralement stockée sur un substrat PDA de 39 g/l à 5 °C.

##### III.3.1.2. Pré-culture (culture en pente et sur plaque)

Les deux types de culture sont préparés sur un substrat de 39 g/l de PDA et sont généralement stockées à 25 °C.

##### III.3.1.3. Culture populaire/indigène

Il existe un certain nombre de techniques de culture indigène/populaire qui varient en fonction du lieu, de l'environnement et de l'objectif de la culture considérée. La culture considérée. Elles sont présentées ci-dessous (Mizuno, 1999).

###### III.3.1.3.1. Production de frai

Habituellement, des billes de verre sont ajoutées au milieu de glucose de pomme de terre, qui est ensuite stérilisé dans un autoclave à 121 °C pendant 20 minutes. Après refroidissement, le milieu est inoculé avec plusieurs morceaux de culture mère. Après culture stationnaire à 25 °C pendant une semaine, les hyphes sont dispersés en secouant le milieu une fois par jour. Lorsque le champignon a proliféré, il est inoculé dans un milieu sans billes de pomme de terre glucose et cultivé dans ce milieu pendant 5 jours (Mizuno, 1999).

###### III.3.1.3.2. Culture de riz décortiqué

Le milieu de riz décortiqué ou le milieu de blé est inoculé avec le blanc liquide. Le site L'inoculation contribue à l'apport d'humidité et à l'ajout de nutriments auxiliaires. L'ajout

de nutriments auxiliaires, après une culture à 25 °C pendant environ 20 jours, le champignon prolifère sur tout le milieu. Puis il est vieilli pendant environ 1 mois (Mizuno, 1999).

#### **III.3.1.3.3. Culture de sciure de bois**

Deux kilogrammes de milieu solide sont inoculés avec une cuillère de la culture de semences qui a été pré-cultivée dans la sciure. Après une culture à 25 °C pendant environ 20 jours, le champignon prolifère sur tout le milieu. Ensuite, il est cultivé dans l'obscurité à 20-25 °C pendant environ 6 mois. Ainsi, des fructifications ressemblant à des nœuds sont formées (Mizuno, 1999).

#### **III.3.1.4. Culture spéciale/culture de laboratoire**

Ce sont les techniques de culture spécialisées utilisées pour la culture de *C. militaris*, en fonction de la cible de la production et des conditions offertes. Elles sont discutées ci-dessous.

##### **III.3.1.4.1. Culture par agitation**

La pré-culture est la même que celle décrite ci-dessus et, les mycéliums de *C. militaris* sont transférés dans le milieu de culture des semences en perforant environ 5 mm<sup>2</sup> de la plaque avec un cutter stérilisé. La culture de semences est cultivée dans un 250 ou 500 ml contenant 50-100 ml de milieu liquide, et incubée à 25 °C sur un agitateur rotatif (50-150 tours/minute, selon le but de la culture) pendant 5 à 7 jours, ou jusqu'au jour où la source de carbone devient nulle. La culture par agitation est aussi un type de culture submergée et toutes les conditions de cette technique dépendent de l'objectif de la recherche, de la durée de la culture et des conditions d'utilisation. Technique dépendent de l'objectif de la recherche, du temps alloué et des environnements nécessaires (Mizuno, 1999).

##### **III.3.1.4.2. La culture submergée**

Dans ce procédé, l'organisme est cultivé dans un milieu liquide, qui est vigoureusement aéré et agité dans de grands réservoirs appelés fermenteurs. Le fermenteur peut être un réservoir ouvert ou un réservoir fermé et peut être de type discontinu ou continu et est généralement fabriqué en métal non corrosif, en verre ou en bois (Mizuno, 1999).

##### **III.3.1.4.3. Culture liquide de surface**

Avant la culture liquide de surface, le substrat PDA actif du mycélium est préparé en le cultivant pendant 8 jours à 25 °C, puis la culture de semences transférée à partir du transférée de la pente active est laissée se développer sur le milieu PDA sur une plaque pendant 13 à 20 jours à 25 °C (en fonction du type de souche, comme pour le contrôle 13-20 jours, mais pour le mutant 20 jours généralement). L'inoculum est préparé en perforant un disque de 1 cm de la culture sur plaque PDA à l'aide d'un cutter cylindrique stérilisé. La

culture liquide de surface est commencée en inoculant l'inoculum (disque d'ensemencement) dans la plaque PDA. L'inoculum (disque d'ensemencement) dans un flacon de culture de 500 ml (la taille varie en fonction de l'objectif de la recherche). Selon l'objectif de la recherche, qui a un diamètre de 8,5 cm et une hauteur de 14,0 cm. 14,0 cm de hauteur avec un goulot dont le diamètre et la hauteur sont respectivement de 4,5 et 4,0 cm. Le volume de travail du milieu de culture liquide de surface est de 100 ml pour chaque bouteille, et le goulot est muni d'un bouchon en coton pendant la culture. Les bouteilles préparées sont placées dans un incubateur maintenu à  $25 \pm 1$  °C. L'échantillonnage peut être effectué à différents intervalles par le port d'échantillonnage pour analyse. Juste avant le l'échantillonnage, il est préférable d'agiter le milieu pendant 5 secondes à l'aide d'un agitateur magnétique. Ensuite, le filtrat peut être analysé pour des matériaux ciblés (par exemple, cordycépine, glucose, pH, etc.) (Masuda et al., 2006).

### III.3.2. Milieux de culture

Un certain nombre de milieux solides et liquides sont utilisés pour cultiver *C. militaris*. Les milieux solides peuvent être de la farine de bois de hêtre, du son de riz, son de blé, riz décortiqué, grains de blé, sacs de culture ou bouteilles. Bouteilles peuvent être utilisés à cet effet. Plusieurs milieux liquides sont également utilisés en fonction de l'objectif de la culture et sur la base de la concentration des composants du milieu, ces milieux peuvent être utilisés comme base pour la culture, concentration des composants du milieu, ceux-ci peuvent être basiques, et enrichis avec un additif. Milieux de base ayant le minimum de composants du milieu pour la croissance du champignon et un milieu enrichi ayant une concentration de milieu plus élevée/optimale, visant à atteindre un pic de production optimale pour atteindre un pic de production. Les additifs appropriés qui pourraient influencer sa croissance et ainsi augmenter la production sont généralement utilisés à cette fin. A notre connaissance, il a été révélé qu'un milieu basal a une production plus faible (Das et al., 2008).

Les milieux optimisés pour *C. militaris* mutant et le contrôle ont chacun montré des productions plus élevées 6,84 et 2,45 g/l, respectivement (Das et al., 2010).

Une production encore plus élevée plus élevée a également été atteinte en utilisant le mutant *C. militaris* en utilisant l'utilisation de l'adénosine (6 g/l) comme additif, soit 8,57 g/l. Il s'agit de la production la plus élevée de cordycépine rapportée par les chercheurs. Production la plus élevée de cordycépine rapportée à ce jour (Das et al., 2009).

### III.3. Classification

Les espèces de *Cordyceps* sont des parasites des insectes ou des mycètes, montrant souvent un niveau important de spécificité. Selon les analyses phylogénétiques, *Cordyceps* ne représente pas une lignée évolutive simple (Artjariyasripong et al., 2001). De même, les espèces de *Cordyceps* ne représentent pas un groupe monophylétique (Tab. 3) (Nikoh et al., 2000).

**Tableau 3 :** Classification botanique de l'espèce étudiée *C. militaris* (Das et al., 2010).

Royaume	Champignons
Phylum	Ascomycoza
Sub-phylum	Ascomycotina
Classe	Ascomycètes/Pyrenomycètes
Ordre	Hypocreales
Famille	Clavicipitaceae
Genre	Cordyceps
Espèce	Cordyceps militaris

#### III.4. Origine de *Cordyceps militaris*

*C. militaris*, est un champignon médicinal chinois, ento-méropathogène appartenant à la classe des ascomycètes. Cette espèce particulière de *Cordyceps* a été utilisée à des fins médicinales en Chine, au Japon, en Corée et dans d'autres pays asiatiques. Est l'un des plus champignons médicinaux importants, a été utilisé populairement comme drogue brute et un aliment tonique folklorique en Asie de l'Est (Ying et al., 1987).

#### III.5. Composants chimiques

Une variété de composés a été purifiée et leurs structures ont été élucidées (Song et al., 1998). La cordycépine 3'-déoxyadénosine (C<sub>10</sub>H<sub>13</sub>N<sub>5</sub>O<sub>3</sub>), 3'-amino-3'-déoxyadénosine (C<sub>10</sub>H<sub>14</sub>N<sub>6</sub>O<sub>3</sub>), homocitrullyl amino adénosine (C<sub>17</sub>H<sub>27</sub>N<sub>9</sub>O<sub>5</sub>), adénine (C<sub>5</sub>H<sub>5</sub>N<sub>5</sub>), l'acide

cordycepique ( $C_6H_{14}O_6$ ) et le D-mannitol ( $C_6H_{14}O_6$ ) ont été rapportés par les espèces de *Cordyceps* (Cunningham et al., 1950 ; Liu et al., 1989). Les nucléosides et leurs bases sont déterminés dans les *Cordyceps* (Li et al., 2004; Li et al., 2001). La détermination de l'adénosine ( $C_{10}H_{13}N_5O_4$ ) et de la 3'-désoxyadénosine (cordycépine) en utilisant la méthode HPLC également rapportée par certains chercheurs (Guo et al., 1998). En outre, l'ergostérol ( $C_{28}H_{44}O$ ) dans le *Cordyceps* peut être déterminé par la méthode HPLC (Li et al., 2004 ; Huang et al., 2003). L'ophiocorde ( $C_{28}H_{26}N_2O_{10}$ ), un antibiotique antifongique, est présent dans ce *Cordyceps* (Boros et al., 1994 ; Kneifel et al., 1979). Les Bioanthracènes ( $C_{34}H_{36}O_{10}$ ) ont été également isolés du *Cordyceps* (Isaka et al., 2001; Paisan et al., 2001). En outre, le cordyheptapeptide ( $C_{49}H_{65}N_7O_8$ ), un nouveau cycloheptapeptide, a été isolé d'une souche de *Cordyceps* avec quatre bioanthracènes connus. Il n'y avait que deux rapports antérieurs sur l'isolement de peptides cycliques de ce genre et il s'agissait de *C. militaris* et *Cordyceps sinensis* (Rukachaisirikul et al., 2006).

L'hypoxanthine ( $C_5H_4N_4O$ ) a également été séparée avec l'adénine et la cordycépine. L'adénine et la cordycépine de *Cordyceps* ont été obtenus à partir des fructifications de *C. militaris* cultivé (Haung et al., 2003). En culture par extraction à l'eau chaude suivie d'une précipitation à l'éthanol. Ces polysaccharides ont été successivement purifiés par chromatographie en donnant plusieurs fractions (Yu et al., 2007). Enfin, quatre exopolysaccharides de masses moléculaires différentes, allant de 50 kDa à 2260 kDa, ont également été rapportés par plusieurs chercheurs de *C. militaris* par plusieurs chercheurs (Kim et al., 2003 ; Yu et al., 2004).

Chez les espèces de *Cordyceps* l'adénine, l'adénosine, la guanosine ( $C_{10}H_{13}N_5O_5$ ), l'uracil ( $C_4H_4N_2O_2$ ), uridine ( $C_9H_{12}N_2O_6$ ) et inosine ( $C_{10}H_{12}N_4O_5$ ) peuvent être déterminées par une électrophorèse capillaire (Gong et al., 2004). D'après Pooja et anand (2014) les corps fructifères de *C. militaris* riches en différents composants biochimiques (Tab.4 et 5).

**Tableau 4** : La composition chimique de *C. militaris* (Pooja et anand, 2014).

Les Vitamines	Quantité (mg/g)
A	32.7
B1	12.4
B6	58.7
B12	69.3
B3	40.6
Les composants	Pourcentages (%)
Protéine	39.15
Trace élément	Quantité (ppm)
Cu	27.7
Se	0.35
Zn	127.1

**Tableau 5** : La composition de *C. militaris* mycélium (Wen-hung et al., 2007).

Composition	Unit/100g
Cordycépine	1.892 mg
Acide cordycepique	2.162 mg
Polysaccharide	4.200 mg
Superoxyde dismutase	31.2 U
Ca	251 mg
Mg	162 mg
Zn	23 mg
Se	0.23 mg
Les acides aminés essentielles	0.1-0.9 g
Les acides aminés non essentielles	0.1-1.1 g
Acide palmitique	1.8 mg
Acide gadoléique	3.7 mg
Vitamine A	0.08 mg
Vitamine B <sub>1</sub>	0.12 mg
Vitamine B <sub>2</sub>	0.49 mg
Vitamine B <sub>12</sub>	0.21 mg
Vitamine C	16.2 mg
β-carotène	0.43 mg

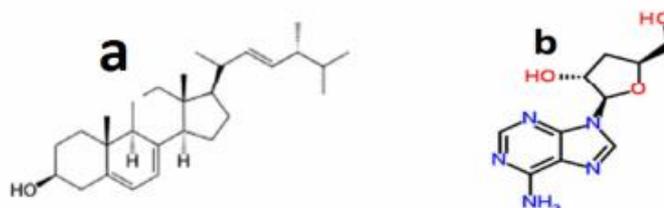
Le Mannitol (2,01g/100g) et le tréhalose (24,71g/100g) étaient les sucres libres trouvés chez *C. militaris*. Les acides gras polyinsaturés (68,87%) ont prédominé acides gras saturés (23,40%) et le d-tocophérol était la seule iso forme de la vitamine E détectée (55,86g / 100g). Les acides organiques trouvés dans ce champignon étaient les acides oxalique, citrique et fumarique (0,33, 7,97 et 0,13g/100g) respectivement. L'acide p hydroxy benzoïque était le seul acide phénolique quantifié dans cette espèce (0,02mg/100g). Cependant, de l'acide

cinnamique a également été trouvé (0,11mg/100g). L'extrait méthanolique de *C. militaris* s'est avéré inhiber la peroxydation des lipides, avoir un pouvoir réducteur et piéger les radicaux libres (Filipa et al., 2013). L'ergostérol, l'adénosine, la cordycépine, le peroxyde d'ergostérol et le mannitol ont une forte activité procoagulante (Zhang et al., 2018).

### III.6. La substances actives dans *C. militaris*

Il possède de nombreux types de actifs (tels comme la cordycépine, les polysaccharides, l'ergostérol et mannitol), et en raison de ses multiples composants, il est utilisé actuellement en plusieurs buts médicaux (Song et al., 1998; Mizuno, 1999; Nag et Wang, 2005).

Le constituant actif principal des organes de fructification de *C. militaris* est la cordycépine, un dérivé de l'adénosine nucléosidique. Cette molécule a été isolée pour la première fois à partir de *C. militaris* (Cunningham et al., 1950). D'autres composés avec l'activité pharmacologique ont été isolés de *C. militaris*, tels que l'ergostérol (un stérol présent dans les champignons), et les polysaccharides qui fournissent anti inflammatoire, antioxydant, anti tumoraux, anti-métastatiques, immun modulateurs, hypoglycémiant, stéroïdogènes et activités hypolipidémies (Ng et Wang, 2005). En fait, les polysaccharides des *Cordyceps* ont été largement étudiés (Fig.14).



**Figure 14** : les structures des composés : a:Ergostérol, b:Cordycépine (Legouill, 2012).

Les polysaccharides, l'un des plus importants composants actifs de *C. militaris*. Des études récentes ont montré que de nombreux complexes de polysaccharides naturels et de polysaccharides-protéines isolés de champignons peuvent être utilisés comme source d'agents thérapeutiques sans effets secondaires significatifs (Novak et Vetvicka, 2008).

### III.7. Activités biologiques de *C. militaris*

Un certain nombre d'activités biologiques de grande valeur a été rapporté chez *C. militaris* par plusieurs auteurs (Tab.6). Il a été révélé que la plupart des activités biologiques

plus ou moins similaires à celles de *Cordyceps sinensis*. Il a été rapporté que *Cordyceps militaris* possédait de nombreuses activités biologiques et pharmacologiques, notamment anti-inflammatoires, anti-oxydantes, anti-tumorales, antiprolifératives et antidiabétiques (Shih et al., 2007; Dong et al., 2013).

**Tableau 6** : Les activités biologiques de *C. militaris*.

Activité biologique	Références
Anti-inflammatoire	(Yu et al.,2004; Won et Park., 2005)
Anti-oxydant/anti-âge	(Yu et al.,2004; Chen et al., 2004)
Antitumoral / anticancéreux / anti-leucémique	(Liu et al.,1997; John et Adamason, 1976)
anti-proliférative	(Liu et al., 1997)
Pro-sexuel	(Yu et al., 2007)
Anti-métastatique	(Liu et al., 1997)
Immunomodulateur	(Lin et Chiang,2008; Sone et al., 1985)
Antimicrobienne	(Park, 1996)
Antibactérienne	(Ahn et al., 2000)
Antivirale	(Lin et Chiang, 2008)
Anti-fongique	(Mao et Zhong, 2006)
Antidiabétique	(Choi et al., 2004)
Neuroprotectrice	(Ribeizo, 1995)
Hypoglycémie	(Choi et al., 2004)
Réno-protecteur	(Zhao-Long et al., 2000)
Pneumo-protecteur	(Yu et al., 2007)

### III.8. Utilisations médicinales/applications cliniques de *C. militaris*

Bien qu'il soit bien connu comme un agent pro-sexuel, anti-inflammatoire et anticancéreux. il est actuellement utilisé pour de nombreux cas cliniques comme fonction pulmonaire insuffisante, toux, crachats, étourdissements, insuffisance de mémoire, myiodésopsie, insuffisance visuelle, virus du froid, en appétit, sueur nocturne, visage pâle, lèvres pâles, bourdonnement dans les oreilles, maux de dents et dents lâches, insomnie et soif, membres froids ou chauds, lumbago ou douleur dans les genoux, prostration nerveuse, diabète, énurésie nocturne, impuissance sexuelle, anémie et récupération lente de la maladie (Das et al., 2010). Les mycéliums ou les corps de fruits de *C. militaris*, traditionnellement utilisés comme remède à base de plantes et comme aliment tonique (wu, 2016).

### III.9. État actuel, limites et recours

Le *C. militaris* naturel est cher sur le marché local. Dans l'état actuel des choses, la production de cordycépine à partir du corps fructifère de *C. militaris* n'est pas susceptible d'atteindre des niveaux commerciaux en raison de certaines limites pratiques (Das et al., 2008). Par exemple, *C. militaris* est de nature très rare en raison des exigences des hôtes spécifiques et des environnements de croissance stricts (Das et al., 2010). D'autre part, il est nécessaire de noter que la synthèse chimique de la cordycépine nécessite un processus compliqué résultant en une productivité moindre. En outre, un grand volume de solvants organiques qui sont des substances nocives pour l'environnement peuvent être rejetées (Aman et al., 2000; Hansske et al., 1985).

Les études sur ces nouveaux composants du champignon *C. militaris* en ce qui concerne leur efficacité, leur profil d'innocuité, leur interaction indésirable, la normalisation appropriée, etc. doivent être menées en priorité non seulement par les fabricants respectifs, mais aussi par la pharmacie, la pharmacognosie et les entreprises médicinales (Das et al., 2010).

**PARTIE**

**EXPÉRIMENTALE**

**CHAPITRE I**  
*MATÉRIELS ET*  
*MÉTHODES*

## I. Matériels et méthodes

Le travail expérimental, ayant pour objet d'une étude *in vivo* de la toxicité aigüe et de l'activité cicatrisante de l'extrait aqueux de *Cordyceps militaris*. Les expériences consistent à induire des plaies sur le dos des animaux préalablement anesthésiés puis les traiter avec une crème à base de l'extrait aqueux de *C. militaris*. Le traitement a été effectué pendant 21 jours.

L'étude a été déroulée en 4 étapes :

- Test de toxicité aigüe de l'extrait aqueux de *C. militaris*.
- Formulation de la pommade de *C. militaris*.
- Induction de plaies par excision.
- Evaluation de la cicatrisation par :
  - Etude planimétrique avec mesure de la surface des plaies.
  - Etude histologique des biopsies cutanées.
  - Analyse statistique des résultats.

### I.1. Matériels

#### I.1.1. Matériel biologique

##### I.1.1.1. Matériel animal

Les animaux utilisés sont des rats de souche Wistar albinos de sexe mâle dont le poids varie entre 250 et 270 grammes. Ces animaux ont été reçus de l'Institut Pasteur (Alger, Algérie), hébergés par l'animalerie de l'université de Mostaganem. Les rats ont été installés dans des cages en plastiques où étaient nourris avec un aliment standard. Ils avaient libre accès à l'eau et à l'aliment et étaient placés dans les conditions de température ambiante (25°C +/-1°) avec une alternance diurne et nocturne normale (**Fig. 15**).



**Figure 15 :** Placement des rats dans des cages.

#### I.1.1.1.1. Répartition et traitement des animaux

Les animaux ont été répartis en 6 lots, le tableau résume les différents traitements (Tab. 7).

**Tableau 7 :** Répartition et traitement des plaies induites par excision chez les rats.

Lots	Traitements	Nombre de rats
Lot 1: (témoin négatif)	Rats non traités	5 rats mâles
Lot 2: (placébo)	Rats traités avec l'excipient seul, crème de base sans extrait de la plante.	5 rats mâles
Lot 3: Standard	Madecassol (médicament cicatrisant)	5 rats mâles
Lot 4: Extrait aqueux de <i>C.militaris</i> (5%)	Rats traités avec la pommade à 5% d'extrait aqueux de <i>C.militaris</i>	5 rats mâles
Lot 5: Extrait aqueux de <i>C.militaris</i> (10%)	Rats traités avec la pommade à 10% d'extrait aqueux de <i>C.militaris</i>	5 rats mâles

#### I.1.1.2. Matériel végétal

Un extrait aqueux de champignon médicinal, a été obtenu de l'institut des produits naturels d'Académie de science et technologie de Hanoi Vietnam. Il s'agit de Sk gold du mushroom *C. militaris* (Fig. 16).



**Figure 16 :** Extrait de Sk gold (mushroom).

## I.2. Méthode

### I.2.1. Test de toxicité aigüe

Ce protocole recommande l'utilisation d'animaux pour la prise unique d'une dose limite de 5000 mg/kg par voie orale. La toxicité aigüe de l'extrait aqueux de *C. militaris* a été évaluée chez des souris Swiss albinos de 32 à 45 g de poids corporel (PC). Ils ont été répartis par deux groupes de 6 souris chacun, groupe pour les animaux témoins et groupe pour les animaux traités. Ils ont été également mis sous une alternance de 12 heures de lumière et d'obscurité et nourris. 18 à 24h avant l'essai, ils ont été mis à jeun tout en recevant uniquement de l'eau. Les animaux ont été randomisés. Les souris témoins ont reçu de l'eau distillée et les groupes traités ont reçu l'extrait de *C. militaris* préalablement dissout dans l'eau distillée qui a servi de véhicule, est administré à chacun de souris à l'aide d'une seringue munie d'une sonde à gavage à bout rond. Après administration, les animaux ont été observés pendant : 15, 30 et 60 minutes afin de déceler des signes éventuels de toxicité puis quotidiennement pendant 14 jours. Les paramètres observés pendant les 14 jours étaient les suivants : le poids (diminution ou augmentation), la salivation, la prise alimentaire (l'appétit augmente ou diminue), la prise hydrique, l'attitude et les positions adoptées par les rats (agitation, calme), la survenue d'une mort et d'autres comportements (grattage, nettoyage). L'observation du comportement général des animaux en comparaison avec celui du groupe non traité. Après les 14 jours, les souris ont été sacrifiées et les organes (reins, foie et le cerveau) ont été conservé dans du formol à 10% pour un examen histopathologique (**Annexes 2. A et B**) (Azame et al., 2020).

### I.2.2.1. Paramètres biochimiques mesurés

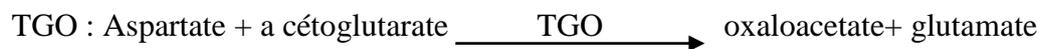
Les mesures des paramètres biochimiques sur les échantillons de sang prélevés (les animaux mise à jeun depuis la veille) sur tous les animaux juste avant le sacrifice ont été réalisés par le spectrophotomètre Mindray BA-88A; le test de formule numération sanguine (FNS) par l'automate d'hématologie GENIUS. Les paramètres biochimiques mesurés sont les suivants :

TGO, TGP, créatinine, urée sanguine. Chaque paramètre a une méthode de dosage spécifique et leur valeur lié au spectrophotomètre.

#### I.2.2.1.1. Méthode de dosage

##### *TGO et TGP (UI/L)*

Il s'agit d'un dosage colorimétrique selon les réactions suivantes :



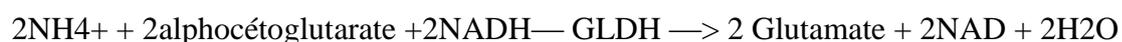
Le pyruvate ou l'oxaloacétate formés sont dosés sous forme de leurs dérivés 2,4 dinitrophénylhydrazones (**Sacoti, 2012**). Après avoir mis 1000 µl de réactif dans un tube à essai, 100 µl de sérum ont été ajouté. Immédiatement, la valeur de l'absorbance A a été mesurée par le spectrophotomètre UV a une longueur d'onde  $\lambda$  (= 505 nm). Chaque échantillon reste 3 min pour donner la valeur de A (**Gabriela et al., 2005**).

##### *Créatinine (mg/L)*

La créatinine réagit avec le picrate alcalin en donnant une coloration jaune orangé, mesurable à 520 nm, proportionnelle à la concentration de créatinine dans l'échantillon (**Pauly, 2012**). Dans un tube à essai, 500 µl ont été mise du 2<sup>ème</sup> réactif de créatinine, après avoir ajouté 500 µl du 1<sup>er</sup> réactif et 100 µl de sérum. La valeur de l'absorbance A a été mesurée directement par le spectrophotomètre UV (**Babadi, 2013**).

##### *Urée sanguine (g/L)*

La détermination enzymatique de l'urée par méthode cinétique se fait selon les réactions suivantes



GLDH= 2-L-Glutamate déshydrogénase (**Pauly, 2012**).

Après avoir mis 500  $\mu\text{l}$  du 1<sup>er</sup> réactif de l'urée sanguine dans un tube à essai et 5  $\mu\text{l}$  de sérum, 500  $\mu\text{l}$  du 2<sup>ème</sup> réactif ont été additionné 5 min après. La valeur de l'absorbance A a été lue après 10 min par le spectrophotomètre UV a une longueur d'onde  $\lambda$  (= 340 nm) (Babadi, 2013).

#### I.2.2.1.2. Test de FNS

Le test de l'FNS se fait par l'automate d'hématologie. La mesure a été basé sur les paramètres suivantes : Globules blancs, globules rouges, hémoglobine, hématocrite et plaquettes (Corre, 2016).

### I.2.3. Formulation de la pommade

#### I.2.3.1. Préparation de la crème de base

La préparation de la crème se fait par deux phases. La phase aqueuse a été constituée d'eau distillée et gomme de xanthane. Par contre, la phase grasse a été composée d'huile de tournesol, cire émulsifiante et conservateur (Tab. 8). Les 2 phases ont été chauffées séparément dans 2 récipients différents au bain marie. Lorsque les deux phases sont à la même température, la phase aqueuse a été versée petit à petit dans la phase grasse sans cesser d'agiter vigoureusement au mousser émulsionneur ou au batteur mousser. On ajoute le conservateur, en fouettant sans arrêt jusqu'à l'obtention d'un mélange homogène, et la crème ainsi obtenue a été laissée se refroidir à la température ambiante afin d'obtenir une belle texture mousseuse (Annexe 2. C).

**Tableau 8** : Les ingrédients pour préparer la crème de base.

Phases	Ingrédients
Phase aqueuse	Eau distillée
	Gomme de xanthane
Phase grasse	Huile de tournesol
	Cire émulsifiante
	Conservateur

#### I.2.3.2. Préparation de la pommade 5% et 10% de l'extrait

Les composants de la pommade à base d'extrait de champignon *C. militaris* (lyophilisat) ont été mélangés avec la crème de base, puis le mélange a été homogénéisé.

La pommade obtenue d'un aspect homogène a été conditionnée dans un pot en verre à l'abri de la lumière (**Fig. 17**).



**Figure 17** : Conditionnement de la pommade à base d'extrait de *C. militaris* 5% et 10 %.

### I.2.3.3. Test d'irritation cutanée

Le but de cette étude est d'évaluer le potentiel d'irritation cutanée de la crème à base d'extrait aqueux de *C. militaris* à partir d'une application topique unique (**Tab. 9 et 10**). Les rats sont traités par application de l'extrait au dos. La peau des animaux est observée pour des signes d'inflammations (érythème et œdème). Les signes d'irritations ont été évalués après 30 min, 24 h, 48 h et 72 h (**Djoko et al., 2019**).

**Tableau 9** : Evaluation du potentiel d'irritation cutanée de la crème à base d'extrait aqueux de *C. militaris* (Formation d'érythème et d'escarre).

Pas d'érythème	0
Érythème très léger (à peine perceptible)	1
Érythème bien défini	2
Érythème modéré à grave	3
Érythème grave (rouge violacé) à formation d'escarre empêchant la cotation de l'érythème	4

**Tableau 10** : Evaluation du potentiel d'irritation cutanée de la crème à base d'extrait aqueux de *C. militaris* (Formation d'œdème).

Pas d'œdème	0
Œdème très léger (à peine perceptible)	1
Œdème léger (pourtour de la zone œdémateuse bien délimité par une enflure nette)	2
Œdème modéré (enflure d'environ 1 mm)	3
Œdème grave (enflure de plus de 1 mm s'étendant au-delà de l'aire exposée)	4

#### I.2.4. Induction de plaies par excision

Après la pesée, les animaux ont été anesthésiés par inhalation d'éther diéthylique (Bhaskar et al., 2012). Ensuite, la partie dorsale des animaux a été épilée à l'aide d'une tendeuse zéro (Annexe 2. D) et désinfectée à l'aide de l'alcool chirurgical 70°, et d'une solution antiseptique à base de povidone iodée (Bétadine solution ND) (Annexe 2. E), appliquée avec des compresses. Une plaie circulaire de 2 cm<sup>2</sup> de diamètre a été créée sur la colonne vertébrale à l'aide d'un dispositif circulaire comportant une lame tranchante de 2cm de diamètre (Annexe 2. F) (Deleage, 2011). Les plaies ont été nettoyées avec de l'eau et séchées à l'aide d'un papier buvard, après Vingt-quatre heures de leur création.

0,5 g de crème de base a été appliqué sur les plaies des rats de lot Placébo. Tandis que 0,5 g de crème contenant de l'extrait à 5% sur les rats de lot de *C. militaris* 5% et 10% de sur lot de *C. militaris* 10% par un doux massage circulaire. Sachant que dans le 3<sup>ème</sup> lot a été appliqué par madécassol. Les rats ont subi une application quotidienne du produit sur la plaie, à la même heure une fois par jour pendant 21 jours.

#### I.2.5. Evaluation de la cicatrisation

L'évolution des lésions a été évaluée en utilisant comme paramètres : le temps d'épithélialisation, la présence d'exsudat, l'érythème et la formation de croûte (Tab. 11) sur la surface des plaies traitées avec la crème et non traité. Les résultats ont été enregistrés et comparés avec celui du lot témoin (Ernest et al., 2019).

**Tableau 11** : Paramètres d'évaluation de la cicatrisation.

Score	Erythème	Exsudat	L'apparition des bourgeons	Phase d'épithélialisation	Formation de croûtes
0	Absence totale de rougeur	Aucun exsudat	Aucune apparition des bourgeons	Aucune épithélialisation	Aucune formation de croûtes
1	Légère rougeur, juste visible	Juste visible	Juste visible	Juste visible	Juste visible
2	Rouge clair	Facilement visible	Facilement visible	Facilement visible	Facilement visible
3	Rouge sombre, par endroits	Quantité consistante	Quantité consistante	Quantité consistante	Quantité consistante
4	Rouge sombre, très large	Large quantité	Large quantité	Large quantité	Large quantité

### I.2.6.1. Etude planimétrique avec mesure de la surface des plaies

L'effet sur le temps de fermeture des plaies a été étudié, et la vitesse de contraction des plaies a également été calculée. Les plaies ont été observées et photographiées tous les 3 jours à la même heure et sous les mêmes conditions jusqu'à leur fermeture complète.

À la même heure, la surface des plaies a été mesurée par planimétrie directe. Pour ce faire, un papier acétate transparent a été placé directement sur la plaie, et son contour a été tracé avec un marqueur à pointe fine et le nombre de carreaux dans le contour a été compté pour déterminer la surface de la plaie (**Balazs, 2001**). La vitesse de la contraction de la plaie a été calculée par la formule ci-dessous

$$V = \text{Surface de la plaie initiale} - \text{Surface de la plaie cicatrisée} / \text{Surface de la plaie initiale}$$

### I.2.6.2. Etude histologique des biopsies cutanées

Des biopsies cutanées de 6 mm de diamètre sont réalisées immédiatement à la fin des expérimentations. Puis fixées au formol à 10%. L'étude histologique est réalisée selon le protocole de **Marck (2010)**.

#### I.2.6.2.1. Macroscopie

La réalisation des fragments a été faite pour chaque organe. Ensuite les introduire dans des cassettes d'inclusion marquées sur leur bord (**Annexe 2. G**).

Les cassettes d'inclusion sont traitées par plusieurs produits et dans plusieurs bacs comme suit

**I.2.6.2.2. Déshydratation**

- 1 bac d'éthanol 75% durant 30 min.
- 1 bac d'éthanol 95% durant 30 min.
- 1 bac d'éthanol 95% durant 30 min.
- 1 bac d'éthanol 100% durant 30 min.
- 1 bac d'éthanol 100% durant 30 min.

**I.2.6.2.3. Substitution**

- 1 bac de toluène / xylène 1 durant 30 min.
- 1 bac de toluène / xylène 2 durant 1 heure.
- 1 bac de toluène / xylène 3 durant 1 heure.

**I.2.6.2.4. Imprégnation**

- 1 bac de paraffine 1 durant 30 min (60°)
- 1 bac de paraffine 1 durant une nuit (60°)

**I.2.6.2.5. Inclusion et enrobage**

Afin de voir toutes les structures désirées lors de l'examen microscopique, le tissu est inclus dans un moule rempli de paraffine chauffé. De ce fait, des blocs ont été obtenus après le refroidissement des moules. Puis mise dans un congélateur pour donner des fines coupes (**Annexe 2. H**).

**I.2.6.2.6. Coupe**

Les coupes ont été réalisées à l'aide d'un microtome de modèle (micros razor). L'ensemble des tranches obtenues forme un ruban de qualité très fine (5µm). L'étalement des coupes sur des lames de verre effectué par la flottaison à la surface d'un cristalliseur (à 37°C contenant de l'eau distillée), afin d'éviter la formation de plis et de stries. Ensuite, les lames ont été chauffées dans une étuve à 45°C pendant une heure, pour faciliter l'adhérence des coupes sur la lame en verre avant l'étape de déparaffinage (**Annexe 2. I**).

**I.2.6.2.7. Déparaffinage**

La première étape de toute coloration d'une coupe histologique est d'éliminer la paraffine du tissu pour que les colorants puissent le pénétrer.

- 1 bac de toluène / xylène 1 durant 10 min.
- 1 bac de toluène / xylène 2 durant 10 min.

### I.2.6.2.8. Réhydratation

Consiste à substituer progressivement le solvant du tissu par des bains d'éthanol pour amener à l'eau.

- 1 bac d'éthanol à 100 % durant 2 min.
- 1 bac d'éthanol à 80 % durant 2 min.
- 1 bac d'éthanol à 70 % durant 2 min.
- Rinçage à l'eau durant 10 min.

### I.2.6.2.9. Coloration

- 1 bac d'hématoxyline d'Harris durant 10 min
- 1 bac de solution de lavage (eau) pour un simple rinçage 5 min.
- 1 bac (1% acide éthanol), juste pour deux trempages.
- 1 bac de solution de lavage (eau) pour un simple rinçage 3 min.
- 1 bac d'eau mélangé au carbonate de lithium (1% dans un bac d'eau), juste pour un trempage 2 à 3 fois.
- 1 bac de solution de lavage (eau) pour un simple rinçage juste pour un trempage 2 à 3 fois.
- 1 bac d'éosine (1% d'éosine dans d'éthanol à 96%) durant 10 min.
- 1 bac d'éthanol 70% (2 à 3 trempages).
- 1 bac d'éthanol à 100% (2 à 3 trempages).
- 1 bac d'éthanol à 100% (2 à 3 trempages).
- 1 bac de toluène / xylène 1 (2 à 3 trempages).
- 1 bac de toluène / xylène 2 durant 5 min, en laissant les lames dans le bac pour le montage.

### I.2.6.2.10. Montage

Une goutte d'une solution (EUKITT) est déposée permettant l'adhésion sur la lame. En présence d'une lame propre et sèche en inclinant progressivement cette dernière de façon que la solution s'étende peu à peu et recouvre la coupe sans emprisonner les bulles d'air. La lamelle est adhérente et la préparation est prête pour l'observation microscopique (**Annexe 2. J**).

### I.2.6.2.11. Lecture microscopique

La lecture est réalisée par une photo-microscopie de modèle (ZEISS) et chaque coupe est photographiée.

### **I.2.7. Analyse statistique des résultats**

Les résultats sont exprimés sous forme (surface moyenne  $\pm$  écart type), le test analytique adopté dans le travail est le test de Student dans le logiciel XLSTAT qui permet d'analyser les variances et déterminer la signification des résultats obtenues, la valeur de ( $p < 0,05$ ) est considéré comme significative.

**CHAPITRE II**  
*RÉSULTATS ET*  
*DISCUSSION*

## II.1. Résultats

### II.1.1. Test de toxicité

L'administration orale de l'extrait aqueux de *C. militaris* aux souris n'a induit aucun signe de toxicité aigüe au cours d'observation (de comportement des animaux, mort, coma...) (**Tab. 12**).

**Tableau 12** : Les signes cliniques de test de toxicité à la dose de 5000mg/Kg PC de l'extrait aqueux de *C. militaris*.

Signes cliniques	Souris non traitées = Témoins (Eau)		Souris traitées ( <i>Cordyceps militaris</i> )	
Miction	Normale	Normale	Normale	Normale
Ingestion de nourriture	Normale	Normale	Normale	Normale
Consommation d'eau	Normale	Non	Non	Non
Respiration	Normale	Normale	Normale	Normale
Convulsions	Non	Non	Non	Non
Tremblements	Non	Non	Non	Non
Agressivité	Non	Non	Non	Non
Locomotion	Diminuée	Diminuée	Diminuée	Diminuée
Réaction aux stimuli*	Non	Non	Non	Non
Matières fécales	Non	Non	Non	Non
Mortalité**	Non	Non	Non	Non

\* La réaction aux stimuli correspond au bruit extérieur comme le claquement des mains par exemple \*\* Pour la mortalité, les souris ont été observées jusqu'à 48 h après administration de l'extrait ou de l'eau distillée.

#### Paramètres biochimiques mesurés de l'extrait aqueux de *C. militaris*

Pour chaque paramètre mesuré, nous présentons la valeur moyenne avec l'écart-type pour les témoins et les souris traités. Les tableaux ci-dessous et les figures suivantes (histogrammes graphiques pour chaque paramètre) présentent les concentrations des différents paramètres biochimiques -plasmatiques

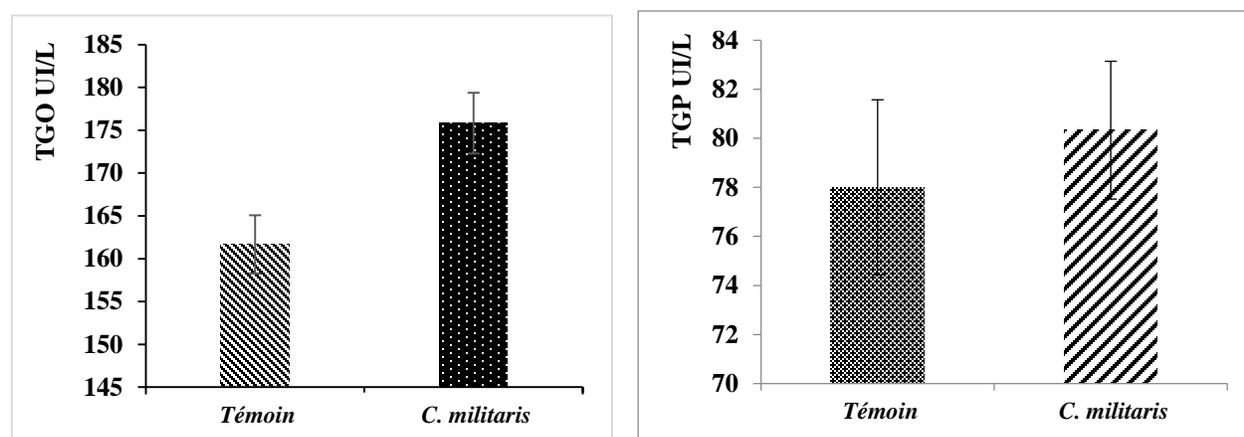
### II.1.1.1.1. TGP et TGO

Le tableau (Tab. 13) et la figure ci-dessous (Fig. 18) montrent les résultats de la concentration de TGP et TGO des souris témoins et traités avec l'extrait aqueux de *C. militaris*.

**Tableau 13** : Résultats de TGP et TGO des souris témoins et traités avec *C. militaris*.

	TGP (UI/L)	TGO (UI/L)
<b>Témoin</b>	78 ± 3.56	161.66 ± 3.39
<b><i>C. militaris</i></b>	80.33 ± 2.80	175.83 ± 3.53

Chaque valeur représente la moyenne ± Ecart type. (\*)  $P < 0.05$  ; (\*\*)  $P < 0.01$  ; (\*\*\*)  $P < 0.001$  : Différence significative par rapport au témoin.



**Figure 18** : Histogrammes de TGO et TGP des souris témoins et traités avec *C. militaris*. Chaque valeur représente la moyenne ± Ecart type. (\*)  $P < 0.05$  ; (\*\*)  $P < 0.01$  ; (\*\*\*)  $P < 0.001$  : Différence significative par rapport au témoin.

Le dosage de TGO et TGP de souris traitées avec l'extrait aqueux de *C. militaris* est presque compatibles à celle des souris témoins. De ce fait, aucune signification différente à celle des souris témoins n'a été montrée. En conséquence, aucun signe de toxicité hépatique

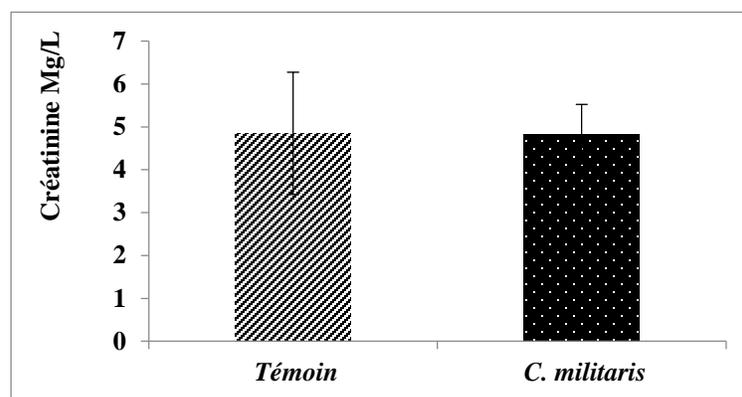
### II.1.1.1.2. Créatinine

Le tableau (Tab. 14) et la figure ci-dessous (Fig. 19) montrent les résultats de la concentration de la créatinine sérique des souris témoins et traités avec l'extrait aqueux de *C. militaris*.

**Tableau 14** : Concentration de la créatinine sérique des souris témoins et traités avec *C. militaris*.

	Créatinine (Mg/L)
<b>Témoin</b>	4.85 ± 1.42
<b><i>C. militaris</i></b>	4.83 ± 0.69

Chaque valeur représente la moyenne ± Ecart type. (\*)  $P < 0.05$  ; (\*\*)  $P < 0.01$  ; (\*\*\*)  $P < 0.001$  : Différence significative par rapport au témoin.



**Figure 19 :** Histogrammes de la créatinine sérique des souris témoins et traités avec *C. militaris*. Chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  Ecart type. (\*)  $P < 0.05$  ; (\*\*)  $P < 0.01$  ; (\*\*\*)  $P < 0.001$  : Différence significative par rapport au témoin.

La concentration en créatinine de souris traitées avec l'extrait aqueux de *C. militaris* est analogue à celle des souris témoins. Pour cela, aucun changement significatif n'a été observé pour la concentration de la créatinine ce qui confirme que *C. militaris* n'a aucun effet toxique sur ce paramètre.

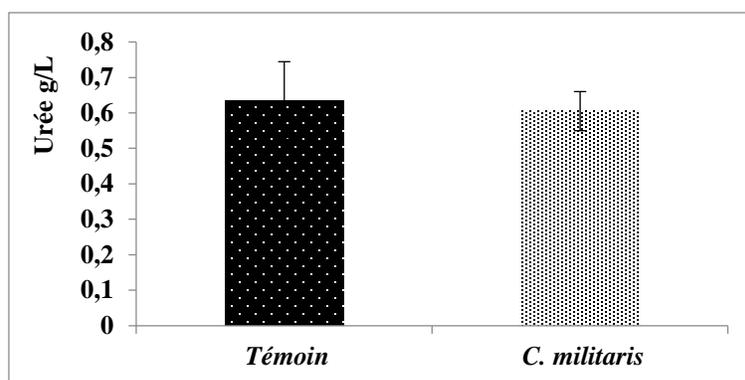
### II.1.1.1.3. Urée sanguine

Le tableau (Tab. 15) et la figure ci-dessous (Fig. 20) montrent les résultats d'urée sanguine des souris témoins et traités avec l'extrait aqueux de *C. militaris*.

**Tableau 15 :** Concentration de l'urée sanguine des souris témoins et traités avec *C. militaris*.

	Urée sanguine g/L
<b>Témoin</b>	0.63 $\pm$ 0.10
<b><i>C. militaris</i></b>	0.60 $\pm$ 0.05

Chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  Ecart type. (\*)  $P < 0.05$  ; (\*\*)  $P < 0.01$  ; (\*\*\*)  $P < 0.001$  : Différence significative par rapport au témoin.



**Figure 20 :** Histogrammes de l'urée sanguine des souris témoins et traitées avec *C. militaris*. Chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  Ecart type. (\*)  $P < 0.05$  ; (\*\*)  $P < 0.01$  ; (\*\*\*)  $P < 0.001$  : Différence significative par rapport au témoin.

La concentration en urée de souris traitées avec l'extrait aqueux de *C. militaris* est semblable à celle de souris témoins et aucun changement significatif n'a été observé pour la concentration de l'urée. Ce qui confirme que *C. militaris* n'a aucun effet toxique sur ce paramètre.

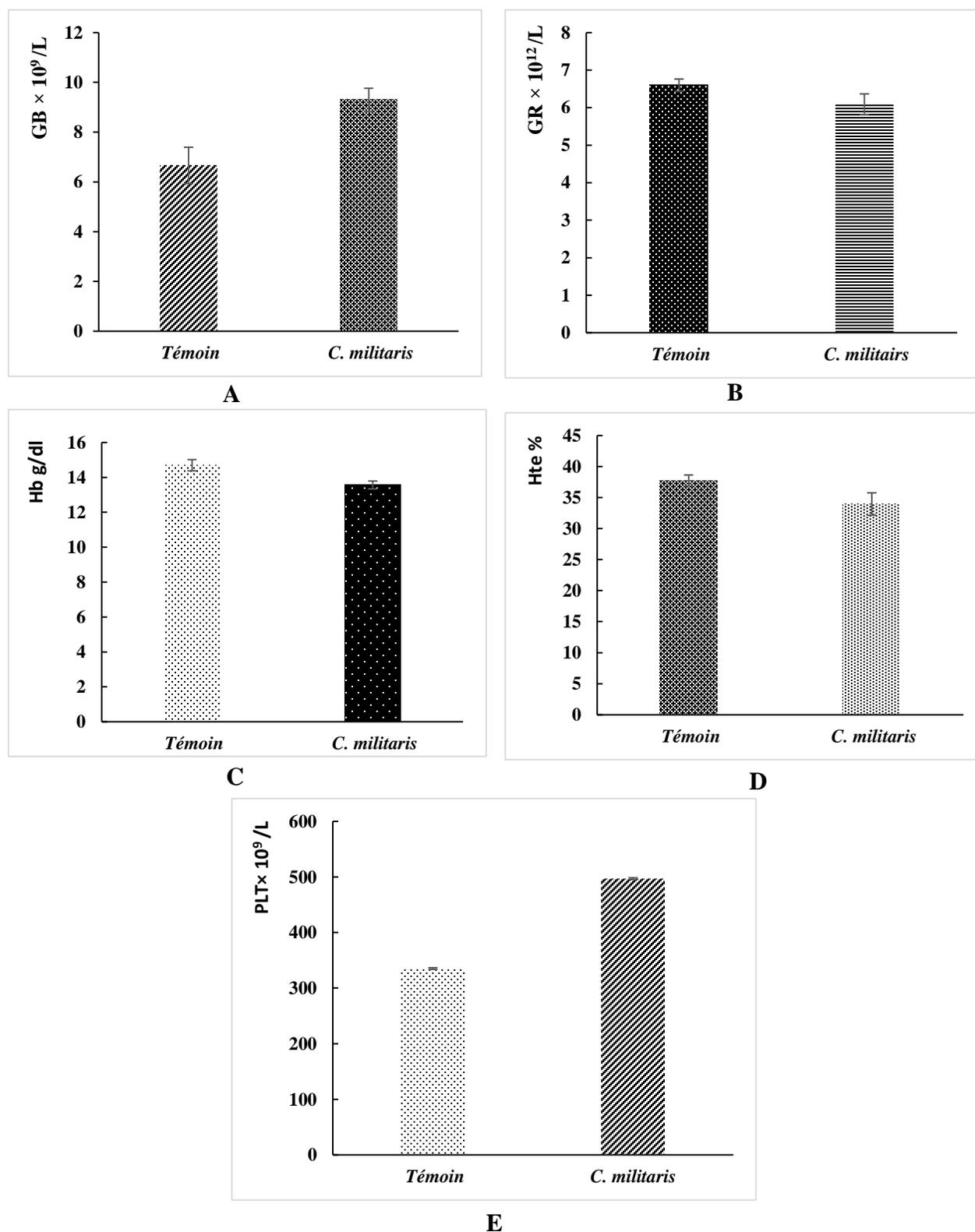
#### II.1.1.1.4. FNS

Le tableau (**Tab. 16**) et la figure ci-dessous (**Fig. 21**) montrent les résultats de FNS des souris témoins et traitées avec l'extrait aqueux de *C. militaris*.

**Tableau 16 :** Résultats de FNS des souris témoins et traitées avec *C. militaris*. **GB**:Globules blancs; **GR**:Globules rouges; **Hb**:Hémoglobine; **Hte**:Hématocrites; **PLT**:Plaquettes.

	GB $\times 10^9/L$	GR $\times 10^{12}/L$	Hb g/dl	Hte %	PLT $\times 10^9$
<b>Témoin</b>	6.66 $\pm$ 0.73	6.60 $\pm$ 0.16	14.69 $\pm$ 0.32	37.77 $\pm$ 0.89	335.16 $\pm$ 1.57
<b><i>C. militaris</i></b>	9.29 $\pm$ 0.47	6.08 $\pm$ 0.27	13.57 $\pm$ 0.22	33.98 $\pm$ 1.79	497 $\pm$ 1.78

Chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  Ecart type. (\*)  $P < 0.05$  ; (\*\*)  $P < 0.01$  ; (\*\*\*)  $P < 0.001$  : Différence significative par rapport au témoin.

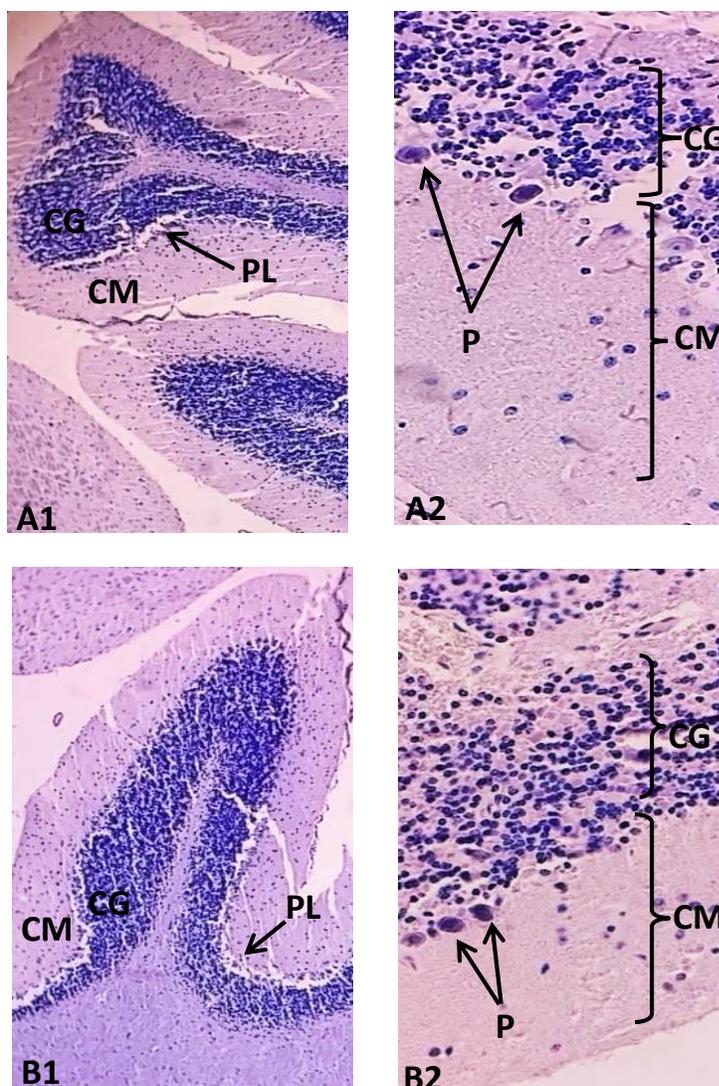


**Figure 21** : Résultats de FNS des souris témoins et souris traitées avec *C. militaris* . **A**:globules blancs; **B**:globules rouges; **C**:hémoglobine; **D**:hématocrites; **E** plaquettes. Chaque valeur représente la moyenne ± Ecart type. (\*)  $P < 0.05$  ; (\*\*)  $P < 0.01$  ; (\*\*\*)  $P < 0.001$  : Différence significative par rapport au témoin.

Concernant le FNS, les résultats des souris traitées avec l'extrait aqueux de *C. militaris* ont montré que les globules blancs, les globules rouges, l'hémoglobine, les hématocrites et les plaquettes, presque similaire à celle du souris témoins. Ainsi, qu'il n'y a aucune différence statistique significative de souris traitées avec l'extrait aqueux de *C. militaris* par comparaison à celle de souris témoins. C'est-à-dire, il n'y a pas donc aucun effet toxique sur ces paramètres.

#### **II.1.1.2 Résultats de l'étude histologique des organes**

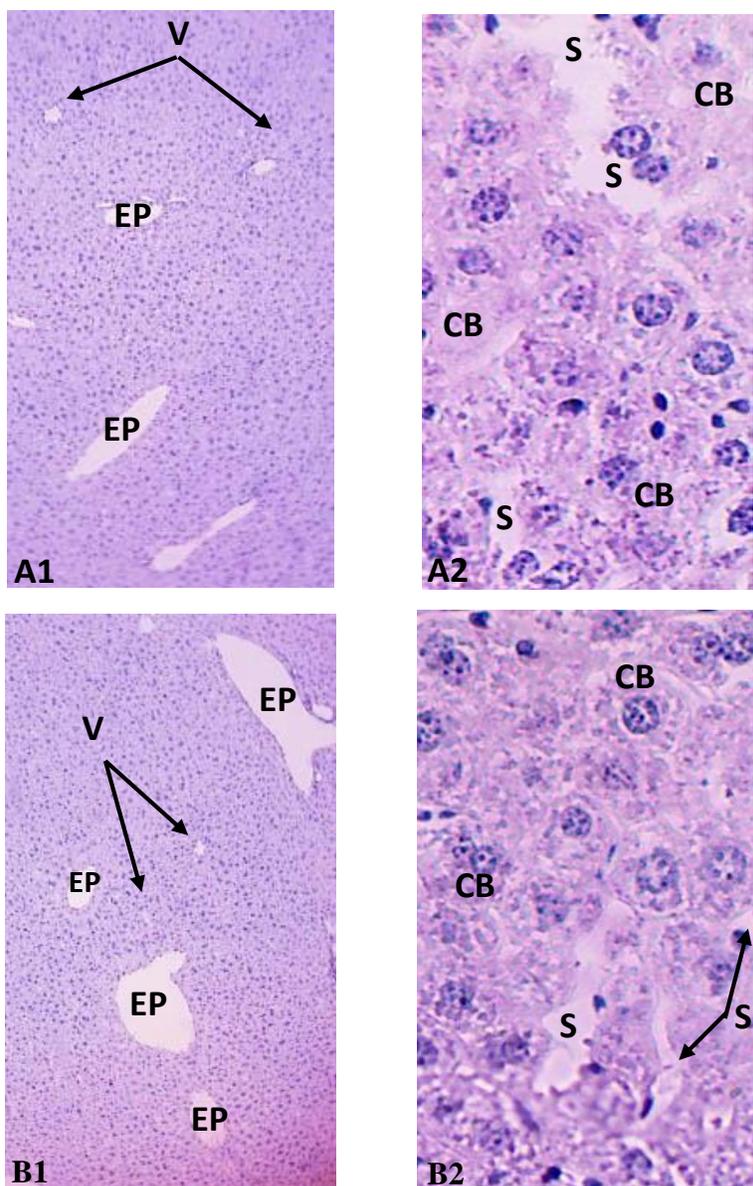
Les figures ci-dessous (**Fig. 22, 23, 24**) présentent les résultats de l'étude histologique des organes (cerveau, foie, rein) des souris témoins et traités avec l'extrait aqueux de *C. militaris*.



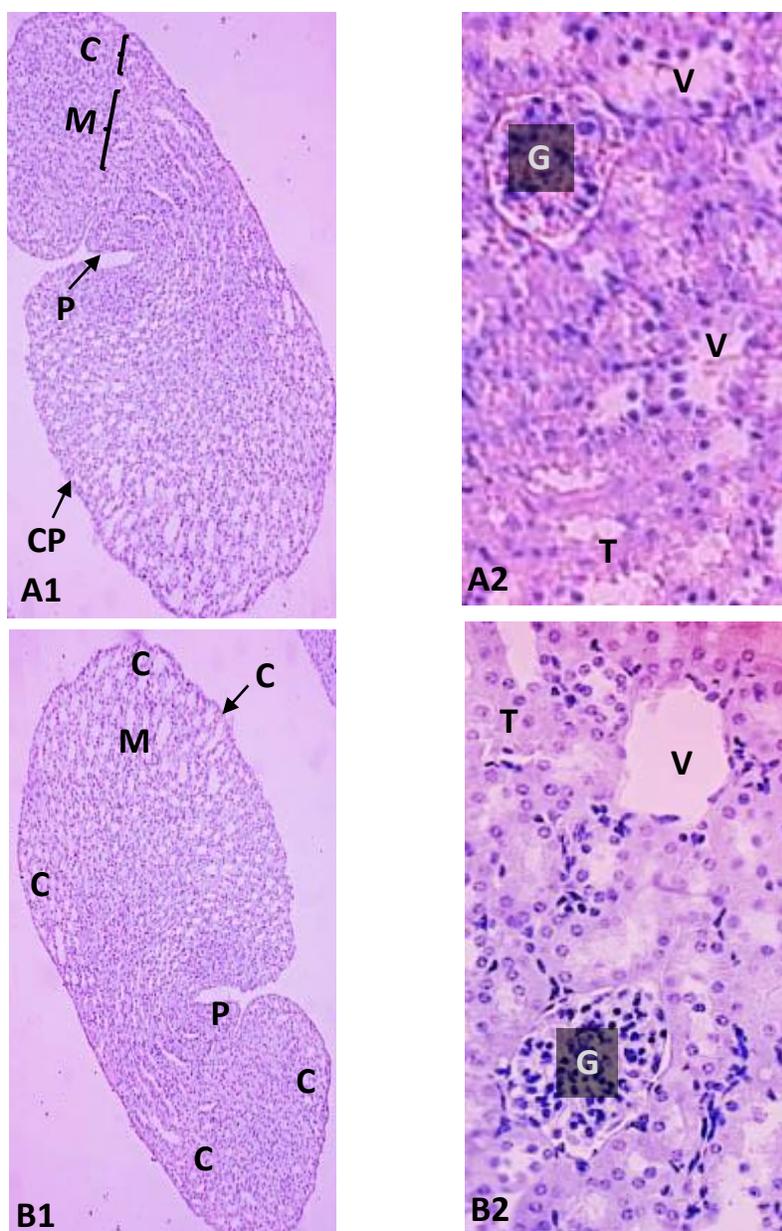
**Figure 22** : Observation microscopique d'une coupe histologique des cerveaux des souris témoins et souris traités avec l'extrait de *C. militaris*. **A1**: Coupe histologique du cerveau de souris témoin  $\times 10$ ; **A2**: Coupe histologique du cerveau de souris témoin  $\times 40$ ; **B1**: Coupe histologique du cerveau de souris traité avec l'extrait de *C. militaris*  $\times 10$ ; **B2**: Coupe histologique du cerveau de souris traité avec l'extrait de *C. militaris*  $\times 40$ . **CG**: Couche granulaire (couche des grains); **CM**: Couche moléculaire; **PL**: Couche des cellules de Purkinje; **P**: Cellule de Purkinje.

Les examens histopathologiques du cerveau n'ont pas révélé de changements pathologiques entre les animaux témoins et les animaux traités avec l'extrait aqueux de *C. militaris*. Les résultats montrent une morphologie de couches granulaire, moléculaire et couche des cellules

de Purkinje normale. Ainsi que la cellule de Purkinje régulière sans aucun signe de nécrose ou d'inflammation.



**Figure 23** : Observation microscopique d'une coupe histologique des foies de souris témoins et souris traités avec l'extrait de *C. militaris*. **A1**: Coupe histologique du foie de souris témoin  $\times 10$ ; **A2**: Coupe histologique du foie de souris témoin  $\times 40$ ; **B1**: Coupe histologique du foie de souris traité avec l'extrait de *C. militaris*  $\times 10$ ; **B2**: Coupe histologique du foie de souris traité avec l'extrait de *C. militaris*  $\times 40$ ; **EP** : Espace porte; **V** : Veinule Centrobullaire (hépatique); **CB** : Hépatocyte binucléé; **S**: Cellule bordant le sinusoiide.



**Figure 24 :** Observation microscopique d'une coupe histologique des reins de souris témoins et souris traités avec l'extrait de *C. militaris*. **A1:**Coupe histologique du rein de souris témoin  $\times 10$ ; **A2:**Coupe histologique du rein de souris témoin  $\times 40$ ; **B1:**Coupe histologique du rein de souris traité avec l'extrait de *C. militaris*  $\times 10$ ; **B2:**Coupe histologique du rein de souris traité avec l'extrait de *C. militaris*  $\times 40$ ; **C:** Cortex; **M:**Médulla; **P:**Papille; **CP:**Capsule; **G:**Glomérule; **V:**Veine interlobaire; **T:**Tubule.

Les résultats histopathologiques de l'architecture du foie des animaux témoins et des animaux traités avec l'extrait aqueux de *C. militaris* est presque les mêmes, avec une morphologie normale des hépatocytes, la veine centrale et les triades portales. Il n'y avait aucun signe de nécrose ou d'inflammation.

Aucun changement n'a été observé dans la fonction rénale chez les animaux témoins et les animaux traité avec l'extrait aqueux de *C. militaris*. C'est-à-dire une absence de changements histologiques. De ce fait, il n'y avait aucun signe de nécrose dans le cortex et morphologie normale des glomérules et tubule.

### **II.1.2. Test d'irritation de l'extrait de *C. militaris***

Aucun signe d'inflammation (érythème ou œdème) n'a été observé sur le dos des rats après l'application de l'extrait de *C. militaris*. L'indice d'irritation primaire cutanée obtenu permet de considérer cet extrait comme non irritant.

### **II.1.3. Evaluation de la cicatrisation des plaies traitées avec différentes pommades**

L'aspect macroscopique a été évalué par un score d'évaluation. Le Tableau présente la comparaison des moyennes des scores de l'aspect des plaies au jour 0, 3, 6, 9, 12, 15,18 et 21 (**Tab. 17**). L'analyse des résultats révélait une amélioration de l'aspect des plaies par une diminution d'érythème et d'exsudat.

**Tableau 17 :** Effets des pommades sur les paramètres des plaies en fonction des scores. Chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  Ecart type. (\*)  $P < 0.05$  ; (\*\*)  $P < 0.01$  ; (\*\*\*)  $P < 0.001$  : Différence significative par rapport au témoin.

	Extraits Jours	J0	J3	J6	J9	J12	J15	J18	J21
		<b>Erythème</b>							
	Témoin	3.6 $\pm$ 0.5	3 $\pm$ 0	3 $\pm$ 0	3 $\pm$ 0	2.8 $\pm$ 0.4	2.6 $\pm$ 0.5	2.4 $\pm$ 0.5	2.2 $\pm$ 0.4
	Placébo	3.8 $\pm$ 0.4	2.8 $\pm$ 0.4	2.4 $\pm$ 0.5	2 $\pm$ 0.7	1.8 $\pm$ 0.4*	1.4 $\pm$ 0.5*	1.4 $\pm$ 0.5*	1.2 $\pm$ 0.4*
	Madécassol	3 $\pm$ 0	2 $\pm$ 0***	1.6 $\pm$ 0.5**	1.2 $\pm$ 0.4***	1.2 $\pm$ 0.4***	1.2 $\pm$ 0.4**	1.2 $\pm$ 0.4**	1 $\pm$ 0**
	<i>C. militaris</i> 5%	3.8 $\pm$ 0.4	2.8 $\pm$ 0.4	2.2 $\pm$ 0.4**	1.8 $\pm$ 0.4**	1.4 $\pm$ 0.5**	1.2 $\pm$ 0.4**	1 $\pm$ 0**	0.6 $\pm$ 0.5**
	<i>C. militaris</i> 10%	3 $\pm$ 0	2.2 $\pm$ 0.4**	2 $\pm$ 0.7	1.4 $\pm$ 0.5**	1.2 $\pm$ 0.4**	1.2 $\pm$ 0.4*	1 $\pm$ 0**	0.8 $\pm$ 0.4**
<b>Exsudat</b>									
	Témoin	0.8 $\pm$ 0.4	0.8 $\pm$ 0.4	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
	Placébo	0.2 $\pm$ 0.4	0.2 $\pm$ 0.4	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
	Madécassol	0 $\pm$ 0*	0 $\pm$ 0*	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
	<i>C. militaris</i> 5%	0 $\pm$ 0*	0 $\pm$ 0*	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
	<i>C. militaris</i> 10%	0 $\pm$ 0*	0 $\pm$ 0*	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
<b>L'apparition des bourgeons</b>									
	Témoin	0 $\pm$ 0	1 $\pm$ 0	1.4 $\pm$ 0.5	2 $\pm$ 0	1 $\pm$ 0	1 $\pm$ 0	1.6 $\pm$ 0.5	1 $\pm$ 0
	Placébo	0 $\pm$ 0	1 $\pm$ 0	1.6 $\pm$ 0.5	2 $\pm$ 0	1.8 $\pm$ 0.4***	1 $\pm$ 0	0.8 $\pm$ 0.4	0.8 $\pm$ 0.4
	Madécassol	0 $\pm$ 0	1 $\pm$ 0	2 $\pm$ 0	2.4 $\pm$ 0.5	3 $\pm$ 0***	3 $\pm$ 0***	1.6 $\pm$ 0.5	0.4 $\pm$ 0.5*
	<i>C. militaris</i> 5%	0 $\pm$ 0	1 $\pm$ 0	1.4 $\pm$ 0.5	2.4 $\pm$ 0.5	3 $\pm$ 0***	2.6 $\pm$ 0.5**	1.6 $\pm$ 0.5	0.6 $\pm$ 0.5
	<i>C. militaris</i> 10%	0 $\pm$ 0	1 $\pm$ 0	2 $\pm$ 0	2.6 $\pm$ 0.5	3.4 $\pm$ 0.5***	3 $\pm$ 0***	2 $\pm$ 0	0.2 $\pm$ 0.4*
<b>Phase d'épithélialisation</b>									
	Témoin	0 $\pm$ 0	1 $\pm$ 0	1 $\pm$ 0	1.2 $\pm$ 0.4	1.8 $\pm$ 0.4	1.6 $\pm$ 0.5	1 $\pm$ 0	1 $\pm$ 0
	Placébo	0 $\pm$ 0	1 $\pm$ 0	1.6 $\pm$ 0.5	1.6 $\pm$ 0.5	2 $\pm$ 0	1.2 $\pm$ 0.4	0.8 $\pm$ 0.4	0.8 $\pm$ 0.4
	Madécassol	0 $\pm$ 0	1 $\pm$ 0	2 $\pm$ 0***	2.4 $\pm$ 0.5*	3 $\pm$ 0*	2.4 $\pm$ 0.5	1.6 $\pm$ 0.5	0.4 $\pm$ 0.5*
	<i>C. militaris</i> 5%	0 $\pm$ 0	1 $\pm$ 0	1.4 $\pm$ 0.5	2.4 $\pm$ 0.5*	3 $\pm$ 0***	2.4 $\pm$ 0.5	1.4 $\pm$ 0.5	0.4 $\pm$ 0.5*
	<i>C. militaris</i> 10%	0 $\pm$ 0	1 $\pm$ 0	2 $\pm$ 0***	2.6 $\pm$ 0.5*	3.4 $\pm$ 0.5**	2.4 $\pm$ 0.5	1.2 $\pm$ 0.4	0.2 $\pm$ 0.4*
<b>Formation de croûtes</b>									
	Témoin	0 $\pm$ 0	0.4 $\pm$ 0.5	1 $\pm$ 0	1.2 $\pm$ 0.4	1.6 $\pm$ 0.5	1.4 $\pm$ 0.5	1 $\pm$ 0	1 $\pm$ 0
	Placébo	0 $\pm$ 0	1 $\pm$ 0	1.6 $\pm$ 0.5	2.2 $\pm$ 0.8*	1.6 $\pm$ 0.5	1.2 $\pm$ 0.4	0.8 $\pm$ 0.4	0.6 $\pm$ 0.5
	Madécassol	0 $\pm$ 0	1.4 $\pm$ 0.5	2.4 $\pm$ 0.5**	3.4 $\pm$ 0.5**	2.4 $\pm$ 0.5	1.4 $\pm$ 0.5	0.4 $\pm$ 0.5	0 $\pm$ 0***
	<i>C. militaris</i> 5%	0 $\pm$ 0	1.6 $\pm$ 0.5	2.8 $\pm$ 0.4***	3.4 $\pm$ 0.5**	2.4 $\pm$ 0.5	2.2 $\pm$ 0.4	1.2 $\pm$ 0.4	0.2 $\pm$ 0.4*
	<i>C. militaris</i> 10%	0 $\pm$ 0	1.6 $\pm$ 0.5	2.6 $\pm$ 0.5**	3.6 $\pm$ 0.5**	2.8 $\pm$ 0.4*	1.8 $\pm$ 0.4	0.8 $\pm$ 0.4	0 $\pm$ 0***

D'après les résultats, un érythème a été observé dans tous les lots à partir du 0 jour. Par contre, sa diminution a été progressive pendant les 21 jours.

Concernant le lot de placebo par rapport au témoin aucune signification n'a été montrée. En revanche, dès le 12<sup>ème</sup> jour une signification ( $P<0,05$ ) a été observée jusqu'au 21<sup>ème</sup> jour.

Pour le lot de Madécassol, dans les trois premiers jours, aucune signification de l'érythème par rapport au témoin n'a été examinée. Par contre, dès le 3<sup>ème</sup> jour une signification ( $P<0,001$ ) a été observé jusqu'à le 6<sup>ème</sup> jour et une diminution significative ( $P<0,01$ ) dans le 6<sup>ème</sup> jour. De plus, à partir de 9<sup>ème</sup> jour une augmentation significative a été montrée ( $P<0,001$ ) jusqu'à le 15<sup>ème</sup> jour. Ensuite, Dès le 15<sup>ème</sup> jour, une diminution significative a été dévoilée ( $P<0,01$ ) jusqu'au 21<sup>ème</sup> jour.

L'application topique de pommade de *C. militaris* (5%), n'a montré aucune signification de l'érythème par rapport au lot témoin dans les premiers 6 jours. Dès le 6<sup>ème</sup> jour, une signification a été observé ( $P<0,01$ ) jusqu'à 21<sup>ème</sup> jour.

Lot de *C. militaris* (10%), n'a présenté aucune signification de l'érythème dans les 3 premiers jours par rapport au témoin. Et dans le 6<sup>ème</sup> jour, une absence significative a été contemplée. Par contre, du 9<sup>ème</sup> jour jusqu'au 21<sup>ème</sup> jour une augmentation significative ( $P<0,01$ ) a été décelée.

Pour l'exsudat, une absence a été noté de cette dernière dans chacun des lots Madécassol, *C. militaris* (5% et 10%), et une présence de l'exsudat en lot de témoin et Placebo dans les 3 premiers jours.

L'apparition des bourgeons à débiter dès le 3<sup>ème</sup> jour dans tous les lots, et elle augmente dans chacun des lots de témoin et placebo jusqu'à le 9<sup>ème</sup> jour. Après le 9<sup>ème</sup> jour, elle commence à diminuer progressivement dans les jours qui suivent l'observation. Dans les lots de Madécassol, *C. militaris* (5% et 10%) un accroissement a été remarquée jusqu'au 12<sup>ème</sup> jour, plus élevée que les lots témoin et placebo. En revanche, Dès le 12<sup>ème</sup> jour, une diminution progressive a été remarquée jusqu'au dernier jour d'observation.

Au jour 12, une signification ( $P<0,001$ ) d'apparition des bourgeons notait pour tous les lots par rapport au lot témoin. Au jour 15, une diminution significative observait pour lot de *C. militaris* 5% et absence significative pour le lot de placebo, ceci jusqu'au 21<sup>ème</sup> jour. Une stabilité significative au 15<sup>ème</sup> jour a été examiné pour les lots de *C. militaris* 10% et Madécassol, suivie par une diminution significative ( $P<0,05$ ) au 21<sup>ème</sup> jour.

La phase d'épithélialisation à débiter dès le 3<sup>ème</sup> jour, dans tous les lots. Ensuite, elle augmente dans chacun des lots de témoin et placebo jusqu'à le 9<sup>ème</sup> jour. Après le 9<sup>ème</sup> jour, elle a commencé à diminuer progressivement dans les jours d'observation qui suivent. Dans les lots de Madécassol, *C. militaris* (5% et 10%) une augmentation significative a été remarquée jusqu'au 12<sup>ème</sup> jour, plus élevée que lots témoin et placebo. Dès le 12<sup>ème</sup> jour une diminution graduelle rapide a été remarquée jusqu'au dernier jour d'observation.

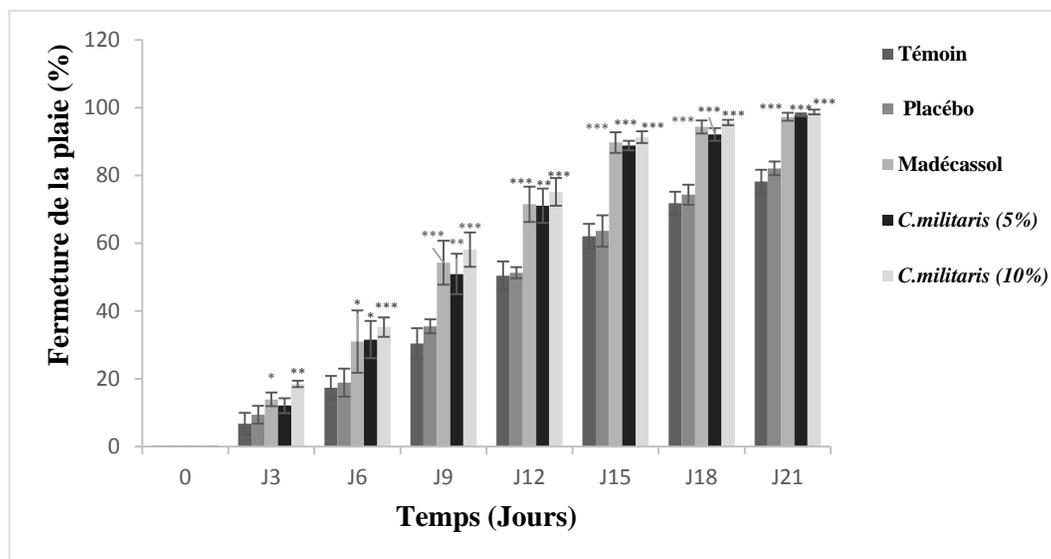
Aux lots de Madécassol et *C. militaris* 10%, la signification de la phase d'épithélialisation apparaît à partir du 6<sup>ème</sup> jour ( $P < 0.001$ ) par rapport au lot témoin. Aux jours 9 et 21, une différence significative par rapport au témoin ( $P < 0.01$ ,  $P < 0.05$  respectivement) a été décelée. Concernant le lot de *C. mlilitaris* 5%, dès le 12<sup>ème</sup> jour, une signification ( $P < 0.05$ ) par rapport au lot témoin a été exhibé. Par contre, une augmentation significative au 15<sup>ème</sup> jour a été remarqué et au jour 21 une diminution significative observait ( $P < 0.001$ ).

La formation des croûtes à commencer à partir du jour 3, dans tous les lots. Ensuite, elle augmente dans chacun des lots de témoin et placebo jusqu'au 9<sup>ème</sup> jour. Après cela, elle a commencé à diminuer progressivement dans le reste des jours d'observation. Dans les lots de Madécassol, *C. militaris* (5% et 10%), une augmentation significative de la formation des croûtes a été remarquée ( $P < 0.01$ ) jusqu'au 12<sup>ème</sup> jour, plus élevée que lots témoin et placebo. Dès celui-ci, une diminution graduelle plus vite était observé jusqu'au dernier jour du test.

Pour le lot de placebo, une signification de la formation des croûtes a été noté au jour 9 par rapport au lot témoin ( $P < 0.05$ ). Aux lots de Madécassol et *C. militaris* 10%, la signification apparaît à partir du 9<sup>ème</sup> jour ( $P < 0.01$ ) par rapport au lot témoin. 9<sup>ème</sup> et 18<sup>ème</sup> jours, une différence significative par rapport au témoin ( $P < 0.01$ ,  $P < 0.05$ ). Le 21<sup>ème</sup> jour, une augmentation significative ( $P < 0.001$ ) par rapport au lot témoin. À propos de lot de *C. mlilitaris* 5%, dès le 6<sup>ème</sup> jour une signification de la formation des croûtes ( $P < 0.001$ ) par rapport au lot témoin a été montrée, une diminution significative ( $P < 0.01$ ) au 12<sup>ème</sup> jour et au 21<sup>ème</sup> jour ( $P < 0.05$ ).

### II.1.3.1 Etude planimétrique avec mesure de la surface des plaies traités avec différentes pommades

L'évolution de la surface des plaies des rats, observés sur une période de 21 jours est représentée sur la figure ci-dessous (**Fig. 25**).



**Figure 25 :** Effets d'extraits sur la vitesse de contraction des surfaces des plaies dans le temps. Chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  Ecart type. (\*)  $P < 0.05$  ; (\*\*)  $P < 0.01$  ; (\*\*\*)  $P < 0.001$  : Différence significative par rapport au témoin.

Les surfaces des plaies traitées avec le placebo n'ont présenté aucune signification pendant les 21 jours par rapport au témoin. La surface moyenne des plaies traitées avec l'excipient soit une contraction de 82,07 % au 21<sup>ème</sup> jour.

Les plaies traitées à la pommade Madécassol ont montré une signification de surface par rapport au témoin dans les 3 premiers jours ( $P < 0,05$ ). Dès le 6<sup>ème</sup> jour, une augmentation significative de surface par rapport au témoin ( $P < 0.001$ ). La surface moyenne des plaies traitées avec Madécassol soit une contraction de 97,284 % au 21<sup>ème</sup> jour.

Les plaies traitées par l'extrait de *C. militaris* (5%) ont montré une signification de surface par rapport au témoin dans les 6 premiers jours ( $P < 0,05$ ). Dès le 9<sup>ème</sup> jour jusqu'au 12<sup>ème</sup> jour, une augmentation significative de surface ( $P < 0.01$ ) a été montrée. Après le 15<sup>ème</sup> jour et jusqu'au 21<sup>ème</sup> jour, une augmentation hautement significative ( $P < 0.001$ ) était observée. La surface moyenne des plaies traitées avec *C. militaris* (5%) soit une contraction de 97,866 % au 21<sup>ème</sup> jour.

Les plaies traitées par l'extrait *C. militaris* (10%) dévoilait une augmentation hautement significative de surface dans les 21 jours par rapport au témoin ( $P < 0,001$ ). La surface moyenne des plaies traitées avec *C. militaris* (10%) soit une contraction de 98,688 % au 21<sup>ème</sup> jour.

### II.1.3.2. Effets de la Pommades sur les plaies par excision

Une observation macroscopique des pommades par rapport au témoin a été évaluée pendant 21 jours. La figure présente une vue macroscopique des plaies au jour 0, 3, 6, 9, 12, 15, 18 et 21 (Fig. 26).

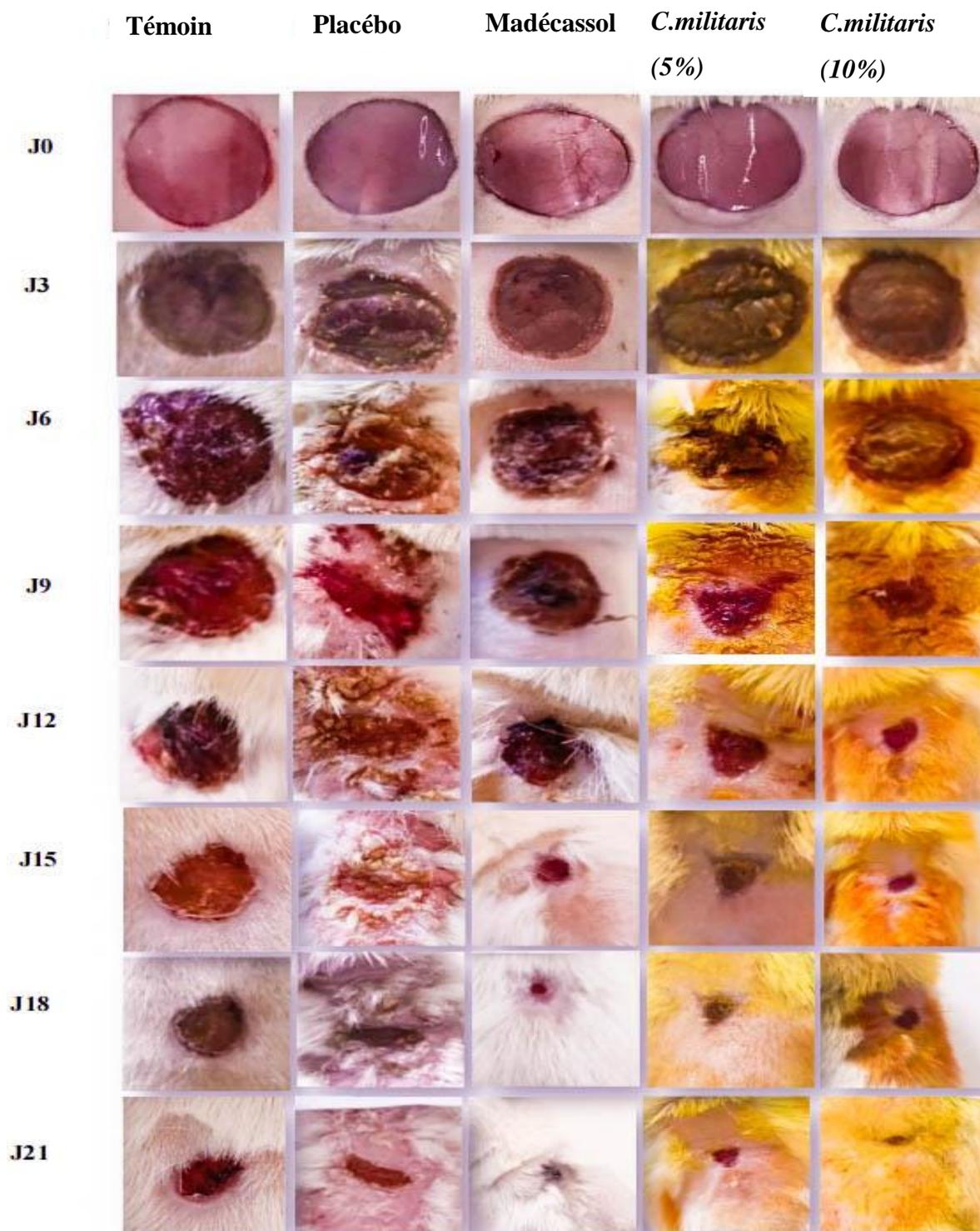
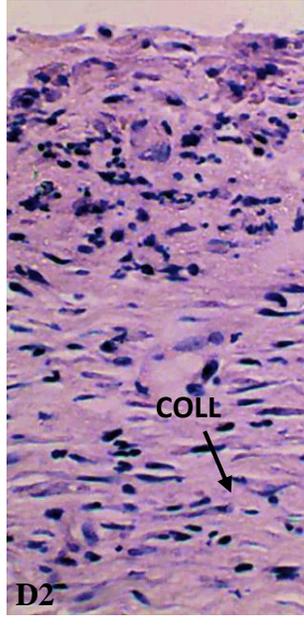
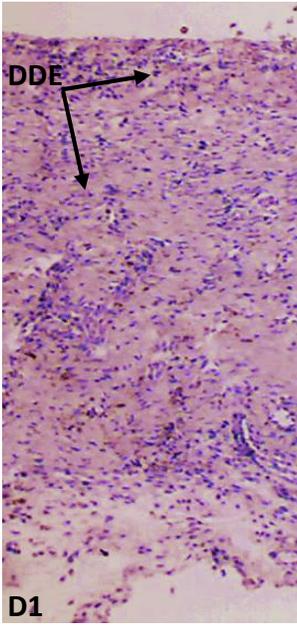
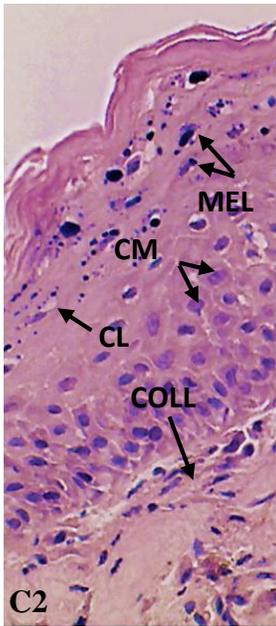
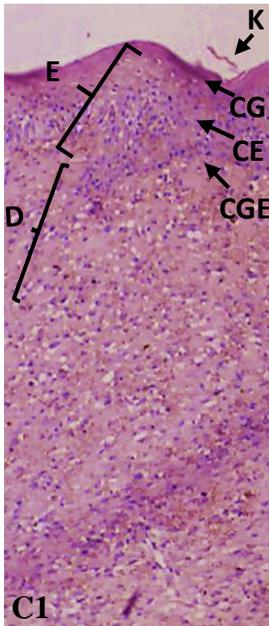
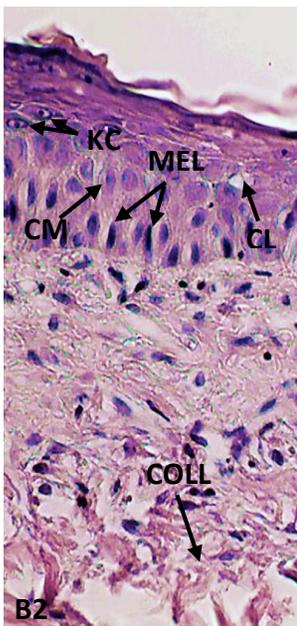
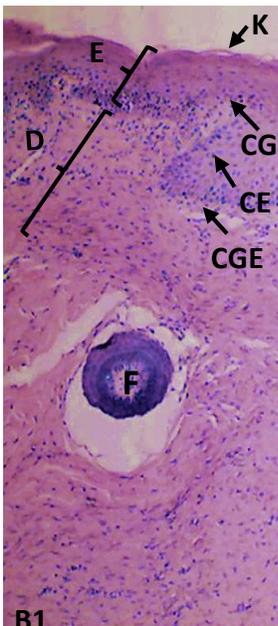
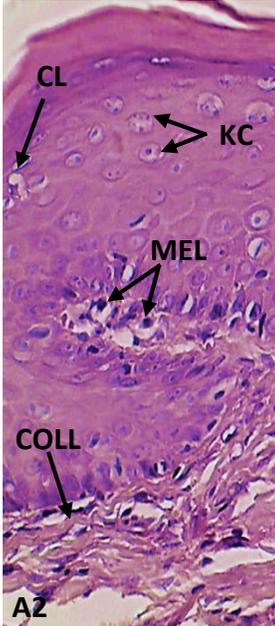
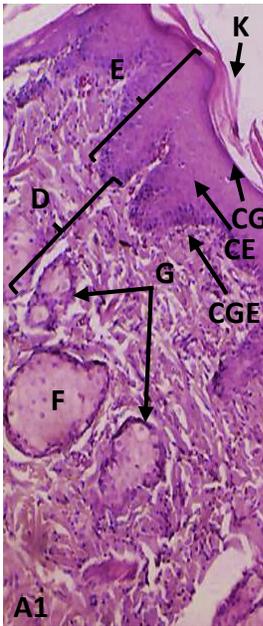


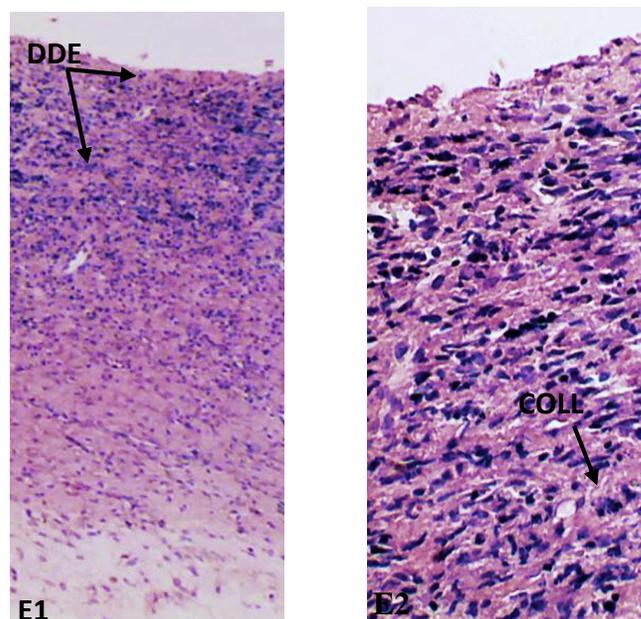
Figure 26 : Chronologie de contraction des plaies.

L'évaluation de l'aspect macroscopique des plaies apparaissent moins enflammées avec l'évolution des jours. De plus, Les plaies traitées avec *C. militaris* ont montré une meilleure évolution que les plaies traitées avec Madécassol, Placébo et les plaies témoins. Par ailleurs, au 21<sup>ème</sup> jour, elles se sont contractées respectivement de 78,14%, 82,07%, 97,28%, 97,86% et 98,68%, pour le lot témoin, le lot traité avec Placébo, le lot traité avec Madécassol, le lot traité avec *C. militaris* 5% et *C. militaris* 10%.

### **II.1.3.3. Etude histologique des biopsies cutanées des rats traités avec différentes pommades**

La figure ci-dessous (**Fig. 27**) montre les résultats de l'étude histologique des biopsies cutanées des rats traités avec différentes pommades.





**Figure 27** : Observation microscopique d'une coupe histologique des rats traités avec différentes pommades. **A1**:Observation microscopique d'une coupe histologique de derme du rat traité avec l'extrait de *C. militaris* (10%)  $\times 10$ ; **A2**:Observation microscopique d'une coupe histologique de derme du rat traité avec l'extrait de *C. militaris* (10%)  $\times 40$ ; **B1**:Observation microscopique d'une coupe histologique de derme du rat traité avec l'extrait de *C. militaris* (5%)  $\times 10$ ; **B2**:Observation microscopique d'une coupe histologique de derme du rat traité avec l'extrait de *C. militaris* (5%)  $\times 40$ ; **C1**:Observation microscopique d'une coupe histologique de derme du rat traité avec du Madécassol  $\times 10$ ; **C2**:Observation microscopique d'une coupe histologique de derme du rat traité avec du Madécassol  $\times 40$ ; **D1**:Observation microscopique d'une coupe histologique de derme du rat témoin  $\times 10$ ; **D2**:Observation microscopique d'une coupe histologique de derme du rat témoin  $\times 40$ ; **E1**:Observation microscopique d'une coupe histologique de derme du rat traité avec placebo (crème de base)  $\times 10$ ; **E2**:Observation microscopique d'une coupe histologique de derme du rat traité avec placebo (crème de base)  $\times 40$ ; **K**:Kératine; **E**:Epiderme; **D**:Derme; **CG**:Couche granuleuse; **CE**:Couche épineuse; **CGE**:Couche germinative; **G**:Glande sébacées; **F**:Follicule pileux; **CL**:Cellule de Langerhans; **KC**:Kératinocytes; **MEL**:Mélanocytes; **COLL**:Collagène; **DDE**:Destruction du derme et de l'épiderme; **COLL**:Collagène.

Les résultats histologiques montrent que l'induction des plaies par excision a détruit les deux couches du tissu cutané (épiderme, derme) dans les lots de témoin et placebo, et la reconstruction des deux couches dans les lots de Madécassol, *C. militaris* 5% et 10%. Le traitement journalier par la pommade de Madécassol et *C. militaris* (5% et 10%), induit un processus de cicatrisation autant sur les plaies par excision dans les lots 3, 4, 5 (Madécassol, *C. militaris* 5% et 10%), où l'on observe après 21 jours de traitement, le derme et l'épiderme. En effet, l'application topique de la pommade a induit la reconstitution de l'organisation de la structure de la peau et une

cicatrisation superficielle dans les 3 lots. En revanche, on constate dans les lots 1 et 2 (témoin et placebo) la présence de collagène (COLL), mais il n'y a pas de reconstitution des couches du derme et d'épiderme.

## II.2. Discussion

Cette étude avait pour le but d'évaluer l'activité cicatrisante de *Cordyceps militaris*. L'étude sur la toxicité aiguë de cet extrait n'a révélé aucun effet toxique de l'extrait aqueux de *C. militaris* à la dose de 5000 mg/kg de poids corporel aux souris. Un comportement normal de ces derniers par rapport aux souris témoins. Ainsi que n'a provoqué aucun signe de toxicité et mortalité dans les premières 24 heures de l'expérience et cela jusqu'au 14<sup>ème</sup> jour. Ces constatations est concorde avec l'étude menée par **Long et al (2020)**, qui a travaillé sur la toxicité de *Cordyceps* chinois.

Les produits biochimiques sériques (créatinine, urée, TGO et TGP) sont utilisés comme biomarqueurs pour mesurer l'activité hépatique (**Brandt et al., 2009; Lameire et al., 2005**). Les études biochimiques concernées par la mesure des paramètres biologiques suivante : l'ALAT (TGO), l'ASAT (TGP) urée sanguine, créatinine et FNS ont montré que les deux enzymes hépatiques (ASAT et ALAT) jouent un rôle de transfère d'un groupe amine lors des nombreux processus chimiques qui se déroulent au niveau hépatique (**Rye, 2009**). Leur activité est proportionnelle au degré de dommages hépatiques (**Sacoti, 2012**). Ils sont donc deux bons indicateurs de l'hépatotoxicité (**She, 2009; Song et al., 2007**). Le dosage de leur activité a révélé que les souris traitées dépourvu de l'activité de l'ALAT et aucune signification différente à celle des souris témoins. De même pour l'ASAT, aucune signification de son activité du souris traités par comparaison à celle des souris témoins. Donc à propos de la toxicité hépatique, il n'y a aucun effet toxique de l'extrait aqueux de *C. militaris*.

L'urée et la créatinine sont des marqueurs significatifs de la fonction rénale (**Pauly, 2012**). Il apparaît que la concentration en urée et en créatinine du souris traités est compatibles à celle du souris témoins, avec aucun changement significatif n'a été observé. Ce qui confirme que *C. militaris* n'a aucun effet toxique sur les reins durant le traitement. De même, des études ont montré l'absence de la néphrotoxicité chez des rats administré l'extrait aqueux de *C. militaris* par voie orale avec des différents doses de 2000, 3000 et 4000 mg/kg poids corporel (**Jhou et al., 2018**).

Concernant le FNS, les résultats ont montré que les globules blancs, les globules rouges, l'hémoglobine, les hématocrites et les plaquettes n'ont aucune différence statistique significative

de souris traitées par comparaison à celle des souris témoins. C'est-à-dire, aucun effet toxique sur ces paramètres. Ceci a été confirmé par d'autres auteurs (**Jhou et al., 2018**).

L'examen histopathologique des organes et des tissus est le meilleur moyen d'évaluer les changements pathologiques liés au traitement (**Lulekal et al., 2019**). En outre, Les examens histopathologiques du cerveau n'ont pas révélé de changements pathologiques. Le résultat montre une morphologie de couches de granulaire, moléculaire et couche des cellules de Purkinje normale. Ainsi que la cellule de Purkinje régulière sans aucun signe de nécrose ou d'inflammation.

Dans l'étude actuelle, l'architecture du foie des animaux témoins et des animaux traités est presque la même, avec une morphologie normale des hépatocytes, la veine centrale et les triades portales. Il n'y avait aucun signe de nécrose. Le foie est le principal site de biotransformation et de défense contre les éléments étrangers du corps humain (**Baratli et al., 2013**). Alors l'activité de ces enzymes est normalement utilisée pour évaluer la fonction de foie. En temps normal, ces enzymes résident dans les cellules du foie. Mais quand le foie est blessé, ces enzymes sont renversées dans la circulation sanguine (**Babes et al., 1999**).

En outre, aucun changement n'a été observé dans la fonction rénale chez les animaux de traitement que chez les animaux témoins, comme en témoigne l'absence de changements histologiques. De ce fait, il n'y avait aucun signe de nécrose dans le cortex et morphologie normale des glomérules et tubule. Le rein est le principal organe de filtration et d'élimination de toxiques présents dans la circulation. Certaines nanoparticules sont excrétées par les reins (**Mirkovic et al., 2010**).

L'application topique de la pommade à base d'extrait aqueux de *C. militaris* n'a pas provoqué d'irritation de la peau.

Concernant les résultats des plaies en fonction des scores, la présence d'érythème et d'exsudat a été observée dans tous les lots à partir du 0 jour. Puis une diminution progressive pendant les 21 jours était remarquée. De plus, l'application de placebo a inhibé assez lentement l'érythème et l'exsudat, l'ensemble de ces phénomènes explique l'augmentation très lente de la vitesse, du temps de l'apparition des bourgeons, de la phase d'épithélialisation, et la formation des croûtes. Ceci est dû à l'absence de substances actives responsables de raccourcissement effectif du temps de ré-épithélialisation (**Ernest et al., 2019**). De ce fait, l'application de la pommade à base de *C. militaris* a inhibé assez rapidement l'érythème, l'exsudat et les mauvaises odeurs. En conséquence, l'ensemble de ces phénomènes explique l'augmentation de la vitesse, du temps de

l'apparition des bourgeons, de la phase d'épithélialisation, et la formation des croûtes. La réduction de l'érythème et de l'exsudat confirme que ce champignon pourrait agir sur la phase inflammatoire, comme l'avait démontré **Chiu et al (2016)** en étudiant l'activité anti-inflammatoire du mycélium de *C. militaris*. La résultante logique de cet effet anti-inflammatoire précoce de la pommade serait le raccourcissement effectif du temps de ré-épithélialisation (**Ernest et al., 2019**).

L'évolution de la surface des plaies des rats, pendant les 21 jours a représentée des effets d'extraits sur la vitesse de contraction des surfaces des plaies. L'étude planimétrique autorise donc une évaluation quantitative directe par le calcul de la surface de la plaie, de son évolution dans le temps et par déduction d'une appréciation de la qualité du tissu de granulation d'après les travaux de **Farahaniet Kloth en 2008**.

L'évaluation de l'aspect macroscopique des plaies qui apparaissent moins enflammées avec l'évolution des jours, suggère que la plante est capable de moduler la réponse inflammatoire. Les travaux de **Bahramikia et Yazdanparast en 2012** rapportent aussi que l'accélération du processus cicatriciel peut être liée au pouvoir anti-inflammatoire par la formation de complexes neutralisant de nombreux agents irritants.

Les plaies traitées avec *C. militaris* ont montré une meilleure évolution que les plaies traitées avec Madécassol, Placébo et les plaies témoins. Par ailleurs au 21<sup>ème</sup> jour, elles se sont contractées respectivement de 78,14%, 82,07%, 97,28%, 97,86% et 98,68%, pour le lot témoin, le lot traité avec Placébo, le lot traité avec Madécassol, le lot traité avec *C. militaris* 5% et *Cordyceps militaris* 10%.

On peut déduire d'après l'examen macroscopique, le pourcentage d'inhibition et l'évaluation histopathologique, que toutes les plaies traitées par l'extrait de *C. Militaris* ont semblé mieux cicatriser que Madécassol, le témoin et placébo. Les différences entre les principaux constituants des extraits peuvent expliquer les résultats de l'étude.

Les résultats montrent clairement que la pommade à base de *C. militaris* a une activité cicatrisante. L'effet cicatrisant peut-être lié à des principaux constituants de l'extrait. D'après **Pooja et Anand (2014)**, le *C. militaris* contient 32mg/g de vitamine A. Depuis plus de 60 ans, la vitamine A est liée Avec la cicatrisation des plaies, en particulier la réparation épithéliale (**Brandaleone, 1941**). Néanmoins, peu d'information disponible jusqu'en 1968, date à laquelle Ehrlich découvrit que La vitamine A stimule spécifiquement la cicatrisation des plaies qui a été retardé par les hormones stéroïdes anti-inflammatoires (**Ehrlich et Hunt, 1968**). Peu de temps

après, **Herrmann et Woodward (1972)** ont montré que la cicatrisation des plaies pouvait être stimulée chez les animaux normaux par l'administration locale ou systémique de vitamine A.

La vitamine A est un antioxydant qui facilite l'afflux de monocytes et de macrophages au niveau de la plaie, ainsi que la différenciation et la prolifération des cellules épithéliales. La synthèse, la réticulation du collagène et la résistance à la traction sont augmentées. Une supplémentation par de très fortes doses de vitamine A, a été proposée en cas de plaies sévères. Mais son intérêt demande à être confirmé (**Misset et Desport, 2020**).

D'après **Wen-hung et al (2007)**, le *C. militaris* contient 16.2 mg de vitamine C et le zinc 23 mg. Les micronutriments les plus particulièrement impliqués sont La vitamine C et le zinc. La vitamine C est un cofacteur indispensable de la proline et de la lysine-hydroxylase, impliquées dans la synthèse du collagène. La vitamine C a également un Rôle anti-infectieux en agissant sur l'activité des polynucléaires Neutrophiles et du complément. La carence en vitamine C est responsable du scorbut qui se manifeste par des signes généraux et cutanéomuqueux : elle entraîne un ralentissement et une mauvaise qualité de la cicatrisation en réduisant la synthèse de collagène, en diminuant la résistance aux infections et en altérant l'angiogenèse (**Fontaine et Raynaud-Simon, 2008**). La vitamine C est un antioxydant qui participe à la synthèse de collagène en tant que cofacteur de la proline et de la lysine, et qui stimule les fonctions des neutrophiles. La supplémentation en vitamine C ou l'utilisation de doses supraphysiologiques n'améliorent pas la cicatrisation chez les patients non déficients. Mais pourraient être efficaces en cas d'agression ou de plaie sévère (**Ellinger et stehle, 2009**).

Le zinc est un cofacteur de la synthèse de l'acide Ribonucléique, de l'acide désoxyribonucléique et Donc des protéines. Il favorise la prolifération cellulaire, l'immunité et la résistance à l'apoptose (**Barbul et Purtill, 1994**).

D'après **Pooja et Anand (2014)** le *Cordyceps militaris* contient 0.35 mg/g de sélénium, qui jouerait un rôle important dans la cicatrisation des grands brûlés (**Barbul, 2006; Chow et Brabul, 2014**). Des études suggèrent que de fortes doses intraveineuses de zinc, de sélénium et de cuivre favoriseraient l'amélioration de la cicatrisation par diminution du recours à la greffe cutanée.

D'après **Pooja et Anand (2014)**, le *Cordyceps militaris* contient 27.7 mg/g de cuivre. Récemment, des études ont clairement montré que les nanoparticules sont une plateforme importante pour le traitement des plaies cutanées (**Jahromi et al., 2018; Wang et al., 2017**). Parmi les nanoparticules, le Cu est bien connu pour son activité antimicrobienne et on sait depuis

longtemps qu'il joue un rôle direct dans l'angiogenèse. Il a également été démontré que le cuivre a un rôle potentiel dans le processus de cicatrisation des plaies en régulant le processus de cicatrisation. Dans le processus de cicatrisation des plaies en régulant le niveau d'expression de 84 Gènes qui sont associés à l'angiogenèse et à la réparation des plaies (**Borkow et al., 2010**).

Le *Cordyceps militaris* contient 39.15 mg/g de protéine (**Pooja et anand, 2014**). Les protéines sont nécessaires à la prolifération cellulaire, à la synthèse du collagène et du tissu conjonctif, et à l'angiogenèse (**Banks et al., 2010; Stechmiller, 2010**).

Ainsi que le *Cordyceps militaris* contient une quantité de Polysaccharide (4.200 mg) (**Wen-hung et al., 2007**). Les polysaccharides sont des macronutriments les plus efficaces pour la synthèse de collagène (**Misset et Desport, 2020**).

Les résultats de l'étude histologique des biopsies cutanées des rats traités avec différentes pommades confirment l'effet cicatrisant de la pommade à base de *Cordyceps militaris*. D'après **Ernest et al (2019)**, le tissu sain de la peau est constitué de deux grandes parties : l'épiderme, avec au niveau apical une couche de kératine (E), couche granuleuse (CG), couche épineuse (CE), couche germinative (CGE) et le derme principalement constitué du collagène (COLL). Les micrographies obtenues après analyse histologique montrent que l'induction des plaies par excision a détruit ces deux couches du tissu cutané dans tous les lots. Le traitement journalier par la pommade de Madécassol et *C. militaris* (5% et 10%), induites un processus de cicatrisation autant sur les plaies par excision dans les lots 3, 4, 5 (Madécassol, *C. militaris* 5% et 10%), où l'on observe après 21 jours de traitement le derme et l'épiderme. En effet, l'application topique de la pommade a induit la reconstitution de l'organisation de la structure de la peau et une cicatrisation superficielle dans les 3 lots. En revanche, on constate dans les lots 1 et 2 (témoin et placebo) la présence de collagène (COLL). Mais il n'y a pas de reconstitution des couches du derme et d'épiderme. Enfin, cette cicatrisation est complète dès le jour 21. La force tensile de la peau dépend de sa teneur en collagène et de sa structure en bande croisées (**Diegelmann et Evans, 2004**). C'est le collagène qui procure la résistance mécanique. L'augmentation modérée de la force tensile cutanée chez les animaux après application de l'extrait aqueux de *C. militaris* serait peut-être dû à la richesse en collagène organisé en bande chez les rats soumise en traitement. Donc, l'étude histologique a montré l'effet dose de *C. militaris* qui accélère la cicatrisation et cela par rapport au témoin, Placebo et Madécassol. Par conséquent, la pommade à base de *C. militaris* a prouvé son efficacité dans la cicatrisation et dans la vitesse de contraction de la plaie. De ce fait, la crème de *C. militaris* à

10% a présenté le meilleur résultat en matière d'activité de cicatrisation en comparaison avec *C. militaris* 5% et Madécassol.

**CHAPITRE III**  
CONCLUSION ET  
PERSPECTIVES

## Conclusion et perspectives

Récemment, les champignons ont attiré une attention particulière des chercheurs médicaux et pharmacologiques comme une source riche de composés biologiquement actifs. Parmi les champignons utilisés dans la médecine traditionnelle. Le *Cordyceps militaris* en Asie orientale est utilisée comme une source abondante de produits naturels utiles ayant diverses activités biologiques. Ce travail présente des résultats d'une expérimentation réalisée pour évaluer la toxicité aigüe et les effets cicatrisants de ce champignon.

La toxicité aigüe évaluée sur les souris a montré que l'extrait aqueux de *C. militaris* n'induit aucun effet toxique à la dose de 5000 mg/Kg de poids corporel. Aussi, les analyses biochimiques ont dévoilé que le TGO, TGP, l'urée, créatinine, les globules blancs, les globules rouges, l'hémoglobine, les hématocrites et les plaquettes, ont un résultat similaire à celle des souris témoins. De ce fait il n'y a pas un effet toxique sur ces paramètres. Ces résultats ont été confirmés par des études histologiques. Pour les coupes histologiques, les organes étudiés (cerveau, foie et rein) n'ont pas révélé de changements pathologiques négatifs par rapport aux organes de témoin. L'application topique de la pommade à base de *C. militaris* pendant les 21 jours n'a montré aucun signe d'érythème ou exsudat. Les signes de l'inflammation dans les plaies traitées avec la pommade à base de *C. militaris* 10% sont moins marqués qu'au niveau des plaies traitées avec *C. militaris* 5%, Madécassol, Placébo et les témoins. En effet, l'utilisation de *C. militaris* 10% a entraîné une meilleure accélération du processus cicatriciel. Ce qui confirme la relation effet/dose.

Des études histologiques ont été réalisées sur la peau des animaux a confirmé que l'effet de la pommade à base de *C. Militaris* 10% a présenté un meilleur résultat en matière d'activités de cicatrisation en comparaison avec *C. militaris* 5%, le Madécassol, Placébo et les témoins. On peut donc conclure que la pommade à base de *C. militaris* présente une activité prometteuse pour la cicatrisation des plaies.

L'ensemble de ces résultats ne constitue qu'une première étape dans la recherche de substances et sources naturelles biologiquement actives. Des essais complémentaires seront nécessaires et devront pouvoir confirmer les performances mises en évidences. Il serait souhaitable de compléter et approfondir ce travail par une étude phytochimique plus détaillée.

- Mieux comprendre les molécules impliquées dans l'activité cicatrisante et leurs mécanismes d'action.

- Isoler et caractériser les composés actifs dans l'extrait de champignon par des méthodes spécifiques.
- Déterminer la sécurité d'utilisation thérapeutique (toxicité sub-chronique et chronique)
- Travailler sur d'autres souches d'animaux.
- Changer la méthode d'induction de la plaie par incision.
- Approfondir l'évaluation de l'activité cicatrisante par l'exploration histologique.

Enfin, d'autres vertus thérapeutiques restent à être investies dans l'espoir de trouver, une place en pharmacologie moderne.

**RÉFÉRENCES**

**BIBLIOGRAPHIQUES**

## Références bibliographiques

- 1- **Abd-El**, A, M, El-Hadidy, M, R, El-Mashad, N, B, El-Sebaie, A, H. (2007) Antimicrobial Effect of Bee Honey in Comparison to Antibiotics on Organisms Isolated From Infected Burns. *Annals of Burns and Fire Disasters*. 20(2):83-88.
- 2- **Abdeldjelil**, M, C, Bensegueni, A, Messai, A, Kaddour, M, N, Haouam, MS, Kohil, K. (2011). Burn Healing Activity Of A Mixture Of Bramble Leaves Powder (*Rubus fruticosus*) And Fresh Butter On Experimental Burns In Rats. *Mediterranean Conference on Natural Products (MCNP'2011)* - Blida (Algérie).
- 3- **Abdi**, S, Zhou, Y. (2002). Management of pain after burn injury. *Curr Opin Anaesthesiol*. 15(5): 563-7.
- 4- **Abu-Al-Basal**, Mariam, A. (2010). Healing potential of *Rosmarinus officinalis* L. on fullthickness excision cutaneous wounds in alloxan-induced-diabetic BALB/c mice. *Journal of Ethnopharmacology*. 131(2): 443–450.
- 5- **Aguerre**, H. (2004). Les lambeaux cutanés axiaux chez le chien et le chat : étude bibliographique et clinique retrospective. Thèse de médecine vétérinaire. Toulouse, France. 158p.
- 6- **Ahn**, Y, J, Park, S, J, Lee, S, G, Shin, S, C, Choi, D, H. (2000). Cordycepin: selective growth inhibitor derived from liquid culture of *Cordyceps militaris* against *Clostridium* spp. *J Agric Food Chem*. 48:2744–8.
- 7- **Ait Said**, S. (2011). Stratégies adaptatives de deux espèces du genre *Pistacia* (*P. Lentiscus* L. et *P. Atlantica* Desf.) aux conditions d'altitude, de salinité et d'aridité : approches morpho anatomiques, phytochimiques et ecophysiologiques. Doctorat en sciences biologiques, Université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou, Algérie. 160p.
- 8- **Albuquerquea**, U, P, Medeirosa, P, M, Ramosa, M. A, Ferreira Júniora, W, S, Borba Nascimentoa, A, L, Torres Avileza, W, M, de Meloa J, G. (2014). Are ethnopharmacological surveys useful for the discovery and development of drugs from medicinal plants? *Revista Brasileira de Farmacognosia*. 24(2) :110-115.
- 9- **Alitalo**, K, Tammela, T, Petrova, T, V. (2005). Lymph angiogenesis is in development and human disease *Nature*. 438: 946—53.
- 10- **Amadeu**, T, P, Coulomb, B, Desmouliere, A, Costa, A, M. (2003). Cutaneous wound Healing: myofibroblastic differentiation and in vitro models. *Int. J. Low. Extrem. Wounds*. 2: 60–68.

- 11- **Aman**, S, Anderson, D, J, Connolly, T, J, Crittall, A, J, Ji, G. From adenosine to 3'-deoxyadenosine: development and scale up. *Org Process Res Dev* 2000; 4:601–5.  
**Amhamdi**, H., **Aouinti**, F., **Wathelet**, J.P., **Elbachiri** A. (2009) Chemical Composition of the Essential Oil of *Pistacia lentiscus* L. from Eastern Morocco. *Rec. Nat. Prod.* 3(2) : 9095.
- 12- **Ann**, D, V. (2005). *Histologie et histophysiologie de la peau et de ses annexes* ; 132 :855-48.
- 13- **Anonyme**. (2011) Mastic a "gift from God" from the island of Chios [http://www.xpatathens.com/food\\_and\\_dining/mastice-gift-from-god-from-islandchios/](http://www.xpatathens.com/food_and_dining/mastice-gift-from-god-from-islandchios/) Consulté le 21-11-2014.
- 14- **Artjariyasripong**, S, Mitchell, J, Hywel-Jones, I, Jones, E. (2001). Relationship of the genus *Cordyceps* and related genera. Based on parsimony and spectral analysis of partial 18S and 28S ribosomal Gene sequences. *Mycoscience*. 42 : 503-517.
- 15- **Ayton**, K, Vallejo, A, F, Davies, J et al. (2017) Langerhans cells-programmed by the epidermis. *Front Immunol.* 8 :1676.
- 16- **Babadi**, Y. (2013) Evaluation of Iron Oxide nanoparticles effects on tissue and Enzymes of Thyroid in Rats. *Annale de l'ISSN.* 2(7) : 13.
- 17- **Babes**, L, Denizot, B, Tanguy, G, (1999). Synthesis of iron oxide nanoparticles used as MRI contrast agents: A parametric study. *Annale de JCIS.* 21(2) : 1-12.
- 18- **Baratli**, Y, Charles, A, Wolff, V, Ben Tahar, L, Smiri, L, Bouitbir, J, Zoll, J, Piquard, F, Tebourbi, O, Sakly, M, Hafedh, A, Bernard, G. (2013). Impact of iron oxide nanoparticles on brain, heart, lung, liver and kidneys mitochondrial respiratory chain complexes activities and coupling. *Annale de ELSEVIER.* 27(1) : 1-7.
- 19- **Belachew**, T, F, Asrade, S, Geta, M, Fentahun, E. (2020). *In vivo* evaluation of wound Healing and anti-inflammatory activity of 80% methanol crude flower extract of *Hagenia abyssinica* (Bruce) J.F. Gmel in Mice. Evid. Based Complement. *Alternative Med.* 2020 :9645792.
- 20- **Berlencourt**, AUDE. (2008-2013). Huiles essentielles – Aromathérapie Historical review of medicinal plants? 10.4103/0973-7847.95849).
- 21- **Betty**, L. (2016). Innervation périphérique et réparation cutanée, thèse de doctorat. Université de Limoges (France).
- 22- **Boros**, C, Hamilton, S, M, Katz, B, Kulanthaivel, P. (1994). Comparison of balanol from *Verticillium balanoides* and phiocordin from *Cordyceos ophioglossoides*. *J Antibiot (Tokyo)*. 47 :1010–6.

- 23- **Brandt**, A, Oliveira, P, Fernandes, F, B, Alba, J. (2009). Evaluation of prospective hypocholesterolemic effect and preliminary toxicology of crude extract and decoction from *Vitex megapotamica* (Spreng) Moldenke (*V. montevidensis* Cham.) *in vivo*. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. 19: 388–393.
- 24- **Broughton**, G, Janis, J, E, Attinger, C, E. (2006). The Basic Science of Wound Healing. *Plastic and Reconstructive Surgery*, 117 : 12SR34S. Doi: 10.1097/01.prs.0000225430.42531.c2.
- 25- **Bruneton**, J. (1999). Pharmacognosie - Phytochimie, Plantes médicinales, Editions Tec & Doc, *Editions médicales internationales*. 1120 p. (ISBN 2- 7430- 0315-4).
- 26- **Chen**, C, Luo, S, S, Li, Y, Sun, Y, J, Zhang, C, K. (2004). Study on antioxidant activity of three *Cordyceps* sp. by chemiluminescence. *Shanghai J Trad Chinese Med*. 38(7):53–5.
- 27- **Cherif**, A. (2016). Effets cicatrisants de produits à base d'huile de lentisque complications. *CurrProbSurg*. 44 : 679-766.
- 28- **Costa**, R, A, Bidinotto, L, T, Takahira, R.K, Salvadori, D, F, Barbisan, L, F, Mirtes, M, Costa. (2011). Cholesterol reduction and lack of genotoxic or toxic effects in mice after repeated 21-day oral intake of lemongrass (*Cymbopogon citratus*) essential oil, *Food Chem. Toxicol*. 49: 2268–2272.
- 29- **Cunningham**, K, G, Hutchinson S, A, Manson W, Spring F, S. (1951). Cordycepin, ametabolic product from cultures of *Cordyceps militaris* (Linn.) Link. Part I. Isolation and characterization. *J. Chem. Soc*. 508 : 2299-3200.
- 30- **Cunningham**, K, G, Manson, W, Spring, F, S, Hutchinson, S, A. (1950). Cordycepin, a metabolic product isolated from cultures of *Cordyceps militaris* (Linn.) Link. *Nature*. 166 :949–54.
- 31- **Dart**, A, J, Dowling, B, A, Smith, C, L. (2005). Topical treatments in equine wound management. *Vet Clin Equine*. 21: 77–89.
- 32- **Das**, S, K, Masuda, M, Hatashita, M, Sakurai, A, Sakakibara, M. (2008). A new approach for improving cordycepin productivity in surface liquid culture of *Cordyceps militaris* using high-energy ion beam irradiation. *Lett Appl Microbiol*. 47 : 534–8.
- 33- **Das**, S, K, Masuda, M, Hatashita, M, Sakurai, A, Sakakibara, M. (2010). Optimization of culture medium for cordycepin production using *Cordyceps militaris* mutant obtained by ion beam irradiation. *Proc Biochem*. 45 : 129–32.

- 34- **Das, S, K, Masuda, M, Sakurai, A, Sakakibara, M.** (2009). Effects of additives on cordycepin production using a *Cordyceps militaris* mutant induced by ion beam irradiation. *Afr J Biotechnol.* 8(13) :3041–7.
- 35- **Denis, W, D.** (2012). Pharmacie galénique : formes galéniques administrées par voie cutanée. Université de Grenoble (France).
- 36- **Deodhar, A, K, Rana, R, E.** Surgical physiology of wound healing: a review, 1997. Page consultée le 03/11/2013. Adresse URL : des Sciences vétérinaires, 210p, N° d'ordre : 02/DS/2016.
- 37- **Devoyer, J.** (2012). Stéphane Korsia-Meffre, rédacteur et coordinateur du Guide des plantes qui soignent (éd. Vidal). Publié le 28.09.2012).
- 38- **Di Russo, J, et al.** (2017). Vascular laminins in physiology and pathology. *Matrix Biol.* 57-58 : 140- 148.
- 39- **Dong, J, Ding, Z, J, Yu, P, Z, Lei, C, Zheng X, J, Wang Y.** (2013). Composition and distribution of the main active components in selenium-enriched fruit bodies of *Cordyceps militaris* link. *Food Chem.* 137 164–167.
- 40- **Dréno, B.** (2009). Anatomie et physiologie de la peau et de ses annexes. *Annales de Dermatologie et de Vénérologie.* 136 : S247–S251.
- 41- **Eckhart, L, Lippens, S, Tschachler, E.** (2013). Cell death by cornification. *Biochim Biophys Acta.* 1833(12) :3471-80.
- 42- **Elkhateeb, W, A, Daba, G, M, Thomas, P, W, Wen, T, C.** (2019). Medicinal mushrooms as a new source of natural Therapeutic bioactive compounds. *Egyptian Pharmaceutical Journal.* 18(2): 88-101.
- 43- **Elqaj, M, Ahami, A, Belghyti, D.** (2007). La phytothérapie comme alternative à la résistance des parasites intestinaux aux antiparasitaires. Journée scientifique "ressources naturelles et antibiotiques". Maroc.
- 44- **Ernest, D, Yimta, F, Stéphanie, M, k, Théophile, D.** (2019). Activité cicatrisante d'une pomade à base des feuilles de *Kalanchoe crenata*. *IJRAR.* 6(4) : 2349-5138.
- 45- **Eunhyun, Choi, Junsang, O, h, Gi-Ho, Sung** (2020). Antithrombotic and Antiplatelet Effects of *Cordyceps militaris*, Mycobiology
- 46- **Farnsworth, N, R, Akerele O, Bingel, A, S, Soejarto, D, D, Guo, Z.** (1986). Places des plantes médicinales dans la thérapeutique. *Bulletin de l'organisation mondiale de la santé.* 64 (2) : 159-164

- 47- **Filipa**, S, Reis, Lillian, B, Ricardo, C, Calhelha, Ana Ciric, Leo J, L, Marina, S, Isabel, C. (2013). The methanolic extract of *Cordyceps militaris* (L.) Link fruiting body shows antioxidant, antibacterial, antifungal and antihuman tumor cell lines properties. *Food and Chemical Toxicology*. 62 :91–98.
- 48- **Franz**, M, G. (2007). *Optimizing healing of the acute wound by minimizing Francophone de Cicatrisation*. 1(2): 15-22.
- 49- **Gabriela**, C, Vasil, E, Dumitru, C, Cojocar, U, Costic, M, Elena, C. (2005). L'étude de l'activité des quelques enzymes du stress oxydatif dans le tissu musculaire a des différents cyprinidés de culture. *Annale de SAUAC*. 7(1) : 14.
- 50- **Gantwerker**, E, A, Hom, D, B. (2012). Skin: Histology and Physiology of Wound Healing. *Clin Plastic Surg*. 39 : 85–97.
- 51- **Gérard**, T, Sophie, B. (2016). Embryologie et histologie humaines. France. Le livre de Elsevier Masson.
- 52- **Girotti-Chanu**. (2006). Catherine Etude de la lipolyse et de la synthèse de composés du derme sous l'effet de la cirsimarine, flavone extraite de *Microtea debilis*. Th. : Biochimie : Lyon (France).
- 53- **Gong**, Y, X, Li, S, P, Li, P, Liu, J, J, Wang, Y, T. (2004). Simultaneous determination of six main nucleosides and bases in natural and cultured *Cordyceps bcapillary* electrophoresis. *J Chromatogr*. 1055 :215–21.
- 54- **Gottrup**, F. (2004). Oxygen in Wound Healing and Infection. Page consultée le 03/13/2013. Adresse URL : <http://ezproxy.student.twu.ca:2134/article/10.1007/s00268-003-7398-5/fulltext.html>.
- 55- **Green**, Y, J, Berney, Y. Indications électives à l'oxygénothérapie hyperbare. (2008). Page consultée le 03/13/2013. Adresse URL : <http://rms.medhyg.ch/numero-213-page1615.htm>.
- 56- **Gu**, Y, X, Want, Z, S, Li, S, X, Yuan, Q, S. (2007). Effects of multiple factors on Accumulation of nucleosides and bases in *Corydyceps militaris*. *Food Chem*. 102 :1304–9.
- 57- **Guo**, C, Zhu, J, Zhang, C, Zhang, L. (1998). Determination of adenosine and 3'-deoxyadenosine in *Cordyceps militaris* (L.) Link. By HPLC. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi*. 23 :236–7.

- 58- **Guo, S.** (2010). DiPietro L.A. Factors Affecting Wound Healing. *Journal Dent Res.* 89 : 3219-229.
- 59- **Halpern, G, M.** (2007). Champignons de guérison. Square One Publishers. *Square One Publishers.* 65–86. ISBN 978-0-7570-0196-3.
- 60- **Hans, W, K.** (2007). 1000 plantes aromatiques et médicinales. *Terre édition.* 6-7.
- 61- **Hansske, F, Robins, M, J.** (1985). Regiospecific and stereoselective conversion of ribonucleosides to 3'-deoxynucleosides. A high yield three-stage synthesis of cordycepin from adenosine. *Tetrahedron Lett.* 26 :4295–8.
- 62- **Hé, D.** (2006). Bilan des connaissances actuelles sur la cicatrisation des plaies cutanées chez le chien et le chat. Thèse de médecine vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire De Toulouse (France).
- 63- **Hé, D.** (2006). Bilan des connaissances actuelles sur la cicatrisation des plaies cutanées chez le chien et le chat. Thèse pour obtenir le grade de docteur vétérinaire diplôme d'état. Toulouse, l'Université Paul-Sabatier de Toulouse, 234p.N° d'ordre : 2006 -TOU 3- 4020
- 64- **Henno, A, Lapière, C, M, Nusgens, B, V, Brassinne, M.** (2008). Le système vasculaire lymphatique : états des connaissances et implications dermatologiques potentielles. *Annales de Dermatologie et de Vénérologie.* 135(10) :704–709.
- 65- **Hong, Y, K, Lange-Asschenfeldt, B, Velasco, P, Hirakawa, S, Kunstfeld, R.** (2004). Brown LF, et al. VEGF-A promotes tissue-repairassociated lymphatic vessel formation via VEGFR2 and the 11 and 21 integrins. *FASEB.* 18:1111—3.
- 66- **Hosgood, G.** (2006). Stages of wound healing and their clinical relevance. *Vet Clin Small Anim.* 36 : 667–685.
- 67- **Hosgood, G.** (2003). Wound repair and specific tissue response to injury. In slatter: textbook of small animal surgery, tome 1. 3rd Ed Saunders.
- 68- **Huang, L, F, Liang, Y, Z, Guo, F, Q, Zhou, Z, F, Cheng, B, M.** (2003). Simultaneous separation and determination of active components in *Cordyceps sinensis* and *Cordyceps militaris* by LC/ESI-MS. *J Pharm Biomed Anal.* 33 :1155–62.
- 69- **Huggenberger, R, M, Detmar.** (2011). The cutaneous vascular system in chronic skin inflammation. *J Investig Dermatol Symp Proc.* 15(1): 24-32.
- 70- **Hunt, T, K, Ellison, C, Sen, C, K.** (2004). Oxygen: At the Foundation of Wound Healing Introduction, Page consultée le 03/13/2013. Adresse URL : <http://ezproxy.student.twu.ca:2134/article/10.1007/s00268-003-7405-x/fulltext.html>.

- 71- **Huxley-Jones, J**, Foord, S, M, Barnes, M, R. (2008). Drug discovery in the extracellular matrix. *Drug Discov Today*. 13: 685—94.
- 72- **Isaka, M**, Kongsaree, P, Thebtaranonth, Y. (2001). Bioxanthracenes from the insect pathogenic fungus *Cordyceps pseudomilitaris* BCC 1620. II. Structure elucidation. *J Antibiot (Tokyo)*. 54 :36–43.
- 73- **Iserin, P**, Masson, M, Restellini, J, P, Ybert, E, Meux, A, Moulard, F, Zha, E, Roque, R, Roque, O, Vican, P, Deesalle –Féat, T, Biaujeaud, M, Ringuet J, Bloth, J, Botrel, A. (2001). Larousse des plantes médicinales : identification, préparation, soins. *Ed Larousse*. 10-12
- 74- **Johns, D, G.** (1976). Adamson RH. Enhancement of the biological activity of cordycepin (3'-deoxyadenosine) by the adenosine deaminase inhibitor 2'-deoxycoformycin. *Biochem Pharmacol*. 25 :1441–4.
- 75- **Journal of Medicine**, 341(10): 738–746. Doi: 10.1056/nejm199909023411006.
- 76- **Kanitakis, J.** (2002). Anatomy, histology and immunohistochemistry of normal human skin. *Eur J Dermatol*. 12 (4) : 390-401.
- 77- **Kenneth, A, W, Michael, S, R.** (2002). The structure and function of the skin, in Dermatological and transdermal formulations, Kenneth A.W. Editor. *Marcel Dekker : New York*. p. 1-40.
- 78- **Kim, S, W, Hwang H, J, Xu C, P, Sung J, M, Choi J, W, Yun J, W.** (2003). Optimization of submerged culture process for the production of mycelial biomass and exopolysaccharides by *Cordyceps militaris* C738. *J Appl Microbiol*. 94:120–6.
- 79- **Kneifel, H, König, W, A, Loefflfler, W, Müller, R.** (1977). Ophiocordin, an antifungal antibiotic of *Cordyceps ophioglossoides*. *Arch Microbiol*. 113 : 121–30.
- 80- **Kumarasamyraja, D, Jeganathan, N, Manavalan, R.** (2012). A review on medicinal plants with potential wound healing activity. *International Journal of Pharmaceutical Science*. 2 : 105-11
- 81- **Labat-Robert, J, Robert, L.** (2005). Matrix biology in the 21st century. From a static-rheological role to a dynamic-signaling function. *Pathol Biol (Paris)*. 53 :369—71.
- 82- **Lameire, N, W, Van Biesen, R, Vanholder.** (2005). Acute renal failure. *Lancet*. 365 417–430.

- 83- **Lazarus**, G, S, Cooper D, Knighton, D, R, Margolis, D, J, Percoraro R, E, Rodeheaver G, Robson M, R. (1994). Definitions and guidelines for assessment of wounds and evaluation of healing. *Wound Rep Reg.* 2 : 965-70.
- 84- **Li**, S, P, Yang F.Q, Tsim, K, W, K. (2006). Quality control of *Cordyceps sinensis*, a valued traditional Chinese medicine. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 41 :1571–1584.
- 85- **Li**, S, P, Li, P, Dong, T, T, Tsim, K, W, Wang, Y, T. (2001). Determination of nucleosides in natural *Cordyceps sinensis* and cultured *Cordyceps* mycelia by capillary electrophoresis. *Electrophoresis.* 22 :144–50.
- 86- **Li**, S, P, Li, P, Lai, C, M, Gong, Y, X, Kan, K, K, Dong T, T. (2004). Simultaneous determination of ergosterol, nucleosides and their bases from natural and cultured Cordyceps by pressurized liquid extraction and highperformance liquid chromatography. *J Chromatogr.* 1036: 239–43.
- 87- **Lin**, Y, W, Chiang, B, H. (2008). Anti-tumor activity of the fermentation broth of *Cordyceps militaris* cultured in the medium of Radix astragali. *Proc Biochim.* 43: 244–50.
- 88- **Lindequist**, U, Niedermeyer, T, H, Jülich, W, D. (2005). The pharmacological potential of mushrooms. *EvidenceBased Complementary and Alternative Medicine.* 2 : 285-299.
- 89- **Liu**, J, Yang, S, Yang, X, Chen, Z, Li, J. (1997). Anticarcinogenic effect and hormonal effect of *Cordyceps militaris*. *Zhongguo Yao Za Zhi.* 22 (2) :111–3.
- 90- **Liu**, J, M, Zhong, Y, R, Yang, Z, Cui, S, L, Wang, F, H. (1989). Chemical constituents of *Cordyceps militaris* (L.) Link. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi.* 14 : 608–9.
- 91- **Lugo**, L, M, Lei, P, Andreadis, S, T. (2011). Vascularization of the dermal support enhances wound re-epithelialization by in situ delivery of epidermal keratinocytes. *Tissue Eng Part A.* 17(5-6) :665-75.
- 92- **Maricich**, M. (2009). Merkel Cells Are Essential for Light-Touch Responses. *Science* 1. 324 (5934) :1580 – 1582.
- 93- **Macphail**, C, M. (2013). Surgery of the Integumentary system. In Fossum T.W.: Small animal surgery. 4th Ed, Mosby, Inc. (An affiliate of Elsevier Inc).
- 94- **Mains**, E, B. (1958). North American Entomogenous species of *Cordyceps*. *Mycologia.* 169-222.

- 95- **Mao, X, B, Zhong, J, J.** (2006). Significant effect of NH<sub>4</sub><sup>+</sup> on cordycepin production by submerged cultivation of medicinal mushroom *Cordyceps militaris*. *Enzyme Microb Technol.* 38: 343–50.
- 96- **Marelli-Berg, F, M.** (2013). An immunologist's guide to CD31 function in T-cells. *J Cell Sci.* 126(11): 2343-52.
- 97- **Masuda, M, Urabe, E, Honda, H, Sakurai, A, Sakakibara, M.** (2007). Enhanced production of cordycepin by surface culture using the medicinal mushroom *Cordyceps militaris*. *Enzyme Microb Technol.* 40 : 1199–205.
- 98- **Masuda, M, Urabe, E, Sakurai, A, Sakakibara, M.** (2006). Production of cordycepin by surface culture using the medicinal mushroom *Cordyceps militaris*. *Enzyme Microb Technol.* 39 : 641–6.
- 99- **Matini, Marie-Claude.** (2003). Introduction à la dermatopharmacie et à la cosmétologie Paris. *Editions médicales internationales.* 401p.
- 100- **Millogo, H, Guisson, I, P, Nacoulma, O, Traore, A, S.** (2005). Savoir traditionnel et médicaments traditionnels améliorés. Colloque du 9 décembre. *Centre européen de santé humaine* –Lyon (France).
- 101- **Mirkovic, B, Lah-Turnsek, T, Kos, J.** (2010)- Nanotechnology in the treatment of cancer. *Annale d'INRS.* 79(15) : 1-15.
- 102- **Mizuno, T.** (1999). Medicinal effects and utilization of Cordyceps (Fr.) Link (Ascomycetes) and Isaria Fr. (Mitosporic Fungi) Chinese caterpillar fungi, “Tochukaso” (Review). *Intl J Med Mushroom.* 1: 251–61.
- 103- **Moreau, B.** (2003). Maître de conférences de pharmacognosie à la faculté de Pharmacie de Nancy. Travaux dirigés et travaux pratiques de pharmacognosie de 3<sup>ème</sup> année de doctorat de pharmacie (France).
- 104- **Moulin, Y.** (2001). Comprendre le processus de cicatrisation. *L’infirmière du Québec.* 37.
- 105- **Nag, T, B, Wang, H, X.** (2005). Pharmacological actions of *Cordyceps*, a prized folk medicine. *J Pharm Pharmacol.* 57:1509- 1519.
- 106- **Najafi, L, Babadi, Y, Najafi, A, Gholami, H, Beigi, M, Golzadeh, J, Amraie, E, Shirband, A.** (2012). Evaluation of iron oxide nanoparticles effects on tissue and enzymes of liver in rats. *Annale de JPBMS.* 23(4) : 1-5.

- 107- **Nikoh**, N, Fukatsu, T. (2000). Interkingdon host jumping underground: phylogenetic analysis of entomoparasitic fungi of the genus *Cordyceps*. *Molecular Biology and Evolution*. 17: 629-638.
- 108- **NOT**, C. (2006). Caractérisation de l'oxydation du fer ferreux en présence de deux bactéries ferro-oxydantes neutrophiles, du champ hydrothermal de Loihi, Hawi. Mémoire biologie. Québec. UQM. 151p.
- 109- **Olivier**, W. (2011). Risques liés aux nanoparticules et aux nanomatériaux. *Annale de l'INRS*. 19(1-4) : 1-90.
- 110- **Paisan**, S, Kirtikara, K. (2001). Bioanthracenes from the insect pathogenic fungus *Cordyceps pseudomilitaris* BCC 1620. I. Taxonomy, fermentation, isolation and antimalarial activity. *J Antibiot*54. 29–35.
- 111- **Park**, S, J. (1996). Growth responses of intestinal microorganisms to tochukaso, mushroom and tropical plant, and cordycepin from *Cordyceps militaris*. M. S. Thesis. Seoul National University, Suwon, Republic of Korea.
- 112- **Paterson**, M, Russel, M. (2008). *Cordyceps*- A traditional Chinese medicine and another fungal therapeutic biofactory Review. *Phytochemistry*. 69 :1469-1495.
- 113- **Pauly**, M. (2012). Structuration de nanoparticules magnétiques d'oxyde de fer en film et étude de leur propriétés magnétiques et magnéto transport. Thèse doctorat physique et chimie physique. Strasbourg. IPCMS. 230p
- 114- **Peau et annexes cutanées**. (2016). *Embryologie et Histologie Humaines*. 121–142.
- 115- **Pierrick**, H. (2016). « Derme - Définition », *Anatomie* [en ligne], consulté le 18 janvier 2016. URL : [http://sante-medecine.journaldesfemmes.com/faq/17795-derme definition/](http://sante-medecine.journaldesfemmes.com/faq/17795-derme-definition/)
- 116- **Pooja**, P, Anand, S. (2014). Studies on the biology of *Cordyceps militaris*: A medicinal mushroom from North West Himalaya. *KAVAKA*. 43: 35-40.
- 117- **Potente**, M, T, Makinen. (2017). Vascular heterogeneity and specialization in development and disease. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 18(8): 477-494
- 118- **Prescrire**. (2007). Bien utiliser les plantes en situations de soins. *Numéro spécial été T. 27* : 286.
- 119- **Ramirez**, F, Sakai, L, Y, Dietz, H, C, Rifkin, D, B. (2004). Fibrillin microfibrils: multipurpose extracellular networks in organismal physiology. *Physiol Genomics*. 19 :151—4

- 120- **Rampin, M.** (2017). Champignons « Médicinaux » : De L'usage Traditionnel Aux Compléments Alimentaires, Thèse de Doctorat. Université de Toulouse (France).
- 121- **Redon-Clauzard, S.** (2003). La peau mise à nue. *Science et Vie Junior*. 168 : 62-65.
- 122- **Ribeizo, J, A.** (1995). Purinergic inhibition of neurotransmitter release in the central nervous system. *Pharm Toxicol*. 77(5): 299–305.
- 123- **Rukachaisirikul, V, Chantaruk, S, Tansakul, C, Saithong, S, Chaicharernwimonkoon L, Pakawatchai, C.** (2006). A cyclopeptide from the insect pathogenic fungus *Cordyceps* sp. BCC 1788. *J Nat Prod*. 69: 305–7.
- 124- **Rukachaisirikul, V, Pramjit, S, Pakawatchai, C, Isaka, M, Supothina, S.** (2004). 10-membered macrolides from the insect pathogenic fungus *Cordyceps militaris* BCC 2816. *J Nat Prod*. 67 :1953–5.
- 125- **Rye, S.** (2009). Nanomatériaux : Préoccupations sur la Santé et l'Environnement. *Annale de BBE*. 7 (10) : 1-15.
- 126- **Saba, N.** (2010). Concentration-dependent toxicity of iron oxide nanoparticles mediated by increased oxidative stress. *Annale de l'IJN*. 5 (4) : 1-7.
- 127- **Sacoti, H.** (2012). Lésions élémentaires des cellules, tissus et organes. *Annale de COPATH*. 3(1) : 1-29.
- 128- **Salle, J, L.** (1991). Le totum en phytothérapie : approche de phyto-biothérapie. Paris: Frison-Roche, 239p.
- 129- **Sato, H, Coburn, J.** (2017). *Leptospira interrogans* causes quantitative and morphological disturbances in adherens junctions and other biological groups of proteins in human endothelial cells. *PLOS Negl Trop Dis*. 11(7): e0005830.
- 130- **Saudi Pharmaceutical Journal**, 26(5) : 733-738. Doi : 10.1016/j.jsps.2018.02.016.
- 131- **Schneider, H, Mühle, C, Pacho, F.** (2007). Biological function of laminin-5 and pathogenic impact of its deficiency. *Eur J Cell Biol*. 86(11-12) :701-17.
- 132- **Schultz, G, S, Sibbald, R, G, Falanga, V, Ayello, E, A, Dowsett, C, Harding, K, Romanelli, M, Stacey, M, C, Teot, L, Vanscheidt, W.** (2003). Wound bed preparation: a systematic approach to wound management. *Wound Rep Reg*. 11:1–28.

- 133- **Shen**, Y. (2009). Preparation and application of magnetic Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparticles for wastewater purification. *Annale de SPT*. 68(3) : 1-8.
- 134- **Silver**, I, A. (1973). Symposium: Some Factors Affecting Wound Healing. *Equine Veterinary Journal*. 5 : 2.
- 135- **Singer**, A J, Clark, R, A, F. (2017). Cutaneous Wound Healing. New England Singh. E-cadherin mediates ultraviolet radiation and calcium-induced melanin transfer in human skin cells. *Exp Dermatol*. 26(11) :1125-33.
- 136- **Sone**, Y, Okuda, R, Wada, N. (1985). Structures and antitumor activities of the polysaccharides isolated from fruiting body and the growing culture of mycelium of *Ganoderma lucidium*. *Agric Biol Chem*. 49 : 2641–53.
- 137- **Song**, C, H, Jeon, Y, J, Yang, B, K, S, Sung, J, M. (1998). Anti-complementary activity of exo-polymers produced from submerged mycelial cultures of higher fungi with particular reference to *Cordyceps militaris*. *J Microbiol Biotechnol*. 8 : 536–9.
- 138- **Song**, M, Moon, K, Kim, Y, Lim, D, Song, C, Yoon, W. (2007). Labeling efficacy of superparamagnetic iron oxide nanoparticles to human neural stem cells: Comparison of ferumoxides, monocrySTALLine iron oxide, cross-linked iron oxide (CLIO)-NH<sub>2</sub> and tat-CLIO. *Annale de KJR*. 8(5) : 1-24.
- 139- **Swerlick**, R, A. (1997). The Structure and Function of the Cutaneous Vasculature. *The Journal of Dermatology*. 24(11) : 734-738.
- 140- **Tsatmali**, K, J, Ancans J, Thody, A, J. (2002). Melanocyte function and its control by melanocortin peptides. *J. Histrochem. Cytochem*. 50 :125-133.
- 141- **Ting Feng**, Wu. (2016). PhD in Microbiology, Department of Biotechnology, Southern Taiwan University of Science and Technology (Taiwan).
- 142- **Tsuruta**, D. (2011). Hashimoto T, Hamill KJ et al. Hemidesmosomes and focal contact proteins: functions and cross-talk in keratinocytes, bullous diseases and wound healing. *J Dermatol Sci*. 62(1) :1-7.
- 143- **Wichtl**, M, Anton, R. (2003). Plantes thérapeutiques – Tradition, pratique officinale, science et thérapeutique, 2ème édition, *Ed. TEC & DOC*.
- 144- **Won**, S, Y, Park E, H. (2005). Anti-inflammatory and related pharmacological activities of cultured mycelia and fruiting bodies of *Cordyceps militaris*. *J Ethnopharm*. 96: 555–61.

- 145- **Won-Serk**, K, Byung-Soon, P, Jong-Hyuk, S. (2009). Protective role of adipose-derived stem cells and their soluble factors in photoaging. *Arch Dermatol.* 301(5) :329-36.
- 146- **Ying**, J, Mao, X, Ma, Q, Wen, H. (1987). Icons of medicinal mushroom from China.Beijing. *Science Press Beijing.* 151–5.
- 147- **Yu**, R, M, Yang, W, Song, L, Y, Yan, C, Y, Zhang, Z, Zhao, Y. (2007). Structural characterization and antioxidant activity of a polysaccharide from the fruiting bodies of cultured *Cordyceps militaris*. *Carbohydrate Polym.* 70 :430–6.
- 148- **Yu**, R, Wang, L, Zhang, H, Zhou, C, Zhao, Y. (2004). Wound healing activity of henna. pomegranate and myrrh herbal ointment blend. Isolation, purification and identification of polysaccharide from cultured *Cordyceps militaris*. *Fitoterapia.* 75 : 662–6.
- 149- **Zeghad**, N. (2009) Etude du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales d'intérêt économique (*Thymus vulgaris*, *Rosmarinus officinalis*) et évaluation de leur activité antibactérienne, Université Mentouri Constantine, 2p.
- 150- **Zhang**, J, Zhang, W, Yin, Z, Li, C, Kang, W. (2018). Procoagulant constituents from *Cordyceps militaris*. *Food Science and Human Wellness.* 7(4): 282–286.

# **ANNEXES**

## Annexe 1 :

*République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
Université Abdelhamid Ibn Badis Mostaganem  
Faculté SNV  
Département de biologie*

**BON DE COMMANDE**

**LABORATOIRE :** *Pharmacognosie et Api Phytothérapie*

**Fournisseur :** *Institut de Pasteur*

Référence	DESIGNATION	Quantité	Prix	OBSERVATION
	Rat Male	55		Poids 250-270g

**Mme:** *Amari Nesrine Ouda* Mostaganem ,le 31/01/2021

**Signature :** 

**Tel :** 0776290945

**Figure 1 :** Bon de commande des rats.

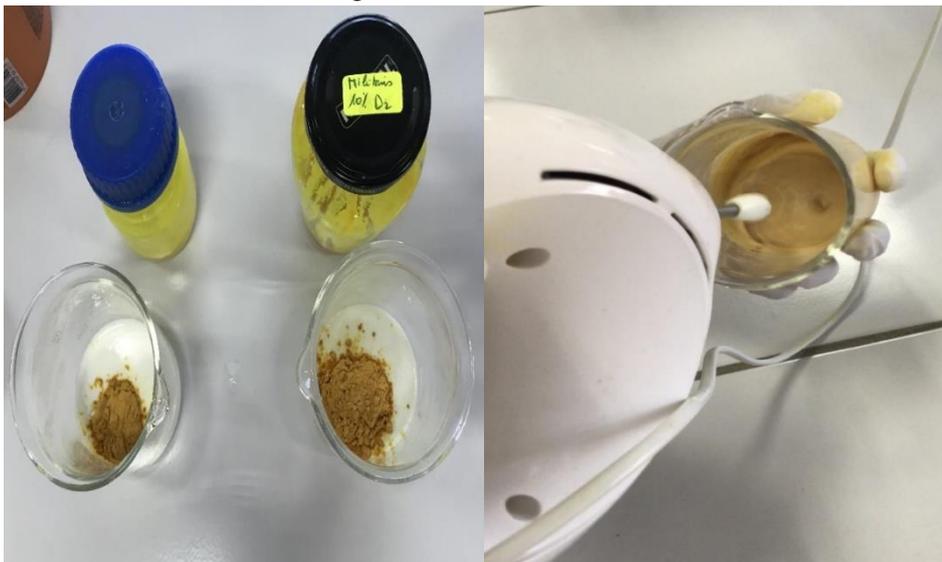
**Annexe 2 :**



**A :** les organes (foie, reins, cerveau)



**B :** Les organes fixés au formol 10%



**C :** Mélange des composants de la pommade à base d'extrait de champignon étudié.



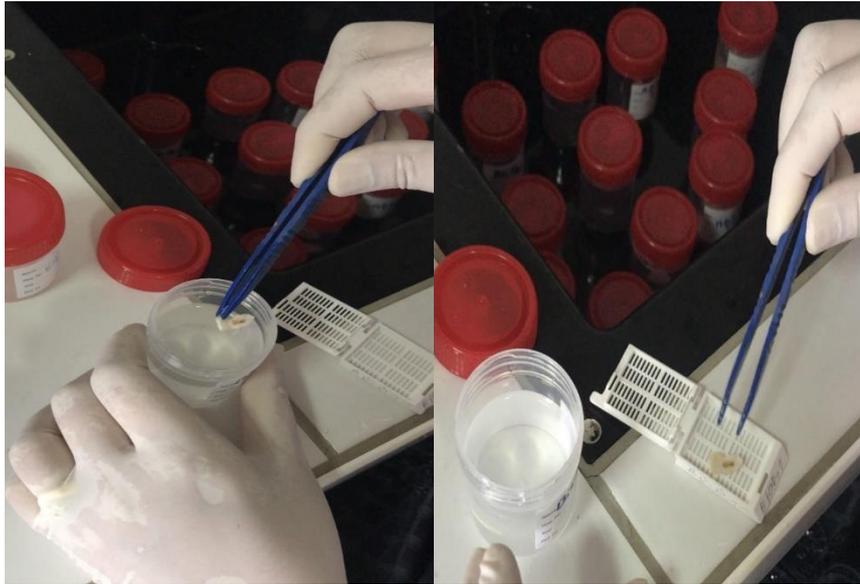
**D** : Partie dorsale rasé



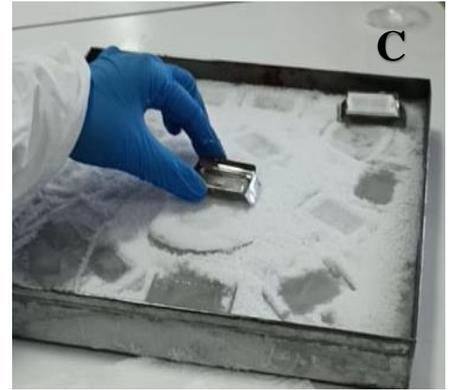
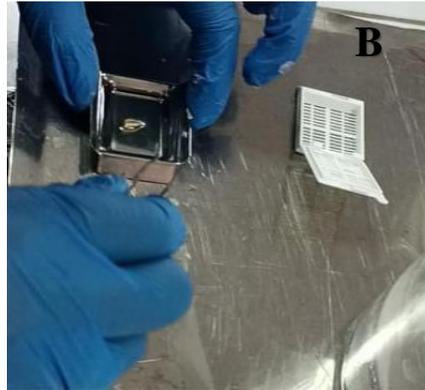
**E** : Solution de povidone iodée  
appliquée dans la partie dorsale



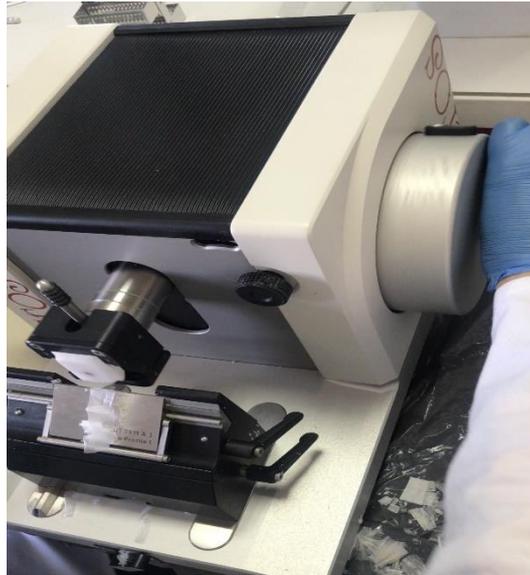
**F** : Plaie circulaire de 2 cm<sup>2</sup> de diamètre



**G** : les étapes de la macroscopie.



**H** : Méthode de l'inclusion ; A : Moule rempli de paraffine ; B : Placement de tissu dans le moule ; C : plaque de refroidissement.



I : Microtomie



J : technique de montage.

## Annexe 3 :

Tableau 1 : TGO et TGP chez les souris traitées par *C. militaris* et les témoins (UI/L).

	S1	S2	S3	S4	S5	S6
<b>TGO (témoin)</b>	165	160	166	163	157	159
<b>TGP (témoin)</b>	83	82	76	74	78	75
<b>TGO (<i>C. militaris</i>)</b>	173	181	179	177	173	172
<b>TGP (<i>C. militaris</i>)</b>	79	78	85	81	82	77

**Tableau 2** : Créatinine chez les souris traitées par *C. militaris* et les témoins (Mg/L).

	<b>S1</b>	<b>S2</b>	<b>S3</b>	<b>S4</b>	<b>S5</b>	<b>S6</b>
<b>Créatinine (témoin)</b>	7,66	4,93	4,22	3,26	4,75	4,28
<b>Créatinine (<i>C. militaris</i>)</b>	4,83	5,85	4,03	4,69	4,73	4,86

**Tableau 3** : L'urée chez les souris traitées par *C. militaris* et les témoins (g/L).

	<b>S1</b>	<b>S2</b>	<b>S3</b>	<b>S4</b>	<b>S5</b>	<b>S6</b>
<b>Urée (témoin)</b>	0,59	0,65	0,85	0,52	0,63	0,57
<b>Urée (<i>C. militaris</i>)</b>	0,64	0,7	0,55	0,56	0,61	0,57

**Tableau 4** : FNS des souris traitées par *C. militaris* témoins et les témoins. **GB**:Globules blancs( $\times 10^9/L$ ); **GR**:Globules rouges( $\times 10^{12}/L$ ); **Hb**:Hémoglobine(g/dl); **Hte**:Hématocrites(%); **PLT**:Plaquettes( $\times 10^9$ ).

	<b>S1</b>	<b>S2</b>	<b>S3</b>
<b>GB (témoin)</b>	7,6	6,1	6,28
<b>GB (<i>C. militaris</i>)</b>	8,7	9,7	9,48
<b>GR (témoin)</b>	6,43	6,79	6,58
<b>GR (<i>C. militaris</i>)</b>	6,29	5,73	6,24
<b>HGB (témoin)</b>	14,3	15	14,78
<b>HGB (<i>C. militaris</i>)</b>	13,3	13,8	13,62
<b>HTE (témoin)</b>	36,8	38,8	37,72
<b>HTE (<i>C. militaris</i>)</b>	35,9	31,9	34,14
<b>PLT (témoin)</b>	337	335	333,5
<b>PLT (<i>C. militaris</i>)</b>	495	497	499

Tableau 5 : Effets des pommades sur l'érythème en fonction des scores.

Jours	Témoin	Placébo	Madécassol	<i>C. militaris</i> 5%	<i>C. militaris</i> 10%
J0 (R1)	4	4	3	4	3
J0 (R2)	4	3	3	4	3
J0 (R3)	4	4	3	4	3
J0 (R4)	3	4	3	3	3
J0 (R5)	3	4	3	4	3
J3 (R1)	3	3	2	3	2
J3 (R2)	3	2	2	3	2
J3 (R3)	3	3	2	3	2
J3 (R4)	3	3	2	2	2
J3 (R5)	3	3	2	3	3
J6 (R1)	3	2	2	2	2
J6 (R2)	3	2	2	2	2
J6 (R3)	3	3	1	3	1
J6 (R4)	3	2	1	2	2
J6 (R5)	3	3	2	2	3
J9 (R1)	3	2	2	2	1
J9 (R2)	3	1	1	2	1
J9 (R3)	3	2	1	2	1
J9 (R4)	3	2	1	2	2
J9 (R5)	3	3	1	1	2
J12 (R1)	3	2	2	2	1
J12 (R2)	3	1	1	1	1
J12 (R3)	3	2	1	2	1
J12 (R4)	2	2	1	1	1
J12 (R5)	3	2	1	1	2
J15 (R1)	3	2	2	2	1
J15 (R2)	2	1	1	1	1
J15 (R3)	3	1	1	1	1
J15 (R4)	2	2	1	1	1
J15 (R5)	3	1	1	1	2
J18 (R1)	3	2	2	1	1
J18 (R2)	2	1	1	1	1
J18 (R3)	2	1	1	1	1
J18 (R4)	2	2	1	1	1
J18 (R5)	3	1	1	1	1
J21 (R1)	2	1	1	1	1
J21 (R2)	2	1	1	1	1
J21 (R3)	2	1	1	0	1
J21 (R4)	2	2	1	1	1
J21 (R5)	3	1	1	0	0

Tableau 6 : Effets des pommades sur l'exsudat en fonction des scores

Jours	Témoin	Excipient	Madécassol	<i>C. militaris</i> 5%	<i>C. militaris</i> 10%
J0 (R1)	1	0	0	0	0
J0 (R2)	1	1	0	0	0
J0 (R3)	1	0	0	0	0
J0 (R4)	0	0	0	0	0
J0 (R5)	1	0	0	0	0
J3 (R1)	1	0	0	0	0
J3 (R2)	1	1	0	0	0
J3 (R3)	1	0	0	0	0
J3 (R4)	0	0	0	0	0
J3 (R5)	1	0	0	0	0
J6 (R1)	0	0	0	0	0
J6 (R2)	0	0	0	0	0
J6 (R3)	0	0	0	0	0
J6 (R4)	0	0	0	0	0
J6 (R5)	0	0	0	0	0
J9 (R1)	0	0	0	0	0
J9 (R2)	0	0	0	0	0
J9 (R3)	3	0	0	0	0
J9 (R4)	0	0	0	0	0
J9 (R5)	0	0	0	0	0
J12 (R1)	0	0	0	0	0
J12 (R2)	0	0	0	0	0
J12 (R3)	0	0	0	0	0
J12 (R4)	0	0	0	0	0
J12 (R5)	0	0	0	0	0
J15 (R1)	0	0	0	0	0
J15 (R2)	0	0	0	0	0
J15 (R3)	0	0	0	0	0
J15 (R4)	0	0	0	0	0
J15 (R5)	0	0	0	0	0
J18 (R1)	0	0	0	0	0
J18 (R2)	0	0	0	0	0
J18 (R3)	0	0	0	0	0
J18 (R4)	0	0	0	0	0
J18 (R5)	0	0	0	0	0
J21 (R1)	0	0	0	0	0
J21 (R2)	0	0	0	0	0
J21 (R3)	0	0	0	0	0
J21 (R4)	0	0	0	0	0
J21 (R5)	0	0	0	0	0

**Tableau 7** : Effets des pommades sur l'apparition des bourgeons en fonction des scores.

Jours	Témoin	Excipient	Madécassol	<i>C. militaris</i> 5%	<i>C. militaris</i> 10%
J0 (R1)	0	0	0	0	0
J0 (R2)	0	0	0	0	0
J0 (R3)	0	0	0	0	0
J0 (R4)	0	0	0	0	0
J0 (R5)	0	0	0	0	0
J3 (R1)	1	1	1	1	1
J3 (R2)	1	1	1	1	1
J3 (R3)	1	1	1	1	1
J3 (R4)	1	1	1	1	1
J3 (R5)	1	1	1	1	1
J6 (R1)	1	2	2	2	2
J6 (R2)	2	1	2	1	2
J6 (R3)	1	1	2	1	2
J6 (R4)	2	2	2	1	2
J6 (R5)	1	2	2	2	2
J9 (R1)	2	2	2	3	3
J9 (R2)	2	2	3	2	2
J9 (R3)	2	2	2	2	3
J9 (R4)	2	2	3	2	3
J9 (R5)	2	2	2	3	2
J12 (R1)	1	1	3	3	4
J12 (R2)	1	2	3	3	3
J12 (R3)	1	2	3	3	3
J12 (R4)	1	2	3	3	4
J12 (R5)	1	2	3	3	3
J15 (R1)	1	1	3	3	3
J15 (R2)	1	1	3	3	3
J15 (R3)	1	1	3	2	3
J15 (R4)	1	1	3	3	3
J15 (R5)	1	1	3	2	3
J18 (R1)	2	0	2	2	2
J18 (R2)	1	1	2	2	2
J18 (R3)	2	1	2	1	2
J18 (R4)	1	1	1	2	2
J18 (R5)	2	1	1	1	2
J21 (R1)	1	0	1	1	0
J21 (R2)	1	1	0	1	0
J21 (R3)	1	1	0	0	0
J21 (R4)	1	1	1	1	1
J21 (R5)	1	1	0	0	0

**Tableau 8** : Effets des pommades sur la phase d'épithélialisation en fonction des scores.

Jours	Témoin	Placébo	Madécassol	<i>C. militaris</i> 5%	<i>C. militaris</i> 10%
J0 (R1)	0	0	0	0	0
J0 (R2)	0	0	0	0	0
J0 (R3)	0	0	0	0	0
J0 (R4)	0	0	0	0	0
J0 (R5)	0	0	0	0	0
J3 (R1)	1	1	1	1	1
J3 (R2)	1	1	1	1	1
J3 (R3)	1	1	1	1	1
J3 (R4)	1	1	1	1	1
J3 (R5)	1	1	1	1	1
J6 (R1)	1	2	2	2	2
J6 (R2)	1	1	2	1	2
J6 (R3)	1	1	2	1	2
J6 (R4)	1	2	2	1	2
J6 (R5)	1	2	2	2	2
J9 (R1)	1	1	2	3	3
J9 (R2)	1	2	3	2	2
J9 (R3)	1	2	2	2	3
J9 (R4)	1	1	3	2	3
J9 (R5)	2	2	2	3	2
J12 (R1)	1	2	3	3	4
J12 (R2)	2	2	3	3	3
J12 (R3)	2	2	2	3	3
J12 (R4)	2	2	3	3	4
J12 (R5)	2	2	3	3	3
J15 (R1)	2	1	3	3	3
J15 (R2)	1	2	2	2	2
J15 (R3)	2	1	3	2	2
J15 (R4)	1	1	2	3	3
J15 (R5)	2	1	2	2	2
J18 (R1)	1	0	2	2	1
J18 (R2)	1	1	1	1	1
J18 (R3)	1	1	2	1	1
J18 (R4)	1	1	1	2	2
J18 (R5)	1	1	2	1	1
J21 (R1)	1	0	1	1	0
J21 (R2)	1	1	0	0	0
J21 (R3)	1	1	0	0	0
J21 (R4)	1	1	1	1	1
J21 (R5)	1	1	0	0	0

**Tableau 9** : Effets des pommades sur la formation des croûtes en fonction des scores.

Jours	Témoin	Placébo	Madécassol	<i>C. militaris</i> 5%	<i>C. militaris</i> 10%
J0 (R1)	0	0	0	0	0
J0 (R2)	0	0	0	0	0
J0 (R3)	0	0	0	0	0
J0 (R4)	0	0	0	0	0
J0 (R5)	0	0	0	0	0
J3 (R1)	0	1	1	2	2
J3 (R2)	1	1	2	1	1
J3 (R3)	0	1	1	2	2
J3 (R4)	1	1	2	2	1
J3 (R5)	0	1	1	1	2
J6 (R1)	1	2	2	3	3
J6 (R2)	1	1	3	2	2
J6 (R3)	1	1	2	3	3
J6 (R4)	1	2	3	3	2
J6 (R5)	1	2	2	3	3
J9 (R1)	1	1	3	4	4
J9 (R2)	1	2	4	3	3
J9 (R3)	1	2	3	3	4
J9 (R4)	1	3	4	3	4
J9 (R5)	2	3	3	4	3
J12 (R1)	1	1	2	3	3
J12 (R2)	2	1	3	2	3
J12 (R3)	2	2	2	2	3
J12 (R4)	1	2	3	2	3
J12 (R5)	2	2	2	3	2
J15 (R1)	1	1	1	2	2
J15 (R2)	1	2	2	2	2
J15 (R3)	2	1	1	2	2
J15 (R4)	1	1	2	3	2
J15 (R5)	2	1	1	2	1
J18 (R1)	1	0	0	1	1
J18 (R2)	1	1	1	1	1
J18 (R3)	1	1	0	1	1
J18 (R4)	1	1	1	2	1
J18 (R5)	1	1	0	1	0
J21 (R1)	1	0	0	0	0
J21 (R2)	1	1	0	0	0
J21 (R3)	1	1	0	0	0
J21 (R4)	1	1	0	1	0
J21 (R5)	1	0	0	0	0

**Tableau 10** : Pourcentage d'inhibition de la vitesse de contraction des plaies.

Jours	Témoin	Placébo	Madécassol	C. militaris 5%	C. militaris 10%
J0 (R1)	0	0	0	0	0
J0 (R2)	0	0	0	0	0
J0 (R3)	0	0	0	0	0
J0 (R4)	0	0	0	0	0
J0 (R5)	0	0	0	0	0
J3 (R1)	4,39	6,25	16,87	10,92	19,72
J3 (R2)	8,47	8,63	15	15	17,48
J3 (R3)	11,48	7,46	14	12,13	19,38
J3 (R4)	2,91	11,96	12,24	8,93	18,04
J3 (R5)	6,5	12,55	11,54	13,33	17,72
J6 (R1)	12,36	13	23,89	31,34	39,68
J6 (R2)	20,71	15,78	27,75	37	33,68
J6 (R3)	21,75	20,18	21,25	21,96	31,47
J6 (R4)	15,44	21,62	37,45	34,91	35,82
J6 (R5)	16,54	23,71	44,44	32,66	35,75
J9 (R1)	23	36,28	43,19	52,28	62,64
J9 (R2)	29,03	31,73	59,5	56,5	53
J9 (R3)	31,14	37,5	55,22	40,17	51,45
J9 (R4)	33,84	35,96	53,08	51,48	61,98
J9 (R5)	35,07	35,74	60,25	54,16	61,39
J12 (R1)	44,04	48,31	63,97	73,22	78,59
J12 (R2)	49	52,73	77,5	74	73,49
J12 (R3)	50,28	51,25	72,17	64,91	69,06
J12 (R4)	55,81	51,75	68,14	65,95	79,88
J12 (R5)	52,95	52,33	75,64	77,33	74,68
J15 (R1)	56,25	56,87	90,25	87,97	88,32
J15 (R2)	60,87	61,18	94,25	88	91,69
J15 (R3)	62,14	66,25	85,26	87,28	92,23
J15 (R4)	66,77	69,91	88,8	90,21	93,23
J15 (R5)	63,98	63,83	89,95	90,66	90,82
J18 (R1)	68,04	78,48	95,53	91,53	95,13
J18 (R2)	71,69	76,02	97	91,5	96,46
J18 (R3)	69,22	70,5	91,66	89,3	96,44
J18 (R4)	77,32	72,06	93,24	93,82	95,41
J18 (R5)	72,67	74,5	94,01	94,16	94,62
J21 (R1)	73,25	84,07	98,16	97,85	98,08
J21 (R2)	76,69	82,38	99	97,9	98,5
J21 (R3)	77,04	84	96,13	98,38	98,06
J21 (R4)	82,73	80,7	96,13	97,1	99,8
J21 (R5)	81,03	79,21	97	98,1	99