

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

UNIVERSITÉ de BLIDA 1

Faculté de Technologie

Département de Génie des Procédés



Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de

MASTER EN GENIE DES PROCEDES

Spécialité : Pharmacie industrielle

Intitulé du mémoire

**Conception de nouveaux pansements à base de
biopolymère pour la régénération du tissu
cutané après brûlure profonde.**

Présenté par :

Mellas Naziha Echikr Rofaida

Encadré par :

M^{me} Laribi

Année universitaire 2021/2022

REMERCIEMENTS

Ce travail a été réalisé dans le Laboratoire du Département de Génie des procédés
Laboratoire de recherche Analyses fonctionnelles de l'Université Saad Dahlab-Blida.

*Nous exprimons notre profond gratitude tout d'abord à « الله » de nous avoir donné le
courage, la volonté et la force pour accomplir ce modeste travail.*

*Nous remercions également les membres des jurys pour avoir acceptée d'examiner ce
mémoire et faire partie de jury de soutenance.*

*Nous remercions cher parents de nous avoir soutenu depuis toujours est jusqu'à
Aujourd'hui.*

*Notre haute gratitude, nos profonds respects et sincères remerciements à notre chère
promotrice Pr. LARIBI Hassiba de nous avoir encadrer, pour l'effort fourni, pour la
confiance qu'elle nous a accordée, de nous avoir choisi un thème précieux avec lequel nous
avons appris pleins de choses, nous tenons aussi à la remercier pour le temps qu'elle a
consacrer à nous, Ainsi pour sa patience, sa gentillesse.*

*Nous tenons à montre notre profonde gratitude sincère remerciement envers, Mme
BELHADJI Linda, Mme RBIHA Mounia pour leur aide sur le plan rhéologique.
Nous remercions chef d'option Madame Hadj Ziane pour leur gentillesse et ses orientations.
Merci aussi à Timizar Zineb, doctorante au département de génie des procédés pour son
soutien.*

*Notre sincère reconnaissance et nos vifs remerciements à Mr Loudani Abdeallah
responsable Laboratoire Contrôle Qualité du "Lyn Pansement" pour ses conseils
chaleureux, pour le don du PET et leur aide.*

*A la fin de ce travail nous aimerons présenter notre vif remerciement et notre profonde
reconnaissance à tous nos enseignants de Département de génie de procédés pour la
formation qu'on nous à accordé.*

Dédicace 1

Du profond de mon cœur, je dédie ce travail aux personnes qui me sont très chers.

Je dédie ce modeste travail à celle qui m'a donnée la vie, qui s'est sacrifiée pour mon bonheur et ma réussite, qui m'a bénie par ces prières à ma mère Malika

A mon père El Hadí, qui a été mon ombre durant toutes les années des études, qui a veillé à me donner l'aide, à m'encourager et à me protéger, que dieu les gardes et les protèges.

A mes adorables sœurs Achwak , Hanane ,Malak et Fatima Zahraa qui n'ont pas cessée de me conseiller, encourager et surtout me soutenir tout au long de mes études , ainsi que mes nièces

Et mes neveux.

A mes grands-parents que j'adore, A mon cher grand-père maternel, ainsi qu'à toute ma famille adorée.

A mes très chers amis : Batoul , Mossaab ,Besma et Aymen qui me sont très chers, ainsi que toute ma promo (les PFI).

A ma copine et sœur Rofaïda mon binôme avec laquelle j'ai partagé des moments inoubliables, Ainsi qu'a toute sa famille.

A toutes les personnes avec lequel nous avons travaillé au laboratoire, Je remercie du fond de mon cœur toutes les personnes qu'on a connues durant tout le cycle de nos études.

Nazíha

Dédicace 2

Je dédie affectueusement ce travail :

Pour ma Mère qui représente la lumière de notre existence L'étoile brillante de notre réjouissance et ma vie, Je te dédie ce travail en témoignage de mon profond amour.

Puisse Dieu, le tout puissant, te préserver et t'accorder santé, longue vie et bonheur. Pour mon père qui il y a Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours eu pour vous, Ce travail est le fruit de tes sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et ma formation.

*A mon cher frère abd alkader. Et ma adorable sœur wafaa
A toute **ma famille** pour leur soutien tout au long de mon parcours universitaire
Que ce travail soit l'accomplissement de vos vœux tant allégués, et le fruit de
votre soutien infailible*

A ma sœur et « partner » Naziha , Merci d'être toujours présente à ma côtés et de m'avoir continuellement encouragé et pour le sourire, le bonheur, et tous les bons moments qu'on a passé ensemble.

*To my besties sabrina and amel & all my friends ...thank you for your support L
U all to the moon and back*

***Finalement, à tous ceux qui m'ont donné le sourire et m'ont souhaité la
bonne continuité.***

Rofáída

المخلص

الهدف من هذا العمل هو تصميم ضمادات جديدة متعددة الوظائف تعتمد على بوليمر الحيوي لتجديد انسجة الجلد في الجسم الحي بعد الإصابة بحروق عميقة. في البداية تم اختيار الشيتوزان باعتباره المبدأ النشط لخصائصه البيولوجية و تم استخراجه من عظم بني داكن عن طريق التنقية ونزع البروتين وخطوة نزع الأتلة النهائية تم تمييز المكون النشط عن طريق مطياف الأشعة تحت الحمراء و مقياس ريومتر لتحديد درجة نزع الاستيل ووزنه الجزيئي الذي يبلغ 96% و 1671.93 دالتون على التوالي. . تؤكد نتائج أطياف المجموعات المجموعات المختلفة التي تم الحصول عليها إنتاج الشيتوزان. بناءً على هذا البوليمر الحيوي ، قمنا بتطوير تركيبة جديدة تمامًا من المستحلب. تم إجراء الاختبارات الفيزيائية والكيميائية للمستحلب المصاغ: الثبات ، والتجانس ، ودرجة الحموضة ، وما إلى ذلك وكانت النتائج التي تم الحصول عليها مرضية للغاية. سمحت لنا الدراسة الانسحابية لمستحلبنا بتحديد طبيعته الريولوجية التي تتكون من سائل مخفف للقص غير نيوتوني. تم اختبار القوة المضادة للبكتيريا بواسطة طريقة القرص لمستحلبنا على عدة سلالات بكتيرية موجبة وسالبة الجرام. أظهرت النتائج أن هذه البكتيريا كانت جميعها حساسة للتأثير التثبيطي للمستحلب تم دمج المستحلب المحضر في ضمادات البولي إيثيلين غير المنسوجة تظهر الملاحظة تحت المجهر الإلكتروني الماسح للضمادات انتشارًا جيدًا للمستحلب مع تشتت جيد عبر المسام للجسيمات.

الكلمات المفتاحية: الشيتوزان ، حرق ، تضميد ، شفاء ، بوليمر حيوي ، تجديد ، تركيبة .

Résumé

Le but recherché dans ce travail consiste à concevoir des nouveaux pansements multifonctionnels à base de biopolymère pour la régénération in vivo du tissu cutané après une brûlure profonde.

Dans un premier temps le chitosane a été sélectionné comme un PA suite à ses propriétés biologiques, ce dernier a été extrait à partir de l'os de sépia, par déminéralisation, déprotéinisation et une dernière étape désacétylation. Le principe actif a été caractérisé par FTIR, rhéomètre pour déterminer son degré de désacétylation (DDA) et son poids moléculaire qui sont de 96% et 1671.93 Dalton respectivement. Les résultats des spectres des différents groupements obtenus confirment la production d'un chitosane.

A base de ce biopolymère nous avons développé une toute nouvelle formulation d'une émulsion. Des tests physico-chimiques de l'émulsion formulée : stabilité, homogénéité, pH etc... ont été réalisés et les résultats obtenus étaient très satisfaisants.

L'étude rhéologique de notre émulsion nous a permis de déterminer sa nature rhéologique qui consiste en un fluide non newtonien rhéofluidifiant.

Le pouvoir antibactérien par la méthode de disques de notre émulsion a été testé sur des plusieurs souches bactériennes Gram positif et Gram négatifs. Les résultats montrent que ces bactéries étaient toutes sensibles à l'action inhibitrice de l'émulsion.

L'émulsion préparée a été intégrée dans des pansements à polyéthylène non tissés.

L'observation au microscope électronique à balayage des pansements montre une bonne diffusion de l'émulsion à travers les pores avec une bonne dispersion des particules.

Mots clés : chitosane, brûlure, pansement, cicatrisation, biopolymère, régénération, formulation

Abstract

The aim of this work is to design new multifunctional dressings based on biopolymer for the in vivo regeneration of skin tissue after a deep burn.

Initially, chitosan was selected as an active ingredient due to its biological properties, the latter was extracted from sepia bone, by demineralization, deproteinization and a final deacetylation step. The active ingredient was characterized by FTIR, rheometer to determine its degree of deacetylation (DDA) and its molecular weight which are 96% and 1671.93 Dalton respectively. The results of the spectra of the different groups obtained confirm the production of a chitosan.

Based on this biopolymer we have developed a completely new formulation of an emulsion. Physico-chemical tests of the formulated emulsion: stability, homogeneity, pH, etc. were carried out and the results obtained were very satisfying.

The rheological study of our emulsion allowed us to determine its rheological nature which consists of a non-Newtonian shear-thinning fluid.

The antibacterial power by the disk method of our emulsion has been tested on several Gram positive and Gram negative bacterial strains. The results show that these bacteria were all sensitive to the inhibitory action of the emulsion.

The prepared emulsion was embedded in non-woven polyethylene dressings. Observation under a scanning electron microscope of the dressings shows good diffusion of the emulsion through the pores with good dispersion of the particles.

Key words: chitosan, burn, dressing, healing, biopolymer, regeneration, formulation.

Table des matières

REMERCIEMENTS

DEDICACE

RESUME

INRODUCTION1

Chapitre I : Anatomie de la peau et des brûlures cutanées.

Introduction3

I. Anatomie et physiologie de la peau3

I.1. Les fonctions de la peau3

I.2. La structure de la peau4

I.2.1. L'épiderme4

I.2.1.1 Les kératinocytes4

a. La couche basale5

b. La couche épineuse5

c. La couche granuleuse5

d. La couche cornée5

I.2.1.2. Les mélanocytes6

I.2.1.3.Les cellules de Langerhans6

I.2.1.4.Les cellules de Merkel6

I.2.2. Le derme6

I.2.3. Hypoderme7

I.3. Vascularisation cutanée7

II. Les brûlures cutanées9

II.1. Étiologie des brulures9

II.1.1.Brûlure électrique9

II.1.2.Brûlure chimique9

II.1.3.Brûlure thermique9

II.1.4. Brûlure par irradiation	10
II. 2. Degrés des brûlures	10
II.2.1. Le premier degré	11
II.2.2. Le deuxième degré	11
II.2.3. Le troisième degré	11
II.2.4. Le quatrième degré	12
II.3.Processus de cicatrisation cutanée	12
_ Une phase de l'hémostase	13
_ Une phase détersivo-inflammatoire	13
_ Une phase proliférative	13
_ Une phase de remodelage	14
Conclusion	14

Chapitre II : Chitosane, le biopolymère étudié.

1. Historique	16
2. Définition et structure de la chitine	16
2.1. Préparation de la chitine et de ces dérivés	17
• Prétraitements	17
• La déminéralisation	18
• La déprotéinisation.....	18
• La décoloration	18
• La désacétylation	18
2.2. Définition et structure du Chitosane	20
2.3. Caractéristiques physico-chimiques du chitosane	20
• Le degré désacétylation DDA	20
• La solubilité	21
• La viscosité	21
• Le poids moléculaire	22

3. Propriétés antimicrobiennes du chitosane	22
• Activité antibactérienne du chitosane.....	22
• Activité antifongique du chitosane	22
4. Propriété biologique : biodégradabilité, biocompatibilité.	23
5. Les applications du chitosane	23
• Dans le domaine biomédical et pharmaceutique.	23
• D'autres applications.	24

Chapitre III : Les émulsions et les pansements.

1. Les émulsions	25
1.1. Qu'est-ce qu'une émulsion ?	25
1.2. Les différents types d'émulsion	26
1.3. La stabilité d'émulsion	26
• Définition du l'agent émulsifiant TA	26
1.4. Domaine d'application des émulsions	27
1.5. Mécanisme d'absorption à travers la peau	27
2. Les produits pharmaceutiques	28
2.1. Les dispositifs médicaux	28
2.2. Les pansements	28
2.3. Les types de pansement	28
• Alginates	28
• Hydrocellulaires	28
• Hydrocolloïdes	29
• Hydrogels	29
• Pansements vaselinés	29
• Interfaces	29
• Pansements au charbon actif	29
• Pansements à l'argent	29
• Pansements à base d'acide hyaluronique	29

2.4. Stérilisation des pansements	30
2.5. Intérêt du pansement	30
2.6. Le pansement idéal	30

Chapitre IV. Matériel et méthodes.

Introduction	31
1. Matériel	32
1.1. Les produits utilisés pour l'extraction du principe actif	32
1.2. Matières premières entrant dans la formulation	32
1.3. Matières premières entrant dans le confectionnement des pansements	35
2. Méthodes	37
I. Extraction du chitosane à partir de l'os de sépia	37
I.1. Extraction de la chitine	37
a_ Déminéralisation	38
b_ Déprotéinisation	38
I.2. Préparation du chitosane par désacétylation de la chitine	39
I.3. Caractérisation physico-chimique du chitosane	39
I.3.1. Test de solubilité	39
I.3.2. Détermination du degré de désacétylation par la Spectroscopie infrarouge	40
I.3.3. Mesure du poids moléculaire du Chitosane par le Rhéomètre	41
I.3.4. Détermination du test d'écoulement par rhéologie	43
II. Préparation des émulsions	44
1. Préparations de la phase aqueuse	44
2. Préparation de la phase huileuse	44
3. Préparations de l'émulsion	45
4. Caractérisation de l'émulsion formulée	49
4.1. Test de stabilité	49
4.2. Détermination du pH	50

4.3. Test d'homogénéité	50
4.4. Le sens de l'émulsion	51
4.5. Étude de comportement rhéologique	51
✓ Test d'écoulement	51
✓ Test de viscoélasticité	52
4.6. Caractérisations biologique de l'émulsion : Activité antibactérienne.....	52
III. Préparation des pansements	54
1. Conditionnement des pansements	54
2. Caractérisation des pansements	54
2.1. Uniformité du poids.....	54
2.2. Poids et épaisseur du pansement	55
2.3. Endurance de pliage	55
2.4. Pourcentage d'humidité	55
2.5. Uniformité du contenu	56
2.6. Force d'allongement.....	56
2.7. Caractérisation par microscopie électronique à balayage (MEB)	57

Chapitre V : Résultats et discussions.

I. Extraction du chitosane à partir de l'os de sépia	58
I.1. Extraction de la chitine	58
I.2. Préparation du chitosane par désacétylation de la chitine	58
I.3. Caractérisation physico-chimique du chitosane	58
I.3.1. Test de solubilité	58
I.3.2. Détermination du degré de désacétylation par le Spectroscopie infrarouge	59
• La chitine	59

• Le chitosane	60
I.3.3. Mesure du poids moléculaire du Chitosane par le Rhéomètre	62
I.3.4. Détermination de test d'écoulement par rhéologie	63
II. Préparation des émulsions.	64
1. Caractérisation de l'émulsion formulée	64
1.1. Test de stabilité	64
1.2. Détermination de pH des émulsions stables	65
1.3. Test d'homogénéité	66
1.4. Le sens de l'émulsion	66
1.5. Étude du comportement rhéologique	67
✓ Test d'écoulement	67
✓ Test de viscoélasticité	68
1.6. Caractérisations biologique du chitosane : Activité antibactérienne	69
III. Préparation des pansements	70
1. Conditionnement des pansements	70
2. Caractérisation des pansements	70
2.1. Uniformité du poids	70
2.2. Poids et épaisseur du pansement	71
2.3. Endurance du pliage	72
2.4. Pourcentage d'humidité	72
2.5. Force d'allongement	73
2.6. Uniformité du contenu	74
2.7. Caractérisation par microscopie électronique a balayage	75
Conclusion	77

LISTE DES ILLUSTRATIONS

Chapitre I: Anatomie de la peau et les brûlures cutanées.

Figure I.1. Structure de la peau humaine : l'épiderme, le derme et l'hypoderme.....	4
Figure I.2. Structure de l'épiderme.....	5
Figure I.3. Les-zones-du-derme.....	6
Figure I.4. Schéma de l'hypoderme.....	7
Figure I.5 : Représentation schématique des vaisseaux de la peau.....	8
Figure I.6. Classification des brûlures en fonction de leur profondeur.....	10
Figure I.7. Anatomie de la peau après brûlure de différents degrés	12
En gris : zone de nécrose ; en bleu : œdème.	
Figure I.8. Schéma des quatre phases du processus de cicatrisation cutanée.....	13
Figure I.9. Processus de cicatrisation.....	14

Chapitre II : chitosane, le biopolymère étudié.

Figure II.1. Structure moléculaire de la chitine.....	16
Figure II.2. Schéma simplifié des trois formes cristallines de la chitine.	17
Figure II.3. Schéma représente la production de la chitine et du chitosane d'après Onsoyen et Skaugrud.	19
Figure II.4. Structure de chitosane.	20

Chapitre III : les émulsions et les pansements.

Figure III .1. Une émulsion : phase dispersée et phase dispersante.....	25
Figure III .2. Schéma des émulsions classiques : huile-dans-eau et eau-dans-huile.	25
Figure.III .3. La schématisation classique des tensioactifs met en évidence un pôle hydrophile et un pôle hydrophobe.	27

Chapitre IV. Matériel et méthodes.

Figure IV.1 : La cire d'abeille.	33
Figure IV.2 : Huile de paraffine.	34
Figure IV.3 : Vaseline blanche.....	34
Figure IV.4 : Le beurre de karité.	35
Figure IV.5 : sparadrap Multi-extensible.....	36
Figure IV.6 : (a) Image par microscopie électronique à balayage (x200) du textile PET non-tissé. Les fibres présentent un diamètre de $16,65 \pm 1 \mu\text{m}$. (b) polyéthylène non-tissé.	37
Figure IV.7 : Préparation de la matière première.....	38
Figure IV.8 : Différentes étapes de l'extraction du chitosane (Déminéralisation, Déprotéinisation, Désacytellation).....	39
Figure IV.9 : Solubilisation du chitosane.....	40
Figure IV.10 : Les différentes étapes de préparation des pastilles pour l'analyse IR.....	41
Figure IV.11 : les dilutions préparées pour la mesure du poids moléculaire.....	43
Figure IV.12 : Préparation des émulsions par l'ultra turrax.....	45
Figure IV.13 : Les formulations préparées.....	48
Figure IV.14 : Test de Centrifugation	49
Figure IV.15 : pH mètre.....	50
Figure IV.16 : Un microscope optique.....	50
Figure IV.17 : Le rhéomètre.....	52
Figure IV.18 : Pansement obtenu.....	54
Figure IV.19 : Le test de l'uniformité du poids.....	55
Figure IV.20 : Le test de pourcentage d'humidité.....	56

Chapitre V : Résultats et discussions.

Figure V.1 . Chitosane préparé au laboratoire.	58
--	-----------

Figure V.2. Spectre FTIR de la chitine extraite.	60
Figure V.3. Spectre FTIR du chitosane commercial (en noire) et chitosane préparé (en rouge).....	61
Figure V.4. Variation de la viscosité réduite en fonction de la concentration du chitosane...	62
Figure V.5. : Comportement rhéologique: test d'écoulement de gel du chitosane.....	63
Figure V.6. Observation de l'émulsion stable au microscope photonique GR ×40.....	66
Figure V.7. Conductimètre.....	66
Figure V.8. Courbe d'écoulement ajusté par les modèles de corse.....	68
Figure V.9. Variation des deux modules de conservation G' et de perte G'' en fonction de la déformation.....	68
Figure V.10. L'effet de l'émulsion sur la reproduction des différentes bactéries.....	69
Figure V.11. : Mesure d'épaisseur du pansement à l'aide d'un pied à coulisse.....	71
Figure V.12. Pliage et dépliage du pansement.....	72
Figure V.13. Variation de taux d'humidité en fonction du temps.....	73
Figure V.14. Test de force d'allongement.....	73
Figure V.15: Spectre FTIR du pansement.....	74
Figure V.16 : Image microscopique électronique à balayage (a) polyéthylène sans produit (b) polyéthylène avec produit.....	75

LISTE DES TABLEAUX

Tableau II.1. Principales Applications du chitosane.....	24
Tableau IV.1 : Produits chimiques utilisés.....	32
Tableau IV.2 : les combinaisons déduite du plan adopté dans cette étude (formulation 1)...	46
Tableau IV.3 : les combinaisons déduite du plan adopté dans cette étude (formulation 2)...	46
Tableau IV.4 : les combinaisons déduite du plan adopté dans cette étude (formulation 3)...	47
Tableau IV.5 : les combinaisons déduite du plan adopté dans cette étude (formulation 4)...	47
Tableau IV.6 : les combinaisons déduite du plan adopté dans cette étude (formulation 5)...	48
Tableau V.1 : Résultat du test de solubilité du chitosane extrait et commercial à différente concentration d'acide acétique.....	59
Tableau V.2 : Bandes d'absorption FTIR de la chitine.....	60
Tableau V.3. Principales bandes d'absorption FTIR de chitosane.....	61
Tableaux V.4. Les résultats obtenus par la centrifugation.....	64
Tableau V.5: Le test de stabilité par température des différentes émulsions.....	65
Tableau V.6. Les valeurs obtenues du test de pH des deux émulsions stable.....	65
Tableau V.7. Résultat obtenu par le test antibactérien.....	69
Tableau V.8. : Les résultats d'uniformité du poids.....	70
Tableau V.9 : Résultat du poids de pansements.....	71
Tableau V.10 : Variation de taux d'humidité en fonction de temps.....	72
Tableau V.11: La variation de la longueur sous l'effet de force d'allongement.....	74
Tableau V.12: Principales bandes d'adsorption de la poudre du chitosane.....	75

LISTE DES ABREVIATIONS

DM : dispositif médicaux.

PA : Principe actif.

T : Température.

TA : tension actif.

°C : Degré Celsius.

E/H : Eau dans huile.

H/E : Huile dans l'eau.

E/H/E : eau dans huile dans l'eau.

H/E/H : huile dans l'eau dans huile.

CA : Cire d'abeille.

BA : beurre de karité.

pH : Potentiel hydrométrique.

mm : millimètre.

Δ : Conductivité.

g : Gramme.

Φ H : Phase organique.

Φ A : Phase aqueuse.

DDA : Degré de déacétylation.

FTIR : Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier « Fourier transform infrared spectroscopy ».

DA : degrés de désacétylation.

HCL : Acide chlorhydrique.

NaOH : Hydroxyde de sodium.

CHT : Chitosan.

IR : Infra-rouge.

PM : poids moléculaire.

PET : Polyéthylène téréphtalate.

PA : Principe actif.

PKa : Indice de la constante d'acidité.

EDTA : acide éthylène diamine tétra-acétique.

LISTE DES SYMBOLES

Symboles	Désignation	Unité
η	Viscosité apparente	[Pa. s]
G'	Module de conservation	[Pa]
G''	Module de perte ou de dissipation	[Pa]
τ_{seuil}	Contrainte de seuil	[Pa]
m_{moy}	masse moyenne	Gramme
n	Quantité de matière	Mole
F	Temperature de fusion	C°
A	Absorbance	m^{-1}
C	concentration	g/L
M	Poids moleculaire	Daltons
K, α	Constantes de Mark-Houwink	Sans unité

INRODUCTION

La peau est l'organe le plus étendu de notre organisme. Elle assure, à la fois, un rôle de barrière contre les agressions extérieures (bactérienne, abrasion, ...), et à la fois, elle subit de nombreux dommages, plus ou moins graves et plus ou moins profonds : brûlures (température, radiation) [1].

Selon l'organisation mondiale de la santé, les brûlures représentent un problème de santé publique majeur, étant responsables, selon les estimations, de 180 000 décès par an. D'autre part, les brûlures affectent le moral des patients, et crée un inconfort, en raison de la douleur excessive, l'isolement, le stress et la dépression influent négativement sur le système immunitaire augmentant ainsi le temps de guérison, d'où l'importance de traiter immédiatement et efficacement ces plaies [2].

Cependant, dans le cas de blessure trop profonde avec une perte de substance importante, la cicatrisation ne peut pas se dérouler correctement. En effet, dans certains cas la peau est dans l'incapacité de se régénérer seule rapidement et d'assumer ses différents rôles. Le patient est alors exposé à de nombreux risques (infection, dessèchement des tissus, ...), pouvant amener à une détérioration de son état, voire à son décès. Le traitement des brûlures représente une préoccupation majeure pour l'équipe médicale qui doit traiter le patient brûlé, pour assurer sa survie dans un premier temps, puis limiter les séquelles cutanées invalidantes d'un point de vue fonctionnel et/ou esthétique.

De nombreux dispositifs médicaux sont ainsi élaborés et développés pour le traitement spécifique de ces plaies. Cela concerne notamment les pansements qui peuvent être de différentes origines (naturelle ou synthétique) et peuvent être inactifs ou actifs [3].

Dans cette perspective, l'objet de notre travail est de concevoir de nouveaux pansements à base de bio polymères à libération prolongée pour la régénération du tissu cutané, après une brûlure profonde, des émulsions à base de chitosane élaborées au laboratoire, ce principe actif a déjà rencontré des propriétés cicatrisantes intéressantes au cours d'une étude préliminaire, l'avantage de ces pansements de chitosane c'est qu'ils sont antiallergiques, car il sont à base de bio polymère , sont faciles appliquer aux patients brûlées par rapport aux crèmes pour éviter de toucher les brûlures, aussi diminuer la douleur, d'être le moins traumatisant possible pour les enfants au moment de sa réfection, de protéger la brûlure des souillures; d'éviter la surinfection de la plaie, et le plus important est de favoriser la cicatrisation .

Le travail de notre mémoire s'articule autour de cinq parties distinctes, la première, la partie bibliographique vise à introduire d'une manière générale la physiologie de la peau, les brûlures cutanées, le chitosane et les émulsions, ainsi que le choix idéal d'un pansement.

Cette partie sera suivie d'une partie décrivant les matériels et méthodes utilisés. La dernière partie présentera les résultats obtenus et leurs interprétations. Ce manuscrit se termine par une conclusion générale qui regroupe l'ensemble des résultats obtenus et les perspectives envisagées.

Chapitre I: Anatomie de la peau et les brûlures cutanées.

Introduction :

La peau est un tissu à trois composantes : l'épiderme du grec « épi » (dessus) et « derma » (la peau), le derme et l'hypoderme du grec « hypo » (dessous) [4]. Cet organe vital dont l'épaisseur varie d'environ 1 à 2 m² de surface, de 0,5 à 4 mm d'épaisseur et de 4 kg chez l'adulte. Sa température varie de 32C° à 36C° [5].

La peau constitue l'enveloppe corporelle qui assure l'interface physique entre les milieux extérieur et intérieur. Elle joue le rôle de barrière de protection contre les agressions externes multiples et évite la déshydratation de l'organisme. Elle est le siège de nombreux processus métaboliques et assure des fonctions sensorielles, immunitaires et thermorégulatrices [6].

Cette barrière de protection se détruit par plusieurs raisons : les plaies, les brûlures. La brûlure est définie comme étant une destruction du revêtement cutané, parfois même des structures sous-jacentes par un agent thermique, chimique, électrique ou par des radiations ionisantes [7]. Cette destruction de revêtement cutanée va expliquer l'aspect de brûlure locale ou générale [8].

Les brûlures peuvent être classées en fonction de leurs critères de gravité, de leur profondeur différente [5]. Selon les profondeurs des lésions, les brûlures sont classées en trois degrés [8].

I. Anatomie et physiologie de la peau :

I.1. Les fonctions de la peau :

La peau remplit différentes fonctions :

- **Rôle de perception** : les terminaisons nerveuses ressentent chaleur, froid, tact, douleur et prurit. Ces perceptions ont un intérêt de défense et d'adaptation au milieu environnant (mobilisation, échanges thermiques).
- **Rôle de défense** avec protection contre les entrées ou les sorties d'eau, la pénétration de substances chimiques ou d'agents infectieux.
- **Rôle de renouvellement** (épiderme, cycle pileux), de synthèse de la vitamine D, d'élimination et d'échanges (thermorégulation) [5].
- **I. 2. La structure de la peau :**

Structuralement, la peau est composée de 3 couches superposées qui, de la plus externe à la plus interne sont : **l'épiderme, le derme et l'hypoderme** (Figure I.1).

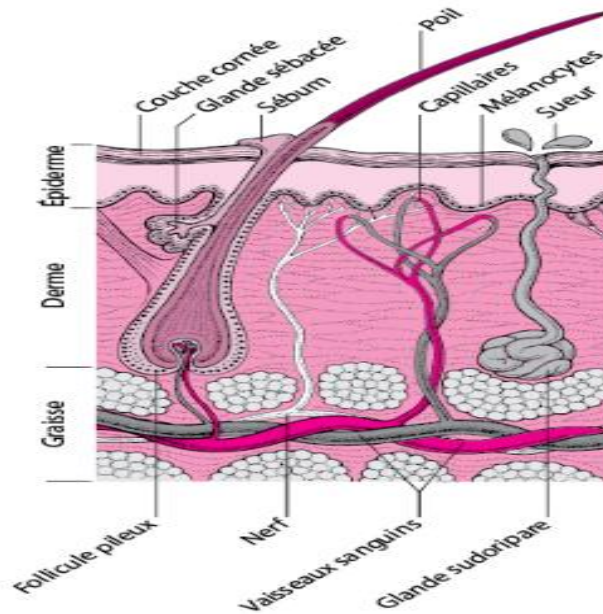


Figure I.1. Structure de la peau humaine : l'épiderme, le derme et l'hypoderme [9].

I. 2. 1. L'épiderme :

La couche la plus superficielle de la peau. Elle est composée majoritairement de kératinocytes [10], Il se définit comme une zone cellulaire innervé mais non vascularisée qui assure la protection de la peau [11].

L'épiderme est constitué de quatre populations cellulaires différentes :

- **Les kératinocytes,**
- **Les mélanocytes**
- **Les cellules de Langherans**
- **Les cellules de Merkel**

I.2.1.1. Les kératinocytes : sont des cellules constituant près de 90 % de l'épiderme et des phanères (ongles, cheveux, poils) [5].Leurs fonctions ne se limitent pas uniquement à un rôle de barrière, mais aussi ils ont une activité immunologique [8]. Ils synthétisent la kératine, qui assure à la peau sa propriété d'imperméabilité et de protection extérieure [5].

a. La couche basale : appelée « stratum basal » ou « couche germinative » constitue la couche de l'épiderme la plus profonde [12]. Assurent la régénération continue de la peau

grâce à la division cellulaire. Les mélanocytes, cellules produisant les pigments, se trouvent également dans la couche basale [5].

b. La couche épineuse : est également appelée « stratum spinosum » ou « couche du corps muqueux de Malpighi » [12]. Ces cellules proviennent de la couche basale et migrent vers la couche granuleuse [13]. Cette couche est constituée de la superposition de 4 à 5 épaisseurs de kératinocytes liés entre eux [5].

c. La couche granuleuse : aussi appelée « stratum granulosum », Elle est formée de 1 à 3 assises de kératinocytes aplatis, fusiformes et disposés parallèlement à la surface cutanée. Ils contiennent des grains de kératohyaline formés d'une protéine nommée profilaggrine, et des kératinosomes (ou Corps d'Odland) intervenant dans la constitution d'un manteau lipidique péricellulaire [6].

d. La couche cornée : Il s'agit de la couche la plus externe de l'épiderme. Son épaisseur varie selon sa localisation [12]. Elle est constituée de 4 à 20 couches de cellules aplaties kératinisées, parmi lesquelles on trouve les cornéocytes remplis de kératine et de filaggrine [14].

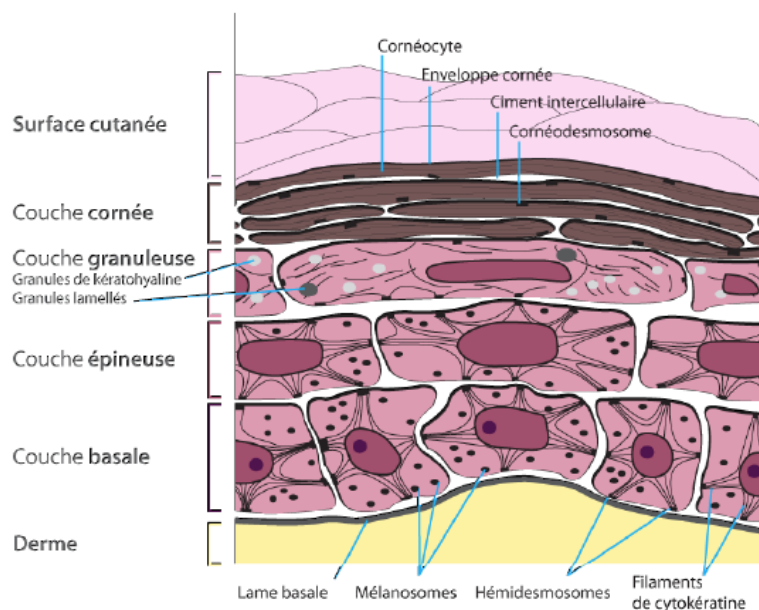


Figure I.2. Structure de l'épiderme [15].

I.2.1.2. Les mélanocytes : les mélanocytes qui sont la deuxième grande population cellulaire de l'épiderme et dont la fonction est d'assurer la synthèse des mélanines. Ces dernières ont pour rôle de donner à la peau sa couleur [16].

I.2.1.3. Les cellules de Langerhans : appartiennent au groupe des cellules dendritiques présentatrices des antigènes au lymphocyte T [8]. Elles représentent 3 à 4% de la population cellulaire épidermique [13].

Elles constituent des éléments essentiels du système de défense de l'organisme [5]. Ces cellules de Langerhans ont en effet un rôle primordial dans la réponse immunitaire. Grâce à leurs récepteurs, elles vont détecter les corps étrangers cutanés (antigènes) [12].

I.2.1.4. Les cellules de Merkel : constituent la quatrième population cellulaire de l'épiderme, elles jouent un rôle important dans le maintien de la fonction de la peau [8]. Elles sont présentes dans la couche basale et dispersées entre les kératinocytes [13].

I. 2. 2. Le derme :

Le derme est la couche de tissu conjonctif localisée juste au-dessous de l'épiderme [10]. Vient du latin « derma » signifiant peau, forme une barrière bien définie entre l'épiderme [5]. Il contient dans sa structure des cellules comme les fibroblastes, les mastocytes, les macrophages et les cellules dendritiques dermiques. Il contient aussi trois types de fibres : l'élastine, le collagène, la réticuline, et la substance fondamentale qui est constituée en grande partie de polysaccharides dont l'acide hyaluronique, et des protéines [17].

Cette zone peut elle-même être divisée en deux autres couches, soit le derme papillaire et le derme réticulaire (Figure I.3) [10].

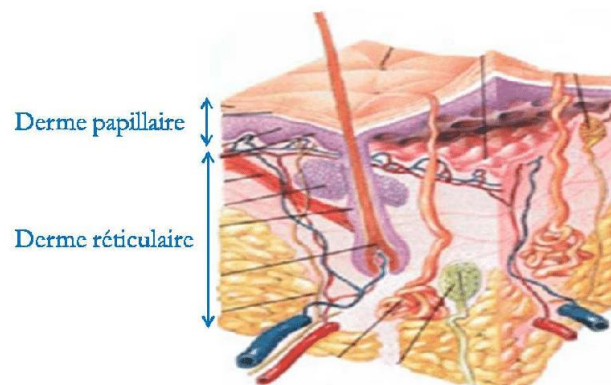


Figure I.3. Les-zones-du-derme [18].

- **Le derme papillaire** : situé sous la jonction dermo-épidermique, très vascularisé et riche en fibres de collagène orientées perpendiculairement à l'épiderme [14].

- **Le derme réticulaire** ou profond se différencie du derme papillaire par un tissu conjonctif dense, principalement constitué de collagène de type I et de fibres d'élastine [6].

I. 2. 3. Hypoderme :

Couche la plus profonde de la peau, elle constitue la graisse plus ou moins épaisse selon les individus, elle est contenue dans des lobules séparés les uns des autres par des fibres identiques à celles du derme, ces fibres assurant à la fois la nutrition et la tenue de l'hypoderme[19].

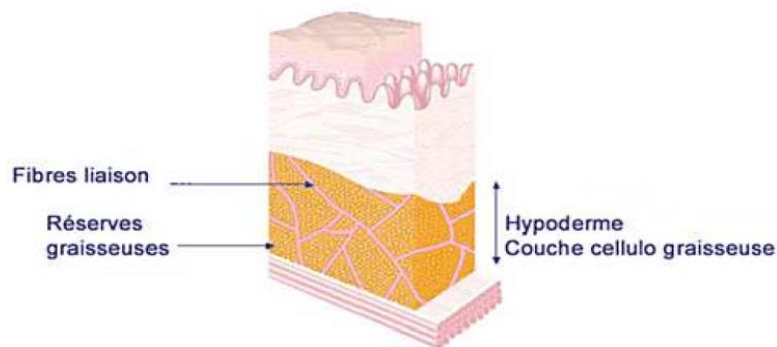


Figure I.4. Schéma de l'hypoderme [20].

L'hypoderme est essentiellement constitué de tissu adipeux blanc, situé juste en-dessous du derme, et attaché à lui par des expansions de fibres de collagène et de fibres élastiques [14].

I.3. Vascularisation cutanée :

Le réseau de vascularisation se divise en trois plexus :

-**Le plexus profond** est le plus important. Les vaisseaux qui le constituent proviennent du tissu conjonctif sous cutané et cheminent dans le derme profond où il irrigue les bulbes et follicules pileux avant de rejoindre le derme moyen.

-**Le plexus moyen** responsable de l'irrigation des glandes annexes.

-**Le plexus superficiel** permet l'irrigation de l'épiderme, il se situe dans la partie très superficielle du derme et intervient dans le rôle d'isolant thermique de la peau [21].

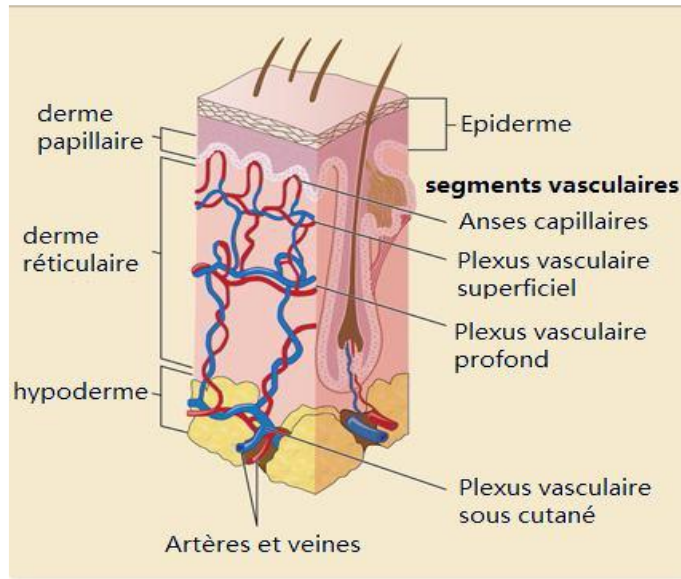


Figure I.5 : Représentation schématique des vaisseaux de la peau [22].

II. Les brûlures cutanées :

II. 1. Étiologie des brûlures :

II.1.1.Brûlure électrique (4%) :(ou brûlures électrothermiques) résultent du passage d'un courant électrique à travers l'organisme, souvent très profondes, elles peuvent aboutir à des gestes d'amputation [22].

Il existe deux types de brûlures électriques :

- **Les brûlures électriques vraies :** par contact direct avec le conducteur ou l'arc électrique. Le courant passe à travers le corps et provoque des brûlures profondes le long de son parcours (c'est-à-dire le long des axes vasculo-nerveux) entre les points d'entrée et de sortie.
- **Les brûlures par flash :** sans passage de courant, provoquent des lésions cutanées thermiques. Ce sont souvent des brûlures superficielles touchant les parties découvertes du corps [5].

II.1.2.Brûlure chimique (3%):

Les brûlures chimiques surviennent essentiellement lors d'accidents de laboratoires. Elles sont dues à des acides ou des bases. Le plus important est de les diluer à grande eau [5].

La profondeur de la brûlure dépend de la nature du produit et de la durée du contact, ce sont des accidents ménagers [5].

- **Les brûlures par les acides** entraînent une nécrose de coagulation typique. Cela crée une barrière qui limite sa progression en profondeur. Seul l'acide fluorhydrique peut provoquer des brûlures par liquéfaction très profondes.
- **Les brûlures par les bases** sont beaucoup plus graves et plus profondes. Elles provoquent des nécroses par liquéfaction. Par conséquent le produit continue à pénétrer jusqu'à ce qu'il soit neutralisé ou éliminé. Ces brûlures sont évolutives, il faut donc les réévaluer régulièrement [5].

II.1.3.Brûlure thermique (92%) :

Plus de 90 % des brûlures sont des brûlures thermiques. La plupart sont provoquées par des liquides brûlants, soit par projection de liquide (queue de casserole avec de l'eau bouillante, café, thé, soupe...) ou par immersion (baignoire, bassine...). Ce sont les liquides chauds qui

représentent le plus grand danger chez les enfants, pour lesquels, entre 1 et 4 ans, la probabilité de se brûler est multipliée par trois [5].

Elles sont d'autant plus graves que la température est importante et que le temps de contact est élevé. °C Temps nécessaire pour une atteinte cutanée [23].

- À 70°C induit une brûlure immédiatement.
- À 60°C induit une brûlure au bout d'une seconde.
- À 50°C induit une brûlure en 5 minutes [24].

II.1.4. Brûlures par irradiation (1%) :

Les accidents d'irradiation résultent le plus souvent d'accidents d'exposition industriels (exemples : Hiroshima, Nagasaki à Tchernobyl). On retrouve aussi des accidents radiologiques ou des brûlures à la suite de radiothérapie. Elles peuvent être nucléaires, par : Rayons X, Rayonnements ultraviolets α et β , Rayons γ et Radiations ionisantes [24].

II.2. Degrés des brûlures :

La profondeur de la brûlure dépend de l'agent vulnérant et de la durée d'exposition à celui-ci. C'est l'aspect de la brûlure qui permettra ensuite une estimation de sa profondeur. Cependant, le diagnostic est difficile à établir dans les 48 premières heures qui suivent le traumatisme car la brûlure peut évoluer et passer d'un degré de profondeur à un autre. On définit différents degrés de brûlures (figure I.6).

Actuellement, il existe quatre degrés de profondeur pour les brûlures ; ainsi on les classe en quatre groupes : **Le premier, deuxième, troisième et le quatrième degré** [24].

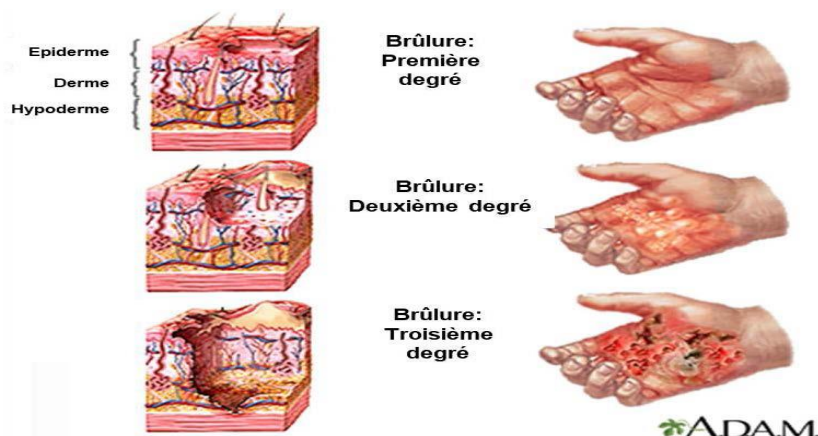


Figure I.6. Classification des brûlures en fonction de leur profondeur [17].

II.2.1. Le premier degré : Atteinte superficielle épidermique

Le premier degré correspond à une atteinte superficielle de l'épiderme. C'est ce type de brûlure que l'on observe lors d'un coup de soleil. La brûlure est douloureuse et on remarque un érythème (rougeur). La guérison est spontanée et sans séquelle [25].

II.2.2. Le deuxième degré :

On les subdivise en deux catégories : **deuxième degré superficiel** et **deuxième degré profond**, encore appelé stade intermédiaire car il peut être amélioré très vite vers un véritable troisième degré en fonction de l'état général [26].

Superficiel : Atteinte totale de l'épiderme y compris une partie de la membrane basale [5]

Ces brûlures sont caractérisées par l'apparition de phlyctènes exsudat plasmatique décollant l'épiderme du derme. La guérison est obtenue en 10 à 12 jours.

L'évolution se fera spontanément vers la guérison grâce à la cicatrisation dite « **in situ** » c'est-à-dire de la profondeur vers la superficie [7].

Profond : Atteinte complète de l'épiderme et du derme superficiel [5]

Et une atteinte profonde du derme. La peau brûlée apparaît blanche et le patient présente une hypoesthésie de la zone lésée due à une destruction de la majorité des terminaisons nerveuses cutanées. La cicatrisation est plus longue que dans les cas précédents et la cicatrisation épidermique ne peut se faire qu'à partir des berges de la plaie. Une hospitalisation est le plus souvent nécessaire [25].

- La distinction clinique de ces deux profondeurs se fait sur l'aspect et la sensibilité du plancher de la phlyctène après son excision. Dans les lésions superficielles, ce plancher apparaît rouge, bien vascularisé, excessivement sensible et spontanément douloureux. Au contraire, dans les lésions du deuxième degré profond, le plancher est blanc rosé, mal vascularisé et présente une sensibilité diminuée [27] [28].

II.2.3. Le troisième degré : Destruction totale de l'épiderme, de la membrane basale et atteinte profonde du derme ainsi que parfois de l'hypoderme [5].

Elle correspond à une atteinte de la totalité des structures de la peau, détruisant l'épiderme, le derme et parfois l'hypoderme, les muscles ou même les tendons et les os sous-jacent.

La peau brûlée reste adhérente, de couleur variable et n'a plus aucune sensibilité. Aucune cicatrisation n'est possible : la guérison ne peut être obtenue que par la réalisation d'une excision de la nécrose suivie de la pose d'auto greffe [27] [28].

II.2.4. Le quatrième degré :

Correspond à une carbonisation. Toute la peau est détruite avec une atteinte de l'hypoderme ou du muscle sous-jacent.

On considère qu'une hospitalisation est nécessaire lorsque la brûlure atteint plus de 10% de la surface corporelle, ou lorsqu'une brûlure du troisième degré affecte plus de 2 % de la surface corporelle ou des zones comme les mains, le visage ou des patients aux âges extrêmes de la vie. De plus, la présence de lésions associées telles qu'une atteinte respiratoire ou la présence de pathologies lourdes sont des motifs d'hospitalisation [25].

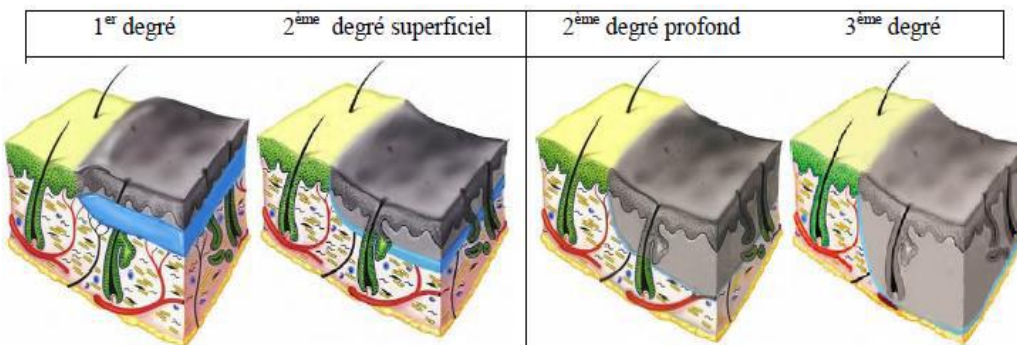


Figure I.7. Anatomie de la peau après brûlure de différents degrés

En gris : zone de nécrose ; en bleu : œdème [8].

II.3. Processus de cicatrisation cutanée :

Le processus de cicatrisation est un ensemble de phénomènes biologiques aboutissant à la reconstruction d'un tissu lésé. Le mécanisme de cicatrisation cutanée se déroule en plusieurs

phases : **une phase de l'hémostase, une phase détersivo-inflammatoire, une phase proliférative** au cours de laquelle se forme le tissu de granulation, et **une phase de remodelage**. Chaque étape est induite par la précédente et ne peut avoir lieu que si celle-ci est parfaitement achevée, ce qui souvent implique l'apoptose cellulaire. La compréhension du processus de cicatrisation est rendue complexe par le nombre des acteurs impliqués, qu'ils soient cellulaires, moléculaires ou macromoléculaires (cytokines, médiateurs inflammatoires, facteurs de croissance) [21].

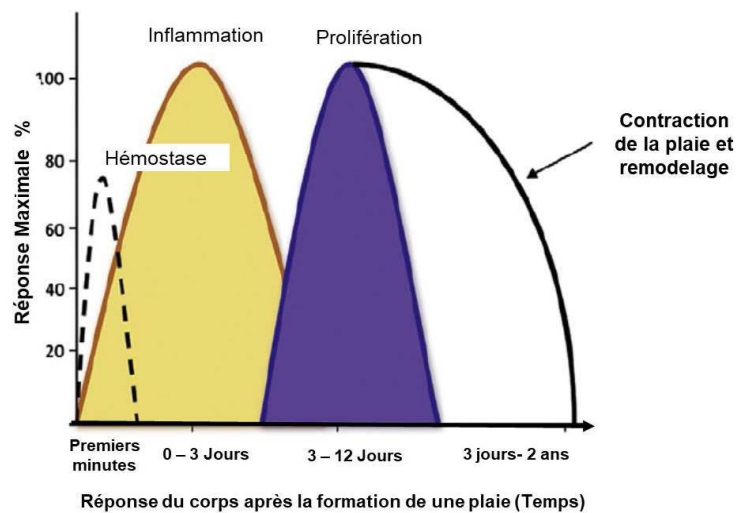


Figure I.8. Schéma des quatre phases du processus de cicatrisation cutanée [17].

- **Phase hémostase** : dès les premières secondes, les vaisseaux sanguins subissent une vasoconstriction. Le flux sanguin approvisionne le site en plaquettes qui adhèrent aux parois de la blessure et au collagène de MEC.

L'activation des plaquettes induit la formation du réseau de fibrine en une matrice provisoire stoppant le flux sanguin et génère les chemoattractants et les facteurs de croissance nécessaires aux phases suivantes. Les fibroblastes présents dans le derme intact migrent rapidement sur la matrice de fibrine et produisent une nouvelle MEC [17] [29].

- **Phase détersivo_inflammatoire** : les cellules immunitaires (monocytes, neutrophiles, macrophages) sont attirées et mobilisées par les diverses cytokines présentes sur le lieu de la plaie où elles combattent les éventuelles infections. Les macrophages, à l'aide de nombreuses protéases, assurent la détersion de la plaie (élimination des cellules mortes : épithéliales, dermales, immunitaires) et produisent les chemoattractants nécessaires à la phase suivante

[29].

- **Phase proliférative** : Cette phase commence environ 4 jours après la blessure, et dure environ 10 à 15 jours. Elle doit assurer le comblement de la plaie engendrée par la perte de substance. Les fibroblastes pénètrent dans la matrice qui forme le caillot. Ils la transforment en un gel filamenteux riche en mucopolysaccharides et en protéines. Ces éléments seront utiles à l'élaboration des fibres de collagène du tissu conjonctif.

Dans le même temps, de nouveaux petits vaisseaux capillaires apparaissent et progressent dans cette matrice pour assurer la nutrition du tissu nouvellement formé à partir des cellules du derme. Ceux-ci présentent un aspect de granulation rouge vif. Grâce à ce mécanisme, le tissu manquant est remplacé progressivement [5].

- **Phase remodelage** : La quatrième et dernière phase de la cicatrisation est très longue. Cette phase consiste au développement de l'épithélium et à la maturation de la plaie. Les fibroblastes aident à remplacer le collagène de type III par le collagène de type I qui est plus résistant à la tension et devient la protéine prédominante de la cicatrice formée. Malgré tout ce processus de remodelage, la cicatrice ne redevient jamais comme la peau saine et ne récupère jamais la tension d'origine [17].

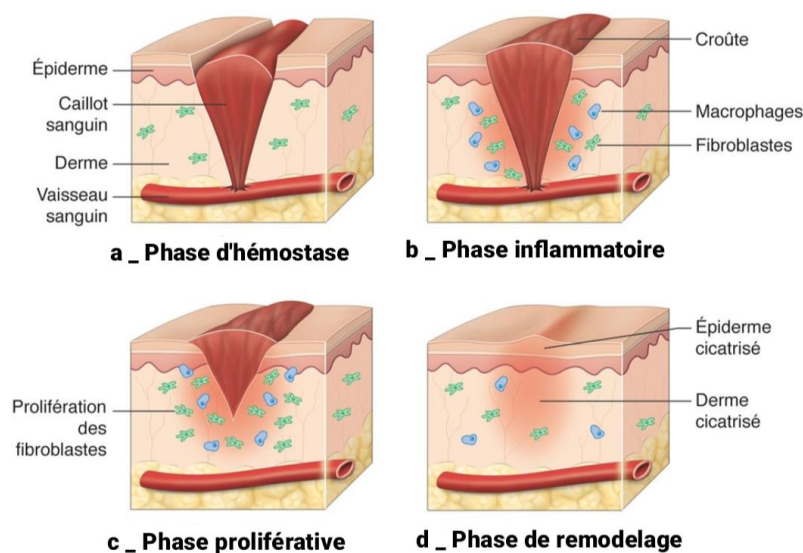


Figure I.9.Processus de cicatrisation [30].

Conclusion :

La peau est un organe à multiples facettes. C'est un organe frontière essentiel à la protection du corps face aux agressions de l'environnement, c'est un organe de contact sensoriel et d'échanges thermiques, hydriques, essentiels au maintien de l'homéostasie. Il participe à la communication sociale, c'est un organe miroir au niveau duquel se manifeste [31]. La brûlure est une pathologie locale à retentissement général par excellence. Toujours douloureuse, la brûlure mérite toute notre attention car elle engage le pronostic vital quand elle est étendue et est source d'un handicap fonctionnel et esthétique le plus souvent définitif. La prévention des accidents de brûlure demeure le maître mot dans cette pathologie. Elle passe par l'éducation des parents et des professionnels aux règles élémentaires de la sécurité dans leurs foyers et sur leurs lieux de travail [7].

Chapitre I: Anatomie de la peau et les brûlures cutanées.

1. Historique :

La découverte de la chitine par le professeur Français H.Braconn, spécialisé en Histoire de la nature, date du 18ème siècle. Les premiers brevets d'invention en Chitine furent obtenus en 1935 par Ricardo. A sous le titre, « Chitine ». Ce n'est que dans les années 1970 que ces polymères ont suscitées un réel intérêt, quand les gouvernements américain et japonais ont cherché à valoriser ces déchets et ont lancé les premiers programmes de recherche. Actuellement, il est connu que la chitine et le chitosane (collectivement appelés les substances chitineuses), sont des sources renouvelables que l'on peut trouver en abondance dans la nature [32].

2. Définition et structure de la Chitine:

La chitine est après la cellulose, le polysaccharide le plus répandu dans la nature. Dans le règne animal, elle existe sous forme de complexe avec les protéines et les minéraux. Elle est présente en particulier chez les invertébrés marins, constituant la carapace de crustacés et de mollusques. La chitine est présente également dans l'exosquelette des insectes [33].

- **Structure chimique de la chitine :**

La chitine est un polymère formé d'une répétition d'unités de N-acétyl-D- glucosamine, de formule brute $(C_8H_{13}NO_5)_n$. C'est un biopolymère linéaire à chaîne normale proche de la cellulose [34].

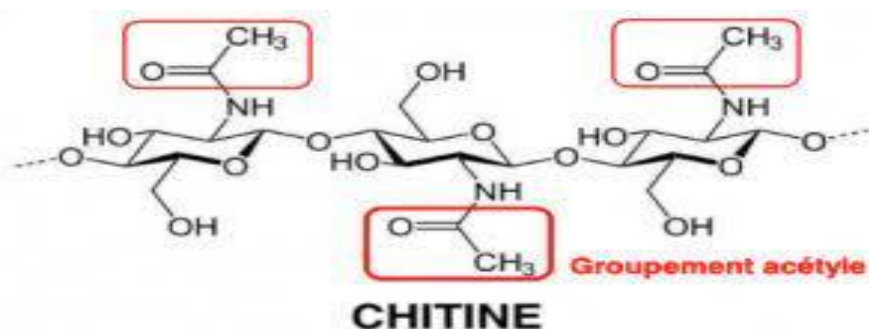


Figure II.1. Structure moléculaire de la chitine.

La chitine est un produit renouvelable, non toxique, hypoallergique et surtout biodégradable et par conséquent non polluante. Cependant, la chitine possède une structure cristalline polymorphe. Il existe trois sortes de chitine :

- α -chitine : chaînes antiparallèles.
- β -chitine : chaînes parallèles.

- γ -chitine : deux chaînes parallèles et une chaîne antiparallèle [34].

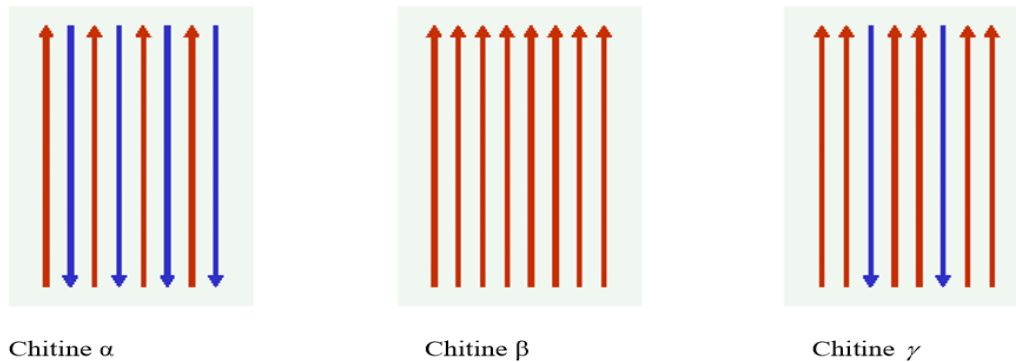


Figure II.2. Schéma simplifié des trois formes cristallines de la chitine [35].

La α -chitine est la plus abondante et se trouve dans les exosquelettes des crustacés et les parois des cellules fongiques. La β -chitine se trouve principalement dans la plume du calmar, l'os de sépia et les diatomées. Alors que la γ -chitine est peut-être prédominante dans les muqueuses de l'estomac des calmars et des seiches [36].

2.1. Préparation de la chitine et de ses dérivés :

Les déchets de l'industrie des crustacés sont une source très importante de chitine. De nombreuses méthodes ont été développées afin de préparer la chitine à partir des exosquelettes. De manière générale, ces méthodes consistent à éliminer les protéines (déprotéinisation), les éléments minéraux (démminéralisation), la couleur (blanchiment) [37].

- **Prétraitement :**

La matière première est lavée. Elle est ensuite séchée dans un flux d'air à 103 °C pendant 20 heures puis broyées de façon à obtenir des particules dont la taille est de l'ordre du millimètre, plus les réactions ultérieures seront complètes [38].

- **La déminéralisation :** Elle est généralement réalisée par un traitement acide sous agitation pour solubiliser le carbonate de calcium et le chlorure de calcium. Les acides les plus fréquemment utilisés sont l'acide chlorhydrique et l'acide formique, La durée du traitement acide est de l'ordre de 1 à 48 heures à la température ambiante [39].

- **La déprotéinisation :** A l'état naturel, la chitine se présente en association avec les protéines (Chitinoprotéine). Les protéines sont éliminées par un traitement basique en utilisant, en général, des solutions à base de NaOH, Na₂CO₃, NaHCO₃, KOH, K₂CO₃, Ca(OH)₂, Na₂SO₃, CaSO₃, ou Na₃PO₄. La durée du traitement basique est de l'ordre de 0,5 à 72 heures à hautes températures (65-100°C)[40].
- **La décoloration :** Pour les applications industrielles, la chitine obtenue à partir des différentes sources, doit être décolorée après les traitements acides et alcalins. Il peut être enlevé en utilisant des réactifs tels que l'acétone ou H₂O₂...etc.[39].
- **La désacétylation :** la chitine est partiellement désacétylée par N-désacétylation alcalines en utilisant des processus industriels pour produire différents polymères. La chitine peut être convertie en chitosane par une désacétylation alcaline homogène ou hétérogène (la plupart de ces méthodes utilisent NaOH ou NH₂-NH₂ ou par désacétylation enzymatique [39].

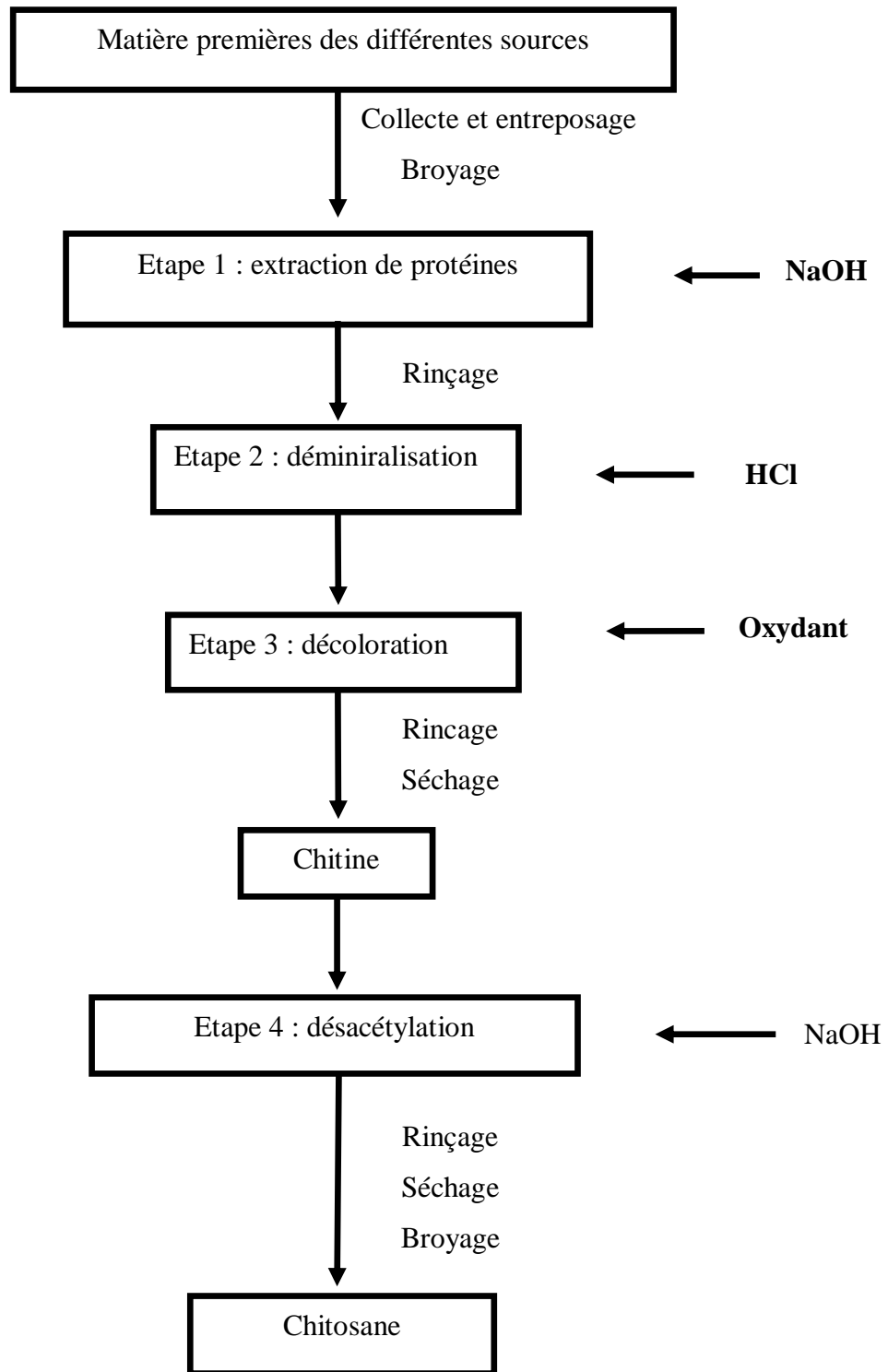


Figure II.3. Schéma représentant la production de la chitine et du chitosane d'après Onsoyen et Skaugrud [41].

2.2. Définition et structure du chitosane :

Le chitosane, dérivé désacétylé de la chitine, Il se trouve plus rarement dans la nature [33], est un copolymère linéaire d'une structure similaire à celle de cellulose : résultant de l'enchaînement répétitif de N-acétyl-D-glucosamine et D-glucosamine liées en B, (1→4), obtenu par N-désacétylation partielle chimique en milieu alcalin ou enzymatique d'un des polymères naturels les plus abondants (la chitine) [42].

La chitine est ainsi la source la plus intéressante du chitosane. Ces deux biopolymères (chitine, chitosane) se distinguent par le degré d'acétylation (DA). En général, on parle de chitosane lorsque plus de 50% des fonctions glucosamines sont désacétylées [33].

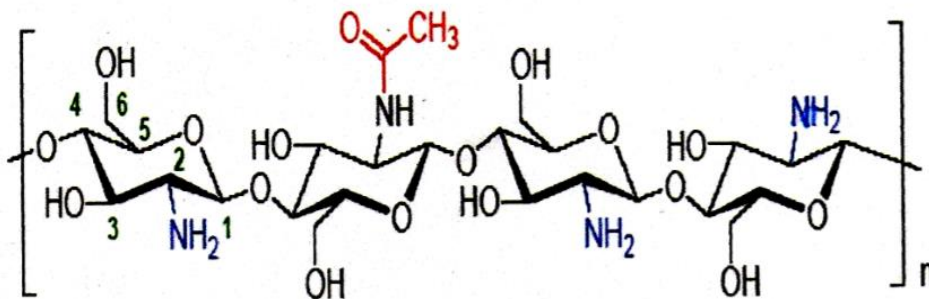


Figure II.4. Structure de chitosane [43].

2.3. Caractéristiques physico-chimiques du chitosane :

- **Le degré désacétylation DDA :**

Le degré de désacétylation (DDA) est le pourcentage molaire de l'élimination des groupements N-acétyle. Ce paramètre (DDA) influe sur toutes les propriétés physico-chimiques (poids moléculaire, viscosité, solubilité...) du chitosane, et apparaît donc comme le plus important. La détermination du DDA est l'une des analyses de routine lors de l'extraction de la chitine et la préparation du chitosane. Plusieurs méthodes sont proposées à savoir, le titrage potentiométrique, la spectrométrie infrarouge (IR), la spectrophotométrie ultraviolette visible (UVVIS) [32].

- **La solubilité :**

La solubilité du chitosane est l'un des paramètres plus importants pour la qualité du chitosane, où une plus grande solubilité produira un meilleur chitosane. Il existe plusieurs facteurs critiques affectant la solubilité du chitosane, y compris la température et le temps de désacétylation, et taille des particules [44].

Le chitosane possède des fonctions amines primaires, Sorlier et al., ont trouvé un pKa allons de 6,3 à 7,2, soluble seulement dans des solutions acides (pH < 6), et insoluble dans l'eau, dans les acides concentrés, les bases et dans les solvants organiques.

Le chitosane est soluble dans la plupart des acides minéraux dilués comme : HCl, HNO₃, H₃PO₄, il est aussi soluble dans les acides organiques comme l'acide acétique, maléique et lactique, mais insoluble dans les acides ramifiés comme : l'acide citrique, tartrique et l'EDTA [45].

- **La viscosité :**

La viscosité du chitosane dépend du degré d'acétylation de ce polymère. Plus il est désacétylé, plus il y a de groupements amines libres, plus le chitosane est soluble et ainsi sa viscosité est plus importante. La viscosité dépend également, de la concentration du polymère (elle augmente en fonction de la concentration), de la température (elle chute lorsque la température augmente), du poids moléculaire (la viscosité intrinsèque augmente en fonction de l'augmentation du poids moléculaire) et enfin du pH (plus il est bas plus la viscosité est élevée). La viscosimètre est la méthode la plus utilisée pour connaître la viscosité de la solution de chitosane. Celle-ci nécessite la connaissance des paramètres K et a de la relation de Mark Houwink.

$$\eta_{\text{intrinsèque}} = K.M^a \quad \text{Eq II.1}$$

[η] : la viscosité intrinsèque.

M : le poids moléculaire moyen du polymère.

K et a : des paramètres qui dépendent du système polymère-solvant à une température donnée [46].

- **Le poids moléculaire :**

Le poids moléculaire du chitosane peut être déterminé par HPLC. Toutefois, le viscosimètre demeure une méthode simple et rapide pour connaître le poids moléculaire en utilisant la formule de Marc-Houwink et Sakurada [32].

Le poids moléculaire moyen a été calculé à partir de l'équation suivante :

$$\eta_{\text{intrinsèque}} = K.M^a \quad \text{Eq II.1}$$

$[\eta]$ est la viscosité intrinsèque.

$[M]$ est respectivement le poids moléculaire moyen de la solution.

$[K]$ et $[a]$ sont les constantes de Mark-Houwink spécifiques à un polymère donné. [47].

3. Propriétés antimicrobiennes du chitosane :

Le chitosane et plusieurs de ses dérivés montrent une bonne à excellente propriété antimicrobienne (antibactérienne et antifongique) [48].

- **Activité antibactérienne du chitosane :**

Il a été démontré que le chitosane présente une activité antimicrobienne contre plusieurs espèces bactériennes. Cette activité constitue une propriété très importante dans la plupart des applications biologiques possibles. Le mécanisme antibactérien des chitosane est principalement lié aux groupes aminés présents dans leurs structures. Le nombre de ces groupes aminés s'est avéré jouer un rôle important dans l'activité antibactérienne et plusieurs mécanismes ont été proposés pour décrire cette activité.

Le plus admis des mécanismes est le pouvoir du changement que peut faire le chitosane sur les caractéristiques de perméabilité de la membrane microbienne, il peut, par exemple, empêcher l'entrée des nutriments dans la cellule bactérienne ou causer la fuite des constituants cellulaires et ainsi provoquer la mort des bactéries.

- **Activité antifongique du chitosane :**

La nature polycationique du chitosane leur permet de réagir avec les groupes négativement chargés des mycètes (champignons), montrant de ce fait une activité antifongique sur les

moisissures. Le mécanisme d'inhibition du chitosane contre les mycètes est également semblable à celui expliqué précédemment sur les bactéries [39].

4. Propriété biologique : biodégradabilité, biocompatibilité :

le chitosane est biodégradable et biocompatible. Il ne présente aucun comportement antigénique, mais possède un caractère antithrombogénique et hémostatique. Il montre des propriétés cicatrisantes remarquables. Le chitosane à également des propriétés inhibitrices sur la croissance de nombreux parasites et infections. Il a de plus de propriétés immunologiques, antitumorales, antibactériennes et antifongiques [49].

5. Les applications du chitosane dans le domaine biomédical et pharmaceutique :

- **Domaine biomédical :**

La chitine et le chitosane existent sous différentes formes appliquées (hydrogels, membranes, nanofibres, perles, micro/nanoparticules, échafaudages et éponges) et sont utilisés dans de nombreux types d'applications biomédicales telles que la cicatrisation, l'ingénierie tissulaire et la fabrication de lentilles pour l'ophtalmologie. Le chitosane à une activité antibactérienne nettement accrue et peut être utilisé dans les médicaments anti-inflammatoires ou comme fibre de remplissage dans les matériaux de pansement des blessures [44].

- **Application pharmaceutique :**

La principale utilisation du chitosane dans l'industrie pharmaceutique est en tant que matériau enrobant de microcapsules ou de microsphères contenant les substances à délivrer à l'intérieur de l'organisme. L'utilisation d'un matériau tel que le chitosane permet de contrôler la libération des substances par ces systèmes, de mieux atteindre les organes cibles et l'amélioration du taux de solubilité et de la disponibilité des drogues non solubles dans des phases aqueuses [43].

Tableau II.1. Principales Applications du chitosane [33].

Domaine médical	<p>Sutures chirurgicales</p> <p>Implants dentaires</p> <p>Peaux artificielles</p> <p>Reconstructions osseuses</p>
Agriculture	<p>Mécanisme défensive</p> <p>Stimule la croissance des plantes</p> <p>Enrobage (protection)</p> <p>Libération de fertilisantes et nutriments</p>
Traitement des eaux	<p>Polymère écologique</p> <p>Pouvoirs séquestrants (métaux lourds, colorants etc.)</p> <p>Diminution de la turbidité</p> <p>Diminution des odeurs</p> <p>Bactéricides</p>
Alimentaire	<p>Non digestible (diète aux fibres)</p> <p>Hypocholestérolémiant</p> <p>Agent de conservation</p> <p>Stabilisateur Antimicrobien</p> <p>Enrobage protecteur (fruits)</p>
Cosmétiques	<p>Crèmes de traitement de l'acné</p> <p>Produits hydratants</p> <p>Formulation de dentifrices</p> <p>Formulation de shampoings</p>
Biopharmaceutique	<p>Immunostimulants</p> <p>Antitumoraux</p> <p>Anticoagulants</p> <p>Libérations contrôlées (matrices)</p>

Chapitre III : Les émulsions et les pansements.

1. Les émulsions :

1.1. Qu'est-ce qu'une émulsion ?

Une émulsion est, selon la définition courante, une dispersion d'un liquide en fines gouttelettes dans un autre liquide, les deux liquides étant non miscibles : le liquide sous forme de gouttelettes est qualifié de phase dispersée, phase discontinue ou phase interne ; l'autre liquide est appelé phase dispersante, phase continue ou phase externe [50].

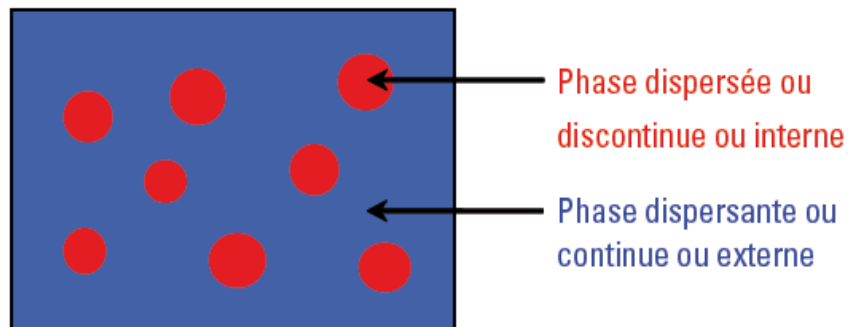


Figure III .1. Une émulsion : phase dispersée et phase dispersante.

Lorsque la phase continue est aqueuse, l'émulsion est de type huile dans eau (H/E). Lorsque la phase continue est grasse, l'émulsion est de type eau dans huile (E/H) [51].

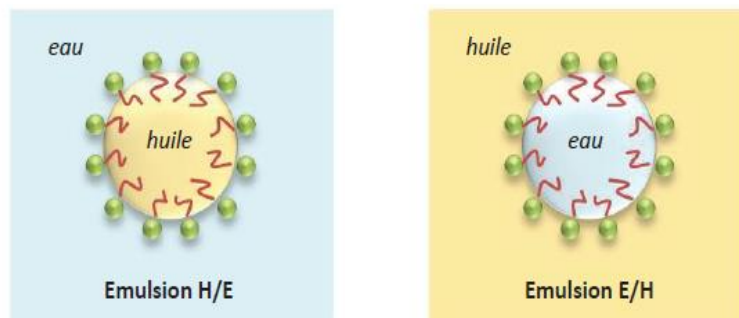


Figure III .2. Schéma des émulsions classiques : huile-dans-eau et eau-dans-huile [51].

1.2. Les différents types d'émulsion :

1.2.1.Émulsion simple :

Sont constituées d'une phase dispersée dans une phase continue et d'un émulsifiant, et sont de type « huile-dans-eau » (H/E) si la phase continue est constituée d'un liquide polaire associé (d'ordinaire, il s'agit d'eau ou d'une solution aqueuse). Dans le cas inverse, cette émulsion est appelée « eau-dans-huile » (E/H) [52].

1.2.2.Émulsion multiple :

Les émulsions doubles sont un système complexe d'émulsion dans une émulsion dans lequel les gouttelettes de la phase dispersée contiennent elles-mêmes des petites gouttelettes dispersées. Deux principaux types d'émulsions multiples existent : eau dans huile dans eau (E/H/E) et huile dans eau dans huile (H/E/H). Ces émulsions doubles sont qualifiées de « directes » ou « inverses », selon la nature aqueuse ou huileuse de la phase continue [53].

1.3. La stabilité d'émulsion :

Les émulsions peuvent être stables d'un point de vue cinétique sur une importante période de temps, ce qui détermine leur durée de vie. Néanmoins, elles sont instables du point de vue thermodynamique. En pratique, les émulsions peuvent être stables sur plusieurs années et sont donc dites métastables à l'échelle de vie du produit.

La stabilisation du système peut être améliorée par l'ajout de stabilisants qui sont dans le cas classique des tensioactifs.

- Les agents émulsifiants **TA** : ont la particularité d'être amphiphiles (une partie apolaire et lipophile, l'autre polaire et hydrophile). Cette structure leur permet de se placer à l'interface huile-eau des gouttes d'émulsions selon leur affinité avec chacune des phases. En se plaçant à l'interface, l'énergie libre interfaciale est abaissée, ce qui permet de stabiliser l'émulsion [54].

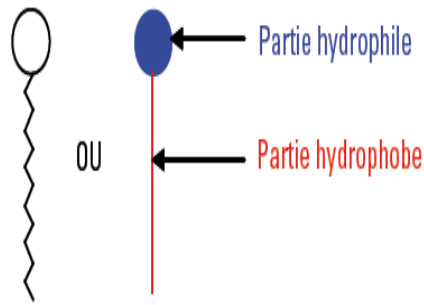


Figure III .3. La schématisation classique des tensioactifs met en évidence un pôle hydrophile et un pôle hydrophobe [50].

1.4. Domaines d’application des émulsions :

Les émulsions sont utilisées dans des domaines d’application très variés. En effet, elles sont formées à partir de deux liquides immiscibles et leur structure compartimentée en fait une classe de matériaux intéressante pour encapsuler des actifs, modifier la texture [55].

- **Les émulsions dans le domaine pharmaceutique :**

Les émulsions sont particulièrement utiles dans l’industrie pharmaceutique pour transporter et protéger des principes actifs. Les actifs pharmaceutiques encapsulés dans ces émulsions peuvent être délivrés par voie orale, topique, mais aussi Parentérale, en tant qu’adjuvant dans des vaccins par exemple [55].

1.5. Mécanisme d’absorption à travers la peau :

La peau est apparue comme un portail de délivrance de médicaments, et le nombre de médicaments topiques est en constante progression. Au départ les formulations étaient réalisées pour des traitements locaux de pathologies cutanées [56].

La surface extérieure de la peau constitue une barrière très efficace mais elle peut cependant être traversée par de petites quantités de substances lipophiles capables de pénétrer dans les couches cornées. Si ces substances possèdent aussi une certaine hydrophilie, elles pourront avoir une diffusion plus profonde et même parfois une absorption systématique. En dessous de la couches cornée, l’épiderme est une barrière moins efficace, sa perméabilité étant comparable à celle des autres membranes biologiques. Du fait de la perméabilité réduite de la peau, il n’y a qu’une faible fraction de la substance déposée qui est réellement absorbée et seules les substances très actives peuvent avoir une action générale par cette voie [57].

2. Les produits pharmaceutiques :

Peuvent être des médicaments, dispositifs médicaux ou bien des compléments alimentaires.

2.1. Les dispositifs médicaux :

On entend par dispositif médical tout appareil, instrument, logiciel, substance, objet et en général tout produit destiné à un usage médical dont l'action essentielle n'est pas obtenue par un médicament mais dont l'action principale peut être assistée par ce moyen [58].

- Les dispositifs médicaux recouvrent donc un large éventail de produits parmi ces dispositifs : les pansements.

2.2. Les pansements :

Le « pansement » est un dispositif médical utilisé pour ” couvrir, protéger, absorber les sécrétions et favoriser la cicatrisation des plaies ”.

Selon le Dictionnaire Larousse, le pansement est “ l’action de panser une plaie. C’est le “ Recouvrement d’une plaie au moyen de compresses stériles, fixées par un bandage ou de l’adhésif ”. Dans le but de favoriser sa guérison et par conséquent, la protéger contre une contamination extérieure [59].

2.3. Les types de pansements :

En fonction de leurs matériaux et de leurs propriétés, les pansements actifs appartiennent à différentes classes [60].

•**Alginate** : ces pansements sont composés majoritairement (> 50 %) d’alginate, avec ou sans carboxyméthylcellulose (CMC). Les alginate sont des polymères d’acides alginiques obtenus à partir d’algues [61], Ils existent sous forme de compresses ou de mèches Pansements qui ont un forte capacité d'absorption des exsudats (environ 15 fois leur poids) [61].

•**Hydrocellulaires** : Pansements hydrocellulaires sont composés de trois couches :

- interne (couche de transfert non adhérente au contact des exsudats, adhésive sur peau saine, face microperforée en polyuréthane ou silicone) ;
- centrale (couche absorbante en non-tissé permettant le transport des exsudats, mousse de polyuréthane, hydrophile) ;
- externe (film de polyuréthane). Ils ont un haut pouvoir absorbant, n'adhèrent pas à la plaie, respectent les néobourgeons, ne se délitent pas et maintiennent un milieu humide [62].

• **Hydrocolloïdes** : ce sont des pansements constitués de polymères absorbants, dont les propriétés sont liées à la présence de carboxyméthylcellulose. Ils existent sous forme de plaques adhésives, de poudres ou de pâtes.

• **Hydrogels** : les hydrogels sont des gels contenant plus de 50 % d'eau. Ils sont principalement destinés à assurer l'humidification des plaies. Ils existent sous forme de plaques, de compresses imprégnées et de gels.

• **Pansements vaselinés** : ce sont des pansements constitués d'une trame, imprégnée ou enduite de vaseline. Leur retrait est parfois douloureux, car ils adhèrent peu à peu à la plaie.

• **Interfaces** : les pansements interfaces sont constitués d'une trame enduite de polymères de différents types, tels que du gel de silicone. Ils se distinguent des simples pansements gras par une adhérence faible, qui ne s'accroît pas tout au long de l'utilisation au contact direct de la plaie (absence de migration de la substance imprégnée ou enduite), afin de limiter le traumatisme et la douleur induits par le retrait du pansement.

• **Pansements au charbon actif** : utilisent différents supports auxquels a été ajouté du charbon actif pour réduire les exsudats modérés et absorber les mauvaises odeurs issues des plaies. Ils ont une activité antibactérienne et sont disponibles sous la forme de plaques et de compresses [63].

• **Pansements à l'argent** : ils sont constitués de différents supports (crèmes, compresses, plaques, etc.) auxquels a été ajouté de l'argent sous des formes physico-chimiques variées, théoriquement à visée antibactérienne.

• **Pansements à base d'acide hyaluronique** : ils contiennent de l'acide hyaluronique (constituant naturel du derme) à des concentrations variables. Ils existent sous diverses formes (crèmes, compresses, sprays, etc.) [61].

2.4. Stérilisation des pansements :

Ce terme est clairement défini par Micheline LE HEURT, Hervé GOMILA, Sylvie GIROT et Marie-Josée RAFAOUI dans leur ouvrage consacré à l'hygiène.

Ils notent à propos de la stérilisation que “ C'est la mise en œuvre d'un ensemble de méthodes et de moyens visant à éliminer tous les micro-organismes vivants de quelque forme que ce soit portés par un objet et parfaitement nettoyé ”.

Il existe trois modes de stérilisation proposée :

- La stérilisation au Poupinel par la chaleur sèche
- La stérilisation à l'Autoclave par la vapeur d'eau, c'est-à-dire la chaleur humide
- La stérilisation à l'oxyde d'éthylène qui est un gaz [59].

2.5. Intérêt du pansement :

Pour que le processus de cicatrisation s'effectue suffisamment rapidement et correctement (en fonction de l'âge de la personne), certaines conditions physico-chimiques indispensables doivent être rassemblées. Ainsi la température, le pH et le taux d'hydratation de la plaie sont autant de facteurs qui influencent la vitesse et la qualité de guérison d'une plaie. En 1962, Winter démontre que la cicatrisation d'une plaie recouverte par un pansement synthétique semi-occlusif est 30% plus rapide par rapport à une plaie conservée à l'air libre [64].

2.6. Le pansement idéal:

- Favorise la cicatrisation en milieu humide
- Absorbe l'excès d'exsudat
- Protège les berges de la plaie
- Protège la plaie des agressions mécaniques
- Est imperméable aux bactéries et à l'eau
- Est perméable aux échanges gazeux [65].

Chapitre IV. Matériel et méthodes.

Introduction :

Dans cette partie d'étude, nous présentons le matériel et les produits chimiques utilisés dans notre travail. Nous décrirons également la technique expérimentale utilisée, le protocole des expériences d'extraction ainsi que les méthodes d'analyse de la caractérisation utilisés et le mode de préparation des pansements.

L'objectif visé par cette étude est de formuler un pansement cicatrisant anti brulure dont le principe actif est extrait à partir l'os de sépia.

Ce travail s'est déroulé en trois étapes principales : la première consiste à extraire et identifier le principe actif. La seconde étape est la formulation d'une émulsion anti brulure. Pour ce faire, on a effectué des combinaisons , qui nous a permis de faire un balayage des concentrations des différents ingrédients rentrant dans la composition de notre émulsion et l'étude du comportement rhéologique et de la stabilité des formulations .La troisième étape est consacrée à la préparation et caractérisation des pansements .

1. Matériel :

1.1. Les produits utilisés pour l'extraction du principe actif :

Le chitosane a été extrait à partir de l'os de sépia. Le tableau IV.1 regroupe les produits chimiques utilisés, leurs rôles et origines lors de l'extraction du chitosane.

Tableau IV.1 : Produits chimiques utilisés.

Produits utilisés	Formule chimique	Pureté (%)	Densité (g /cm ³)	Rôle
L'acide chlorhydrique	HCl	39	1,19	Déminéralisation de la chitine.
L'hydroxyde de sodium	NaOH	98,8	2,13	Déprotéinisation et les désacétylation de la chitine.
Acide acétique	CH ₃ COOH	100	1,05	Solubilisation du chitosane.

1.2. Matières premières entrant dans la formulation :

➤ Chitosane :

Défini au chapitre précédent (Partie théorique : Chapitre II : chitosane, le bio polymère étudié).

➤ La cire d'abeille :

INCI : CERA ALBA.

Famille : Cire : Solide ou liquide.

Origine : Animale.

La CA produite par les abeilles ouvrières sert à fabriquer les rayons de la ruche et à former les

alvéoles remplis de miel. Cette cire renferme de la propolis (5 à 10%) et des grains de pollen. La cire jaune est obtenue en faisant fondre dans l'eau bouillante, les rayons préalablement vidés de leur miel. Elle sert de facteur de consistance des phases grasses auxquelles elle apporte un caractère occlusif qui réduit la perte en eau de la peau. A faible concentration, elle augmente la consistance des émulsions ; à forte concentration, elle stabilise certaines crèmes en leur conférant une grande viscosité (cérats), et permet même d'obtenir des préparations de consistance solide. Elle entre également dans la composition des cires d'épilatoires [66].



Figure IV.1 : La cire d'abeille.

➤ **Huile de paraffine :**

La paraffine liquide ou fluides (paraffinumperliquidum), ($n = 8$ à 19) dont la viscosité est de 25 à 80 m Pas et sa masse volumique de $0,90\text{g.cm}^{-3}$. Elle entre dans la composition de nombreuses préparations dermatologiques et cosmétiques, en qualité d'excipient ou comme émoullient. Insoluble dans l'eau et l'éthanol et soluble dans un bon nombre de solvants polaires comme le benzène, disulfure de carbone, chloroforme, éther diéthylique [67].



Figure IV.2 : Huile de paraffine.

➤ **Vaseline (Petrolatum album) :**

La vaseline est un mélange d'hydrocarbures aliphatiques saturés obtenus par purification des fractions lourdes de certains pétroles .Par voie locale, elle agit comme protecteur cutané.

CARACTÈRES :

Aspect : substance onctueuse et pâteuse, de consistance variable suivant les emplois auxquels on la destine, de couleur blanchâtre, légèrement fluorescente à la lumière du jour à l'état fondu.

Solubilité : non miscible à l'eau, la vaseline fondue est miscible en toutes proportions au chlorure de méthylène.

Les solutions de vaseline, par refroidissement, peuvent laisser apparaître un léger dépôt.

F : 36 °C à 60 °C [68].

CAS D'USAGE :

La vaseline est utilisée dans la prise en charge de :

- brûlures du premier degré.
- dermatites atopiques.
- Ichtyoses.
- Psoriasis.



Figure IV.3 : Vaseline blanche.

- sécheresses cutanées [69].

➤ **Beurre de karité :**

Nom latin : *Butyrospermum parkii*.

INCI : BUTYROSPERMUM PARKII BUTTER.

le BK est une substance hybride qui se situe entre la cire et l'huile .Il est doté de formidable vertus soignantes, grâce a son taux élevé d'insaponifiables : 15% , alors que les huiles dans leur grande majorité n'en contiennent que 1 à 2%. Ces insaponifiables sont très précieux : ils pénètrent bien dans la peau qu'ils assouplissent, fixent l'eau et favorisent l'absorption des autres principes actifs [66] [70].



Figure IV.4 : Le beurre de karité.

1.3. Matières premières entrant dans le confectionnement des pansements :

➤ **Support du pansement :**

Produit : sparadrap Multi-extensible 20cm × 10m.

Caractéristiques : Lisières non tissée extensible, à base de fibres de polyesters, enduit d'une couche adhésive hypoallergénique (Caoutchouc) avec un film protecteur en papier.

Conditionnement : 01 boîte de 01 rouleau.

Aldismed (Sparadrap d'acétate hypoallergénique) :

Dénomination :ALDIPLAST.



Figure IV.5 : sparadrap Multi-extensible.

Description : Sparadrap adhésive perforé/non perforé constitué d'un support en acétate enduit sur une seule face d'une masse adhésive a caoutchouc de synthèse et d'oxyde de zinc , exempte du latex et de caoutchouc naturel en vue d'adhérer sur la peau par simple pression , perméable a l'air.

Composition :

- 1-Acétate de couleur blanche grammage moyen de 90g/m².
- 2- Masse adhésive principalement composé de caoutchouc de synthèse et d'oxyde de zinc grammage moyen de 50g/ m².
- 3- Filme protecteur de papier médical blanc.

Indication :

- 1-Maintien de pansement.
- 2-Fixation de sondes et de matériels de soins.

Mode d'emploi :

- 1- Doit être appliqué sur peau ou support sec et propre.
- 2- Conseillé pour les sujets qui présente une sensibilité de contacte aux sparadraps contentant du latex ou du caoutchoue naturel.
- 3- Décoller doucement dans le sens de croissance des poils, on maintenant la peau avec les doigts.

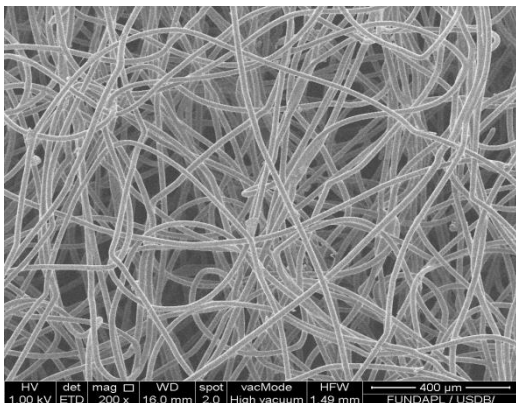
➤ Polyéthylène :

Un textile en polyester non-tissé a été sélectionné comme pansement en raison de plusieurs critères tels que sa stabilité chimique, sa résistance à la température, sa biocompatibilité, ses propriétés mécaniques et son prix accessible. Dans le domaine de la santé, ce polymère est largement utilisé pour la fabrication de prothèses vasculaires, d'implants péritonéaux.

Un textile en polyéthylène téréphtalate non-tissé (PET, poids : 65g/m², épaisseur : 0,24 mm) fourni par la société Lyn pansement (Alger) a été utilisé. Ce textile se présente sous une forme de réseau tridimensionnel (Figure IV.6) obtenu par calandrage des fibres textiles à chaud .

➤ Propriété de ce tissu :

- Perméable, non traité
- Résiste la température (jusqu'à 250C°)
- Force d'allongement (8%)
- Résiste les bases et les acides [71].



(a)



(b)

Figure IV.6 : (a) Image par microscopie électronique à balayage (x400) du textile PET non-tissé. Les fibres présentent un diamètre de $16,65 \pm 1 \mu\text{m}$.

(b) polyéthylène non-tissé.

2. Méthodes :

I. Extraction du chitosane à partir de l'os de sépia :

I.1. Extraction de la chitine :

_ La matière première utilisée pour cette étude est l'os de sépia.

_ Les os frais de sépia ont été soigneusement lavés à l'eau du robinet et séchés à l'air pendant

la nuit.

- _ Les os de sépia ont été broyés en petits morceaux.
- _ Les échantillons ont été broyés séchés au four pendant 20 a 100 C°.



Figure IV.7 : Préparation de la matière première.

a_ Déminéralisation :

- _ Les os de sépia broyés ont été déminéralisés à l'aide de Hcl 1,5M.
- _ Les échantillons ont été trempés pendant une heure pour éliminer les minéraux (principalement du carbonate de calcium).
- _ Les échantillons de l'os de sépia déminéralisés ont ensuite été lavés avec de l'eau déminéralisée jusqu'à neutralisation.

b_ Déprotéinisation :

- _ Les os de sépia ont été placés dans un béccher et trempés dans de l'hydroxyde de soduim bouillant (1,25M) pendant 18h afin de dissoudre les protéines et les sucres, isolant ainsi la chitine brute.
- _ Une fois les échantillons bouillis dans l'hydroxyde de sodium.
- _ Les bécchers contenant les échantillons d'os de sépia sont retirés de la plaque chauffante et laissés refroidir pendant 30 minutes à température ambiante.
- _ La chitine restante est lavée avec de l'eau déminéralisée qui est ensuite évacuée.

I.2. Préparation du chitosane par désacétylation de la chitine :

_ Pour la désacétylation, la chitine a été traitée avec un alcali fort de NaOH 50% a été ajouté puis bouillis a 100C° pendant 24h.

_ Suivi d'un lavage jusqu'à ce qu'il atteigne un pH neutre. Après séchage a 50% pendant 24h, le produit final récupéré était un chitosane.

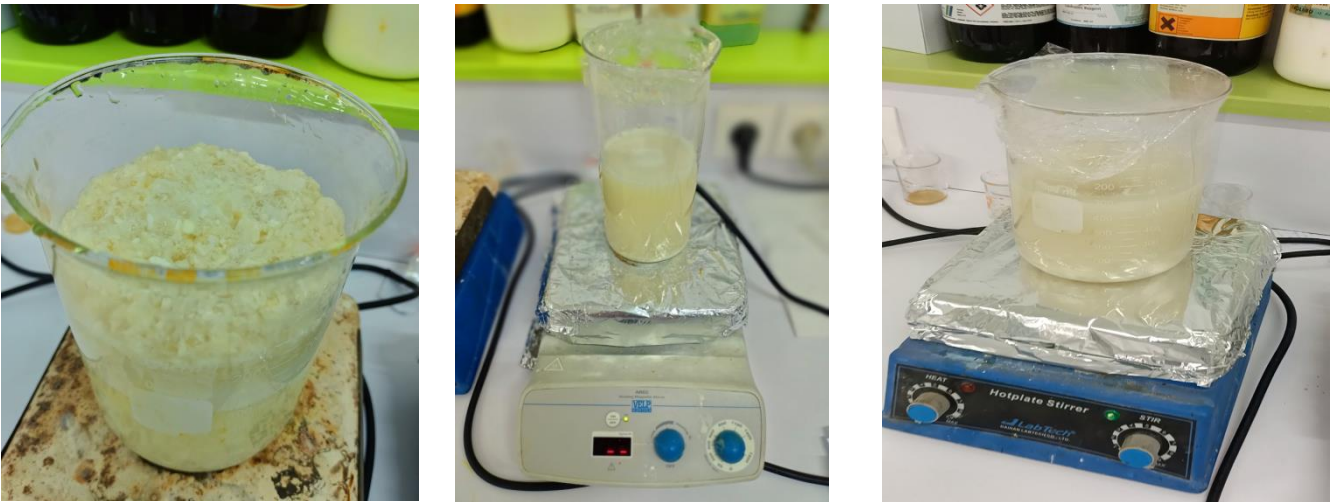


Figure IV.8 : Différentes étapes de l'extraction du chitosane (Déminéralisation, Déprotéinisation, Désacytellation).

I.3. Caractérisation physico-chimique du chitosane :

I.3.1. Test de solubilité:

Le chitosane extrait est testé pour leur solubilité dans les milieux acides, basique, neutre Selon Ngah et Fatinthan [72]. Le teste de solubilité a été réalisé dans 1 %

(v / v) de l'acide acétique, 0.5 M de NaOH et de l'eau distillée.

On pèse environ 0,05 g de produit ajouté à 50ml de ses trois solutions séparément, et les laisser sous agitation pendant 24 heure.

Nous avons effectué la solubilité de chitosane à différents concentrations de 0.1% jusqu'à 0.01%.

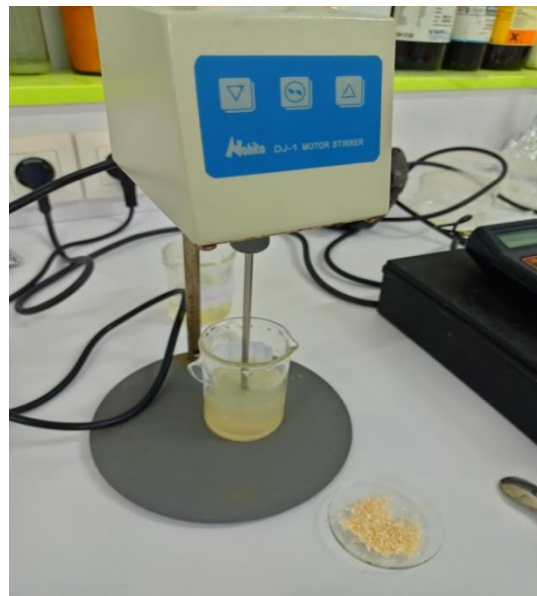
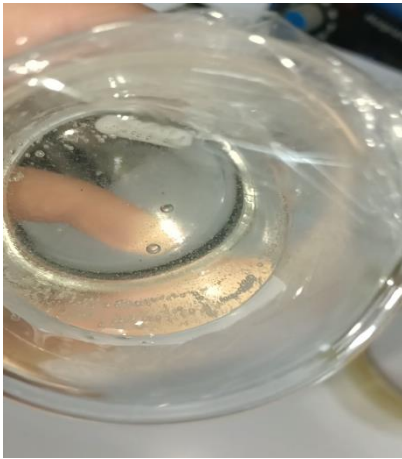


Figure IV.9 : Solubilisation du chitosane.

I.3.2.Détermination du degré de desacétylation par le Spectroscopie infrarouge :

le degré de desacétylation a une influence sur toutes les propriétés physicochimiques (viscosité, solubilité ...). Plusieurs techniques permettent de caractériser le **DDA** du chitosane, cependant la spectroscopie RMN et IR semblent les plus appropriées pour une caractérisation rapide et peu coûteuse.

Méthode d'analyse par spectroscopie infrarouge IR :

Principe de fonctionnement :

La spectroscopie infrarouge est utilisée pour la détermination des groupes fonctionnels permettant de définir la structure. Chaque liaison présente des vibrations caractéristiques de fréquences bien déterminées.

Dans les conditions normales de température et de pression, les atomes et les groupes fonctionnels, constituant la matière, sont animés de mouvements vibratoires pour une fréquence bien déterminée. Lorsque ces constituants sont irradiés par un rayonnement électromagnétique dont la fréquence est proche de celle de leurs vibrations propres, ils entrent en résonance, il y a alors absorption d'énergie qui s'accompagne d'une diminution de l'intensité réfléchie ou transmise.

Sous l'effet d'un rayonnement électromagnétique infrarouge, les liaisons moléculaires absorbent une partie de cette énergie et vibrent selon des mouvements de différents types (vibrations d'élongation ou de déformation). Le domaine infrarouge, dans lequel se trouvent les énergies de vibration des liaisons moléculaires, est divisé en trois régions [73] :

Le IR constitue une méthode de choix pour le calcul de DDA dans la présente étude le spectre infrarouge a été obtenu a l aide d'un spectrophotomètre FTIR 8900 associé a un logiciel IRSoluion.

Mode opératoire :

La méthode consiste a formé des pastilles a l'aide d'une pastilleuse (broyer 2 mg de chitosane avec 250 mg de KBr) qui vont être placées dans le IR.

La détermination du degré de desacétylation (DDA %) s'effectue par l'analyse de spectre (FTIR) en utilisant la formule suivante ;

$$\text{DDA}\% = 100 - [(A_{1655\text{cm}^{-1}}/A_{3450\text{cm}^{-1}}) * 100/1.33] \quad \text{Eq. IV.1}$$

Avec :

- $A_{1655\text{cm}^{-1}}$ Absorbance à 1660cm^{-1} de la bande d'amide primaire (Amide I).
- $A_{3450\text{cm}^{-1}}$ Absorbance à 3450cm^{-1} de la bande hydroxyle.
- Le facteur 1.33 représente $(A_{1655\text{cm}^{-1}}/A_{3450\text{cm}^{-1}})$ pour une chitine entièrement N-acétylée.



Figure IV.10: Les différentes étapes de préparation des pastilles pour l'analyse IR.

I.3.3. Mesure du poids moléculaire du Chitosane par le Rhéomètre :

Le poids moléculaire est déterminé par la mesure de la viscosité en utilisant l'équation Mark Houwink :

méthode : Faire dissoudre une quantité de chitosane dans l'acide acétique à 1%, (0,5 g de Chitosane dans 50 ml d'acide acétique à 1%), préparer ensuite 6 à 8 dilutions comme suit prendre 1 ml de ce chitosane et le diluer dans 9 ml d'acide acétique à 1%, puis de cette

dernière solution prendre 1 ml et le mettre dans 9ml d'acide acétique à 1% et ainsi de suite 6 à 8 fois en tout.

Ensuite il faut passer chacune de ces solutions dans le Rhéomètre en commençant par la plus concentré (1ère dilution) à la moins concentrée 6ème ou 8ème dilution, et faire aussi passer le solvant à savoir l'acide acétique à 1%.

Le Rhéomètre permet de mesurer la viscosité dynamique. On doit calculer la viscosité réduite avec la formule suivante :

$$\eta_{\text{réduite}} = [(\eta_{\text{dynamique}} - \eta_{\text{solvant}}) / \eta_{\text{Solvant}}] \times [C] \quad \text{Eq IV.2}$$

Donc pour chaque dilution on calcule la $\eta_{\text{réduite}}$ en fonction de la $\eta_{\text{dynamique}}$ mesurée. Ensuite, pour chaque série de dilution d'un même Chitosane donc d'un même échantillon on doit tracer avec les valeurs obtenues une droite qui exprime une relation entre la valeur de la viscosité réduite et la concentration (dilution) ;

cette droite sera de formule $y=ax + b$, une fois qu'on obtient l'expression avec (on peut utiliser par exemple l' Excel ou Origine), on détermine la valeur de la viscosité intrinsèque en posant $x = 0$, donc $y=b$, b est la valeur de $\eta_{\text{intrinsèque}}$ qu'on va remplacer dans la formule suivante :

$$\eta_{\text{intrinsèque}} = K.M^{\alpha} \quad \text{Eq IV.3}$$

avec K et α sont des constantes ou :

$$K = 1,83 \times 10^{-3}$$

$$\alpha = 0,93$$

M = Poids moléculaire.



Figure IV.11 : les dilutions préparées pour la mesure du poids moléculaire.

I.3.4. Détermination du test d'écoulement par rhéologie :

Le **rhéomètre** est un instrument de laboratoire utilisé pour mesurer la façon dont un liquide, un mélange ou une suspension s'écoule sous l'action de forces externes. Mesurer la rhéologie du fluide est la rhéomètre qui est une quantification expérimentale des propriétés rhéologiques des matériaux (viscosité, module de rigidité, etc.).

Notre analyse rhéologique a été effectuée sur un rhéomètre à contrainte et déformation imposées de marque MCR 302 Anton Paar Physica. La géométrie utilisée est de type plan-plan. Les résultats expérimentaux sont traités par un logiciel Rheoplus US200.

Nous avons mis quelques ml de gel du chitosane au niveau de système de mesure plan-plan du rhéomètre dont les conditions suivants $T=20C^{\circ}$, vitesse de cisaillement $[0,001S^{-1} ; 1000S^{-1}]$.

II. Préparation des émulsions.

1. Préparation de la phase aqueuse :

La phase aqueuse n'est d'autre que la préparation d'une solution d'acide acétique à concentration de 1% puis on ajoute 0.5g de **PA** dans le bécher sous agitation à 80°C pendant un temps bien déterminé notre PA joue le rôle d'un émulsifiant (tension actif) qui permet la formation d'une émulsion stable dans le temps. Et de créer des micelles écuries qui se forment à l'interface eau-huile.

2. Préparation de la phase huileuse :

- **pour la première formulation :**

La phase huileuse est un mélange de Cire d'abeille, et l'huile de paraffine. Ce mélange a été mis dans un bécher chauffé aussi à 80°C sur une plaque chauffante et maintenu jusqu'à la fusion complète des composants.

- **pour la deuxième formulation :**

La phase huileuse est un mélange de cire d'abeille et de la vaseline. Ce mélange a été mis dans un bécher chauffé aussi à 80°C sur une plaque chauffante et maintenu jusqu'à la fusion complète des composants.

- **pour la troisième formulation :**

La phase huileuse est un mélange de cire d'abeille et de beurre de karité. Ce mélange a été mis dans un bécher chauffé aussi à 80°C sur une plaque chauffante et maintenu jusqu'à la fusion complète des composants.

- **pour la quatrième formulation :**

La phase huileuse est un mélange de vaseline et de beurre de karité. Ce mélange a été mis dans un bécher chauffé aussi à 80°C sur une plaque chauffante et maintenu jusqu'à la fusion complète des composants.

- **pour la cinquième formulation :**

La phase huileuse est un mélange d'huile de paraffine et beurre de karité. Ce mélange a été mis dans un bécher chauffé aussi à 80°C sur une plaque chauffante et maintenu jusqu'à la fusion complète des composants.

3. Préparations de l'émulsion :

Tous les constituants hydrophiles et lipophiles sont portés à 80°C au bain marie dans deux béchers différents. Lorsque les deux mélanges ont atteint la même température.

Nous avons, rapidement incorporé la phase huileuse dans la phase aqueuse sous agitation on à utilisé L'ULTRA-TURRAX pendant 10 min dans le but d'obtenir les tailles les plus petites possibles et pour garantir la stabilité à long terme des dispersions.

Dans les tableaux ci-dessous sont présentées les pourcentages et les ingrédients entrant dans la formulation.

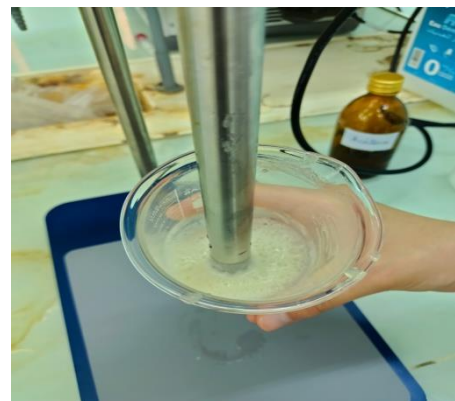


Figure IV.12 : Préparation des émulsions par l'ultra turrax.

Tableau IV.2 : les combinaisons déduite du plan adopté dans cette étude (formulation 1).

Nombre d'essai	Phase huileuse		Phase aqueuse
	Huile de paraffine	La cire d'abeille	Principe actif
N :01	25%	25%	50%
N :02	50%	10%	40%
N :03	40%	15%	45%
N :04	30%	10%	60%
N :05	45%	15%	40%
N :06	35%	25%	40%
N :07	45%	10%	45%

Tableau IV.3 : les combinaisons déduite du plan adopté dans cette étude (formulation 2).

Nombre d'essai	Phase huileuse		Phase aqueuse
	La vaseline	La cire d'abeille	Principe actif
N :01	25%	25%	50%
N :02	50%	10%	40%
N :03	40%	15%	45%
N :04	30%	10%	60%
N :05	45%	15%	40%
N :06	35%	25%	40%
N :07	45%	10%	45%

Tableau IV.4 : les combinaisons déduite du plan adopté dans cette étude (formulation 3).

Nombre d'essai	Phase huileuse		Phase aqueuse
	Beurre de karité	La cire d'abeille	Principe actif
N :01	25%	25%	50%
N :02	50%	10%	40%
N :03	40%	15%	45%
N :04	30%	10%	60%
N :05	45%	15%	40%
N :06	35%	25%	40%
N :07	45%	10%	45%

Tableau IV.5 : les combinaisons déduite du plan adopté dans cette étude (formulation 4).

Nombre d'essai	Phase huileuse		Phase aqueuse
	Vaseline	Beure de karité	Principe actif
N :01	50%	10%	40%
N :02	30%	30%	40%
N :03	25%	25%	50%
N :04	40%	15%	45%
N :05	30%	10%	60%
N :06	45%	15%	40%
N :07	35%	25%	40%

Tableau IV.6 : les combinaisons déduite du plan adopté dans cette étude (formulation 5).

Nombre d'essai	Phase huileuse		Phase aqueuse
	Huile de paraffine	Beure de karité	Principe actif
N :01	50%	10%	40%
N :02	30%	30%	40%
N :03	25%	25%	50%
N :04	40%	15%	45%
N :05	30%	10%	60%
N :06	45%	15%	40%
N :07	35%	25%	40%

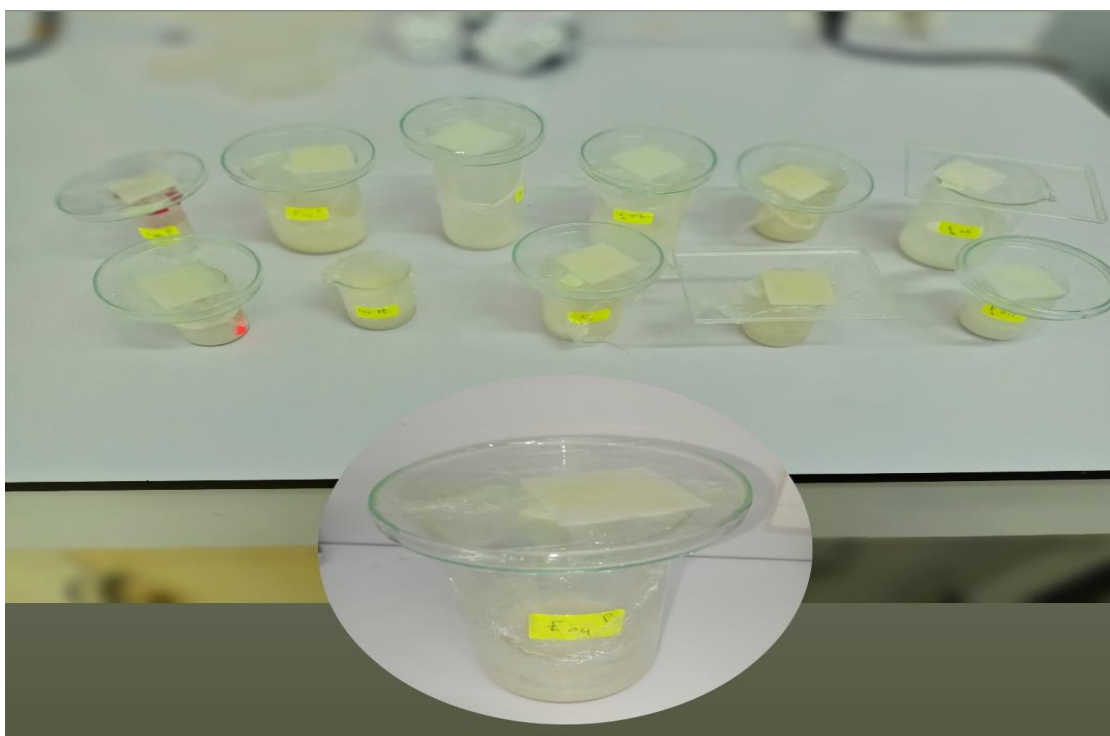


Figure IV.13 : Les formulations préparées.

4. Caractérisation de l'émulsion formulée :

Pour la fiabilité et l'évaluation de la qualité de notre produit aux normes bien définies, il est recommandé de réaliser les tests de validations suivantes.

4.1. Test de stabilité :

- **Par centrifugation :**

Si les propriétés physico-chimiques des émulsions restent inchangées pour de longues périodes de temps, une émulsion est dite cinétiquement stable. La stabilité cinétique est l'une des caractéristiques les plus importantes d'une émulsion [74].

La stabilité de notre formulation au cours du temps et sous des conditions physiques rigoureuses est déterminée en utilisant une centrifugeuse réglée à une vitesse de 3000 tours/min pendant 10min.



Figure IV.14 : Test de Centrifugation.

- **Par stabilité thermique :**

La stabilité des produits pharmaceutique est un paramètre clé pour garantir la qualité des produits. Pour le test de stabilité thermique nous avons déposé un échantillon de notre émulsion dans une étuve à 50C° pendant 24 h.

4.2.Détermination de pH :

Le paramètre le plus important après l'étude de stabilité est la teneur en pH de ces émulsions étant donné que le produit va être met en contact direct avec la peau.

Pour cela nous avons procédé la mesure a l'aide d'un pH mètre de type intoLab-pH de type HANNA, les valeurs des pH nous ont permet de sélectionné les formulations qui obéissent aux normes (5.5 - 6.5).



Figure IV.15 : pH mètre.

4.3.Test d'homogénéité :

Une émulsion est un mélange dispersif microscopique de deux solutions non miscibles. L'homogénéité de ce mélange garantie la qualité organoleptique de l'émulsion. Une émulsion jugée non-homogène est alors non-conforme. Sur une lame de verre, étaler une mince couche d'émulsion à tester à l'aide d'un microscope. Ce test permet d'apprécier l'homogénéité de l'émulsion ou la distribution des gouttelettes dans l'émulsion et pour cela nous avons utilisé un microscope optique.



Figure IV.16 : Un microscope optique.

4.4. Le sens de l'émulsion :

La conductivité est utilisée pour distinguer les émulsions E/H de H/E. Lorsque la phase externe est aqueuse (H/E), le milieu est conducteur et peut nous donner une valeur de conductivité. Contrairement, lorsque la phase externe est lipidique (E/H) le milieu n'est pas conducteur et n'a pas de valeur de conductivité. Le conductimètre utilisé est de type EC214 de marque HANNA® instruments.

4.5. Étude de comportement rhéologique :

Après la formulation des émulsions leur comportement rhéologique a été étudié, c'est un paramètre clé dans la formulation de produit.

L'objectif de ce test est de caractériser le comportement rhéologique des émulsions dans le domaine linéaire et sous écoulement. Pour se faire, deux tests ont été effectués :

✓ Test d'écoulement

Dans le cas des émulsions nous nous sommes limités à l'analyse des courbes d'écoulement des émulsions en régime continu. Ce type d'analyse permet de faire ressortir des paramètres caractéristiques qui sont susceptibles de refléter l'état mécanique des émulsions sous cisaillement variable et cela de l'état de repos auquel cas les émulsions sont dans un état optimal de structuration à l'état extrême de sollicitation auquel cas ces dispersions sont complètement déstructurées.

Le protocole opératoire adopté est le suivant on met quelques ml de l'émulsion dans le système de mesure plan - plan du rhéomètre à 20 ° C, on impose alors une rampe croissante en vitesse de cisaillement de 0.001s⁻¹ à 1000s⁻¹. Les courbes d'écoulements pour les émulsions sont données en termes de viscosité de cisaillement apparente (Pa. s) en fonction de la vitesse de cisaillement (s⁻¹) Les courbes seront systématiquement ajustées par le modèle rhéologique le plus adéquat pour faire ressortir des paramètres caractéristiques intrinsèques.

✓ Test de viscoélasticité :

Les propriétés viscoélastiques des émulsions ont été mesurées en mode dynamique par un test non destructif d'oscillations de faible amplitude. Un balayage croissant en déformation, de 0,001 à 1000 a été effectué à la fréquence constante de 1 Hz. Cette mesure permet d'obtenir les valeurs des modules G' , G'' dans le domaine linéaire viscoélastique.

Ou :

G' : le module de conservation, il représente le caractère élastique de l'émulsion , l'énergie emmagasinée dans le matériau.

G'' : le module de perte, qui représente le caractère visqueux de l'émulsion et correspond à l'énergie dissipée.

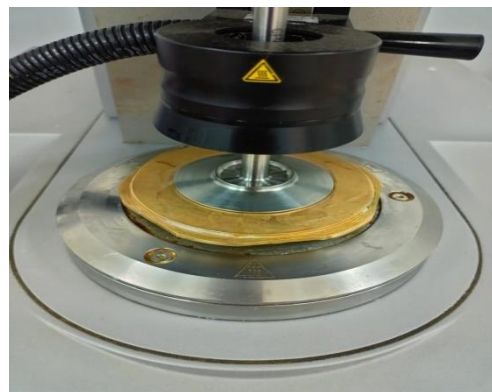


Figure IV.17 : Le rhéomètre.

4.6. Caractérisations biologique du chitosane : Activité antibactérienne :

Nous avons vérifié l'activité antibactérienne de notre émulsion à différentes concentrations (0,1 -1%) sur quelques souches bactériennes :

Escherichia coli, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Bacillus subtilis*

- **Protocole experimental:**

La méthode adoptée pour ce test est celle de la diffusion : couler aseptiquement le milieu de culture gélose MH (Mueller-Hinton) dans des boites de pétri à raison de 15 ml par boite. On laisse refroidir et solidifier sur la paillasse puis on ensemence les 4 bactéries dans des boites différentes.

- **Dépôt de disques :**

A l'aide d'une pince stérile, prélever un disque en papier wattman de 6 mm de diamètre et l'imbiber avec l'émulsion à tester à différentes doses (0.5% - 0.1%), puis déposer sur la gélose. Les boites de pétri sont ensuite fermées et laissées diffuser à température ambiante pendant 30mn et mises à l'étuve à la température de 28°C pendant 72h. La lecture se fait par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition autour de chaque disque à l'aide d'une règle. et peut être symbolisé par des signes d'après la sensibilité vis-à-vis des concentrations testées.

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

III. Préparation des pansements :

1. Conditionnement des pansements :

En premier lieu, nous avons mis la blouse, le masque, les gants et la bonne hygiène des mains. Après nous avons pris les bandes adhésives (sparadrap Multi_extensible) de la marque «Aldisplast », et nous avons coupé 6,5 cm² de cette dernière.

En deuxième lieu, on a préparé les tissus de polyéthylène de 4 cm² et nous avons fait notre émulsion qui a constitué de la phase huileuse et la phase aqueuse (une formulation de PA et les excipients), on a mis une quantité de 1,8g/dm².

En troisième lieu, nous avons déposé notre tissu au milieu de l'adhésion et on a recouverts avec le même papier de l'adhésion et notre pansement est prêt pour l'utilisation.

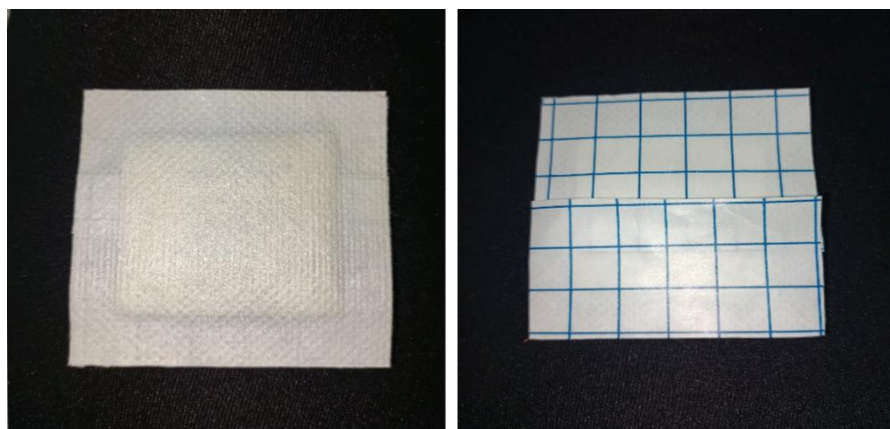


Figure IV.18 : Pansement obtenu.

2. Caractérisation des pansements :

Les pansements ont été caractérisés selon les méthodes citées dans [75] [76]

2.1. Uniformité du poids :

Les pansements préparés ont été séchés à 60°C pendant quatre heures avant le test. Une zone spécifique de pansement a été coupée dans différentes parties du pansement et pesée sur la balance numérique. Les valeurs du poids moyen et d'écart type ont été calculées à partir des poids individuels.



Figure IV.19 : Le test de l'uniformité du poids.

2.2. Poids et épaisseur du pansement :

A l'aide d'un pied à coulisse, l'épaisseur des pansements a été mesurée à différents points et l'épaisseur moyenne a été notée.

2.3. Endurance de pliage :

L'endurance au pliage des pansements a été déterminée manuellement en pliant le film à plusieurs reprises au même endroit jusqu'à ce qu'il se casse.

2.4. Pourcentage d'humidité :

Les membranes préparées ont été pesées individuellement et conservées dans des dessiccateurs contenant de gel de silice à température ambiante pendant 24 heures. Après 24 heures, les films ont été repesés a nouveau et le pourcentage d'humidité a été déterminé.

Le pourcentage d'humidité est calculé par la formule suivante :

$$\% \text{ Humidité} = \frac{\text{Poids humide (g)} - \text{Poids de l'échantillon sec (g)}}{\text{Poids de l'échantillon humide (g)}} \times 100 \quad \text{Eq IV.4}$$

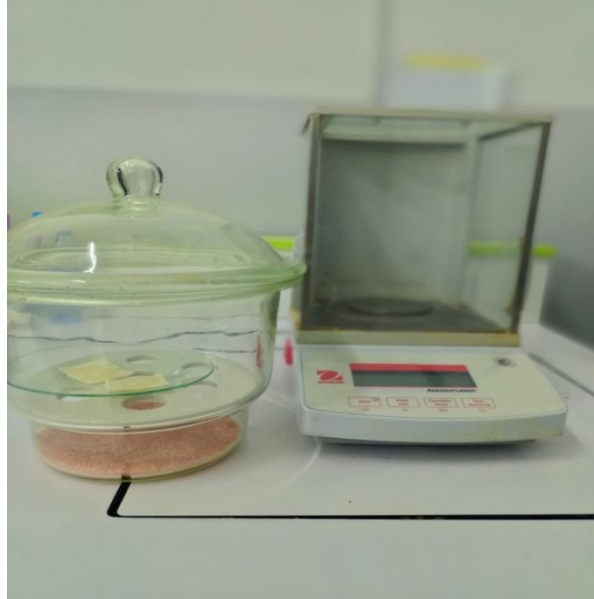


Figure IV.20 : Le test de pourcentage l'humidité.

2.5. Force d'allongement:

Elle définit la capacité d'un matériau à s'allonger avant de rompre lorsqu'il est sollicité en traction.

Lorsqu'un corps est soumis à des forces extérieures, il y a un changement de sa forme ou de ses dimensions. Ce changement s'appelle déformation. Tous les corps se déforment sous l'effet des forces qui s'exercent sur eux. Cette déformation est plus ou moins grande dépendamment de la grandeur des forces et des matériaux qui sont en cause.

Pour cela, nous avons effectué ce test pour avoir est ce que le pansement s'allonge ou pas donc on a exercé une force sur le pansement jusqu'à ce qu'il se détruit puis nous avons noté le temps et la longueur qu'elle subit.

L'**allongement** 'a' du pansement est alors: **$a = l - l_0$** .

2.6.Uniformité du contenu :

La présence du chitosane dans toutes les formulations a été analysée par spectroscopie infrarouge IR et les données sont enregistrées.

2.7. Caractérisation par microscopie électronique à balayage (MEB) :

La Microscopie Electronique à Balayage MEB (ou Scanning Electron Microscopy SEM) est une technique d'observation de la topographie des surfaces. Elle apporte des informations sur la structure et la texture d'un échantillon mais aussi sur la taille et la forme des grains élémentaires ou agglomérats selon le grossissement choisi [77].

La microscopie électronique à balayage est une technique de microscopie électronique basée sur le principe des interactions électrons-matière, capable de produire des images en haute résolution de la surface d'un échantillon. Le principe du MEB consiste sur l'émission d'un faisceau d'électrons balayant la surface de l'échantillon à analyser qui, en réponse, réémet des électrons balayant la surface de l'échantillon à analyser qui, en réponse, réémet des électrons et des photons. Ainsi, un faisceau d'électrons primaire frappe la surface de l'échantillon et les photons réémis sont remplacés par tout spectre de rayonnements : électrons secondaires, électrons rétrodiffusés, électrons des rayons X. Ces particules ou rayonnements apportent différents types d'informations sur la matière dont est constitué l'échantillon.

La qualité de l'image obtenue en microscopie électronique à balayage dépend grandement de la qualité de l'échantillon analysé. La morphologie de l'échantillon du chitosane a été observée avec un microscope électronique à balayage pour prévoir sa structure et sa cristallinité.

Chapitre V : Résultats et discussions.

I. Extraction du chitosane à partir de l'os de sépia :

I.1. Extraction de la chitine :

L'extraction chimique de la chitine a été effectuée en deux étapes principales ; déminéralisation et déprotéinisation .La formule suivante permet de déduire le rendement massique.

$$R (\%) = \frac{mf}{mi} \times 100 \quad \text{Eq V 1}$$

$mi=100g$

$mf=43,24g$

Le rendement massique après l'extraction de la chitine égale à 43,24 %.

I.2.Préparation du chitosane par désacétylation de la chitine :

Le chitosane a été obtenu suite à la désacétylation de la chitine. La substance se présente sous forme d'une poudre de couleur légèrement blanche.

$mi=43,24g$

$mf=23,1g$

le rendement massique a été trouvé égal à 53,42%.

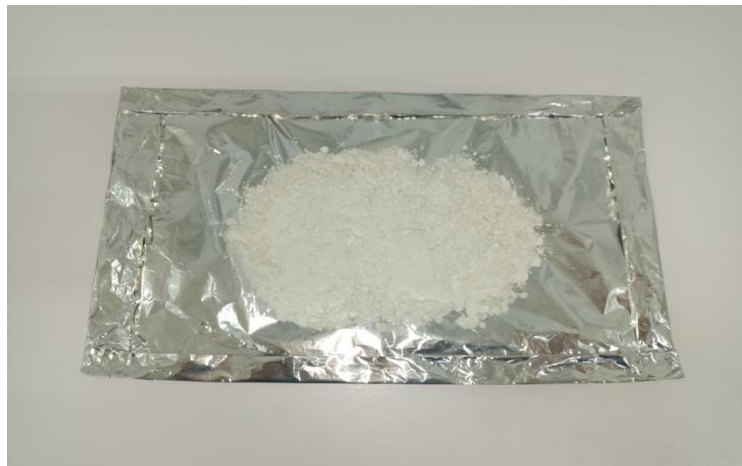


Figure V.1. Chitosane préparé au laboratoire.

I.3.Caractérisation physico-chimique du chitosane :

I.3.1. Test de solubilité :

Toujours dans le cadre de la vérification de la solubilité du chitosane extrait au

laboratoire et commercial, une dissolution de ces derniers à différentes concentrations d'acide acétique a été effectuée, le résultat est présenté dans le tableau V.1.

Tableau V.1 : Résultat du test de solubilité du chitosane extrait et commercial à différentes concentrations d'acide acétique.

	Chitosane extrait	Chitosane commercial
Concentration (M)	Temps (min)	Temps (min)
0.1	15	4
0.05	30	10
0.04	30	15
0.03	30	20
0.02	40	Insoluble
0.01	45	Insoluble

L'intérêt porté à la solubilité du chitosane est justifié par la nécessité de dissoudre la substance afin de prendre connaissance de ces domaines d'application.

Effectivement le chitosane est insoluble dans l'eau distillée et dans les solvants alcalins concentrés ou dilués, cette insolubilité s'explique par la grande masse moléculaire de chacune des chaînes de polymères et aussi par la formation de liaisons hydrogènes entre les différents groupes fonctionnels portés par chacune des unités, par contre il est soluble en milieu aqueux acide grâce à la protonation de ses fonctions amine, son meilleur solvant est l'acide acétique.

I.3.2. Détermination du degré de désacétylation par la Spectroscopie infrarouge :

- **La chitine :**

Le spectre obtenu par spectroscopie infrarouge pour la chitine est donné par la figure V.2.

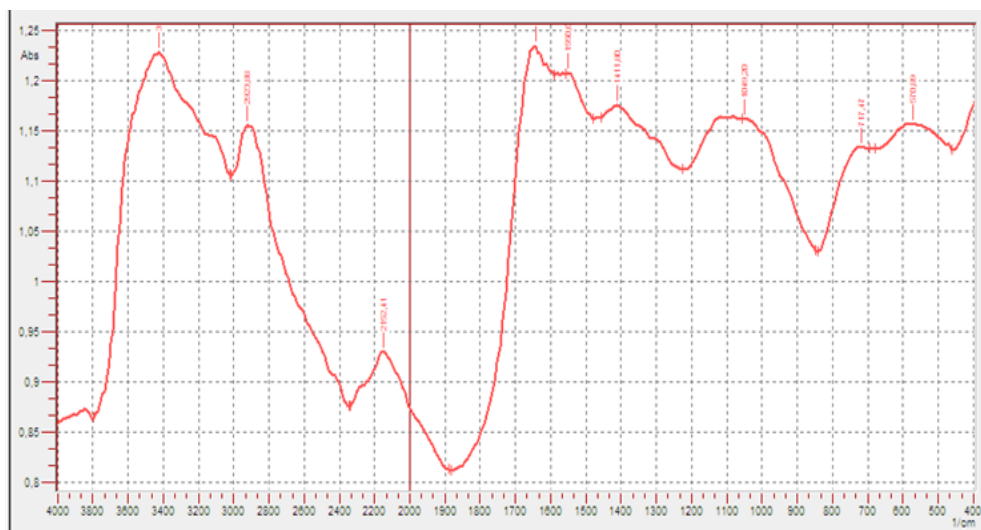


Figure. V.2. Spectre FTIR de la chitine extraite.

Les principales bandes du spectre Infrarouge obtenu par la chitine sont montrés dans le Tableau:

Tableau V.2 : Bandes d'absorption FTIR de la chitine.

Nombre d'onde (cm^{-1})	Type de liaison
570,89 et 717,47	élongation C-O-C
1049,20	élongation C-OH
1411,80	déformation CH2 et CH3
1550,66	déformation CH2 et CH3
1643,24	déformation amide
2152,41 et 2923,88	élongation C-H
3425,34	élongation -OH

- **chitosane :**

Les spectres obtenus par spectroscopie Infra-Rouge pour le chitosane préparé et chitosane commercial est donnés par la figure V.3.

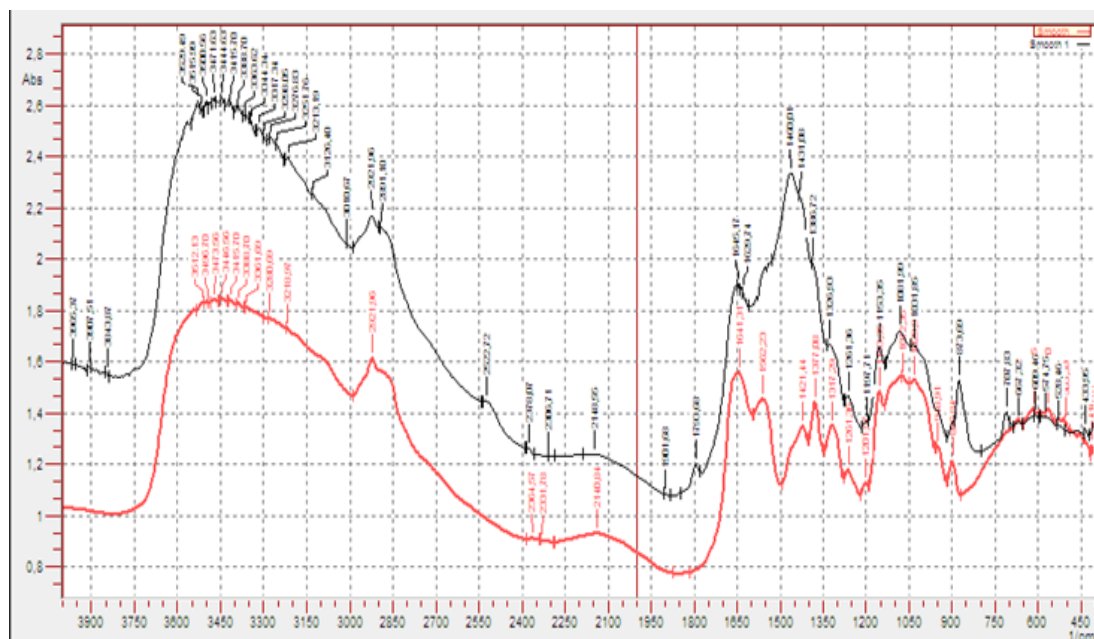


Figure V.3. Spectre FTIR du chitosane commercial (en noire) chitosane préparé (en rouge).

Les principales bandes du spectre Infra-Rouge obtenus par le chitosane sont montrés dans le Tableau :

Tableau V.3. Principales bandes d'absorption FTIR de chitosane.

Bande d'absorption IR cm^{-1} pour chitosane préparé	Bande d'absorption IR cm^{-1} pour le chitosane commercial	Bande d'absorption IR cm^{-1} pour la superposition des deux	Type de liaison
3446,56	3444,63	3446,56	élongation –NH
2921,96 et 1421,44	2891,1 et 1431,08	1421,44	élongation C-H

1029,92	1031,85	1029,92	l'étirage C-O
1377,08	1386,72	1377,08	l'étirage C-O
1153,35	1153,35	1153,35	élongation C-C
1072,35 et 896,84	1081,99 et 873,69	1072,35 et 896,84	élongation C-C
1641,31	1645,17	1641,31	élongation C=C
1562,23		1562,23	élongation C=C

D'après les figures et les tableaux en dessus, nous remarquons que les bandes d'absorption de la chitine (Figure. V.2) et le chitosane (Figure V.3) sont légèrement différent suite à la transformation de la chitine vers le chitosane par la désacétylation.

Sur la figure V.3 est illustré les deux spectres d'infrarouge de chitosane extrait et celui référence, la présence des bandes d'absorption dans les deux spectres, nous remarquons que la structure de notre chitosane est presque identique à celle du chitosane commercial, donc nous confirmons l'extraction du chitosane.

I.3.3. Mesure du poids moléculaire du Chitosane par le Rhéomètre :

Nous avons présentés sur la figure V.4 les variations de la viscosité réduite (η_{red}) en fonction de la concentration du chitosane.

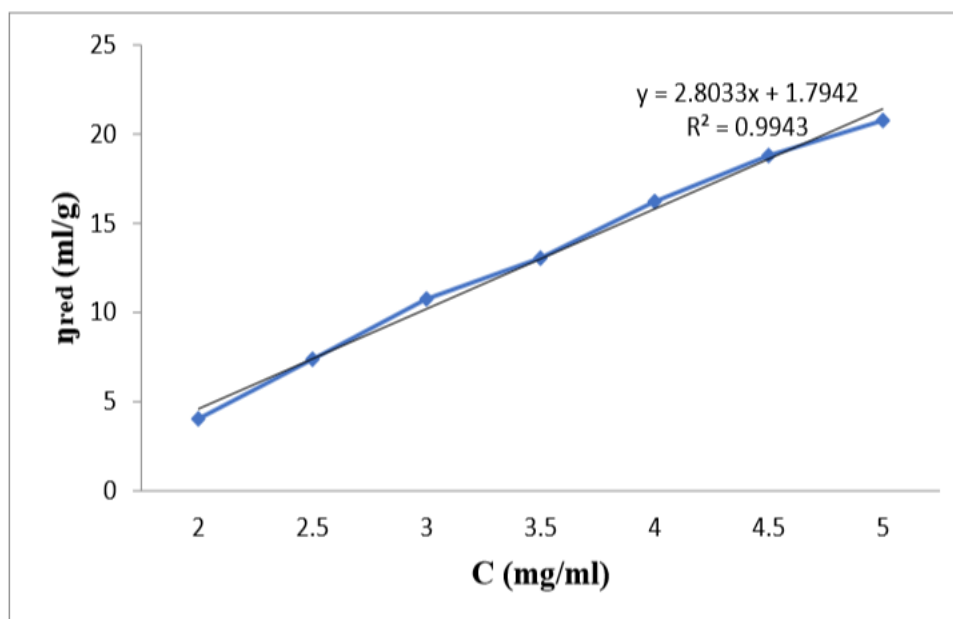


Figure V.4. Variation de la viscosité réduite en fonction de la concentration du chitosane.

L'extrapolation à concentration nulle de la variation de (η_{red}) en fonction de la concentration $[C]$, permet de déterminer la viscosité intrinsèque (η_{ins}) , qui est égale à 1,794 ml/g et à partir de cette valeur et de l'équation de Mark-Houwink (Eq IV.4), on a pu calculer le poids moléculaire du chitosane qui est de 1671,93 Dalton.

I.3.4. Détermination de test d'écoulement par rhéologie:

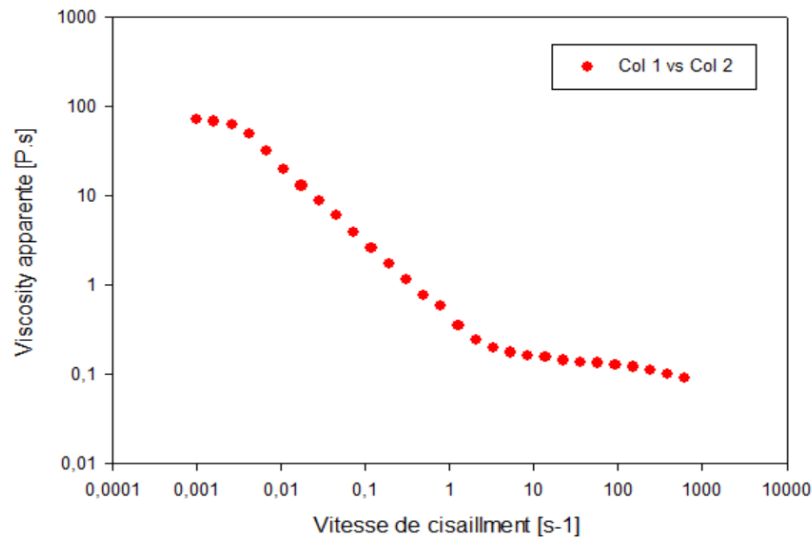


Figure V.5. : Comportement rhéologique : test d'écoulement du gel du chitosane.

La figure illustrée en dessous représente la courbe d'écoulement du gel du chitosane exprimant la variation de la viscosité apparente en fonction de la vitesse de cisaillement. On observe que les deux régions newtonien et la zone rhéofluidifiante sont visibles qui indiquent un bon écoulement.

II. Préparation des émulsions.

2. Caractérisation de l'émulsion formulée :

1.1. Test de stabilité :

a_ par centrifugation :

Tableaux V.4. Les résultats obtenus par la centrifugation.

Formulation 1 Paraffine + Cire d'abeille		Formulation 2 Vaseline + Cire d'abeille		Formulation 3 Beurre de karité + CA	
N° : essai	Stabilité	N° : essai	Stabilité	N° : essai	Stabilité
01	Instable	01	Instable	01	Instable
02	Instable	02	Instable	02	Instable
03	Instable	03	Instable	03	Instable
04	Instable	04	Instable	04	Instable
05	Instable	05	Instable	05	Instable
06	Stable	06	Stable	06	Stable
07	instable	07	instable	07	instable

Formulation 4 Vaseline + Paraffine		Formulation 5 Paraffine + Cire d'abeille	
N° : essai	Stabilité	N° : essai	Stabilité
01	Instable	01	Instable
02	Instable	02	Instable
03	Instable	03	Instable
04	Instable	04	Instable
05	Instable	05	Instable
06	Stable	06	instable
07	instable	07	instable

D'après les tableaux en dessus, Nous avons constaté que pour les différentes émulsions préparées, les formulations qui portent N° 06 été plus stable sauf la dernière formulation, donc on va prendre les 4 échantillons stable pour faire les prochains analyses.

b_ Stabilité thermique :

L'influence de la température est un paramètre important pour garantir la qualité du produit et la satisfaction du consommateur. Nous avons réalisé le test de stabilité à la température, les résultats sont regroupés dans le Tableau V.5.

Tableau V.5: Le test de stabilité par température des différentes émulsions.

Formulation	01	02	03	04
stabilité	instable	instable	Stable	Stable

Nous remarquons que les deux premières émulsions préparées (1,2) n'ont pas stable donc nous pouvons conclure que ils ne résistent pas la température 50C°. Ainsi que les deux dernières émulsions testées (3,4) sont stables alors ils résistent la température.

1.2. Détermination de pH des émulsions stables :

Tableau V.6. Les valeurs obtenues du test de pH des deux émulsions stable.

N° de	pH
03	5,83
04	6,02

Les valeurs de pH sont toujours dans les normes et proche de celles de la peau.

1.3. Test d'homogénéité :

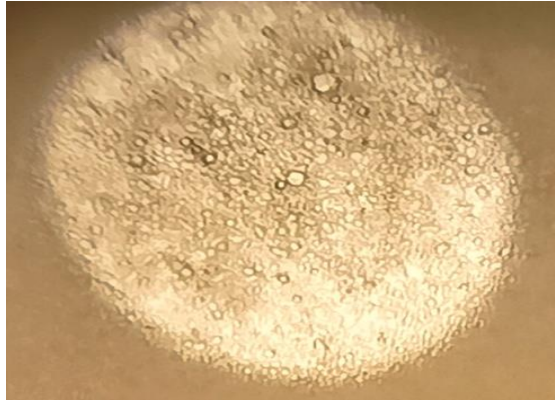


Figure V.6. Observation de l'émulsion stable au microscope photonique GR× 40.

L'image microscopique de notre émulsion formulée est présentée dans la figure V.6. Nous remarquons que l'émulsion présente une dispersion des gouttelettes sphérique de même taille donc nous pouvons dire que l'émulsion est homogène

1.4 Le sens de l'émulsion :

le but du conductimètre pour confirmer le sens de l'émulsion.



Figure V.7. Conductimètre.

Le conductimètre donne une valeur de conductivité 16,2 μs , donc le milieu est conducteur et la phase externe de notre émulsion est aqueuse (H/E).

1. 5 Étude du comportement rhéologique :

- **Test d écoulement :**

Après la formulation de notre émulsion sélectionnée, son comportement rhéologique à été étudié. Le rapport entre la rhéologie et la stabilité du produit, particulièrement dans le cas des émulsions, a été identifié comme un paramètre-clé dans la formulation de produit.

Les propriétés prédominantes et les valeurs des paramètres rhéologiques dépendent de la contrainte de cisaillement et sa durée de l'application.

L'analyse rhéologique en écoulement a été effectuée avec un rhéomètre type plan-plan, la vitesse de cisaillement a été imposée sur une fourchette de 0,001 à 1000 s^{-1} . Le tracé de la viscosité en fonction de la contrainte de cisaillement est représenté sur le rhéogramme de la Figure V.8.

Sur ce rhéogramme on remarque qu'à faible vitesse de cisaillement ($<10^{-4}$) on observe clairement la présence d'un plateau exprimant un comportement newtonien, ce qu'il se traduit par le fait qu'à une telle vitesse de cisaillement les particules sont indéformables et résiste à la déformation donnant une viscosité constante. Cela s'explique par la présence entre les macromolécules des interactions attractives type Van der Waals ou parfois appelé les interactions de rappel élastique et cela n'enregistre aucun changement sur le plan structural et donc la viscosité reste constante.

Pour une vitesse de cisaillement au-delà de $10^{-3} s^{-1}$, la viscosité chute brusquement expriment un comportement non newtonien (rhéofluidifiant), Ainsi la courbe d'écoulement correspond à deux temps ; le premier à la manipulation de l'émulsion (prise de l'émulsion de la réception) et la seconde à l'étalement de cette dernière.

Ainsi les valeurs de la viscosité apparente ont été déterminées à partir du modèle mathématique de Cross.

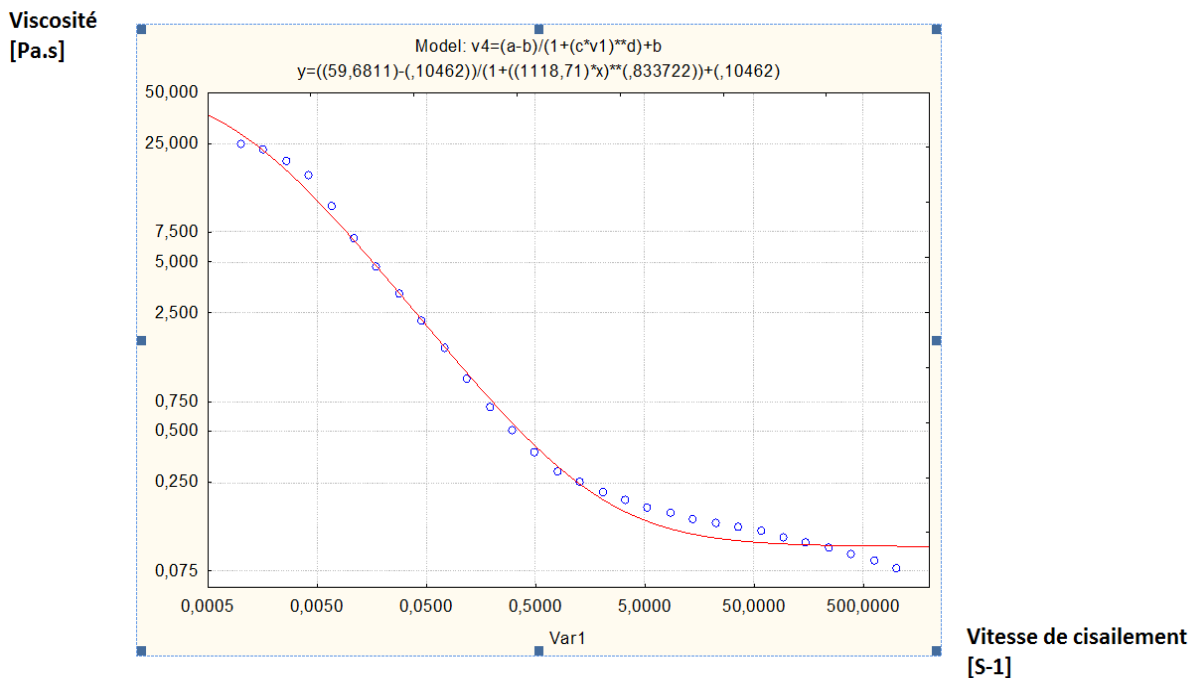


Figure V.8. Courbe d'écoulement ajusté par les modèles de corse.

- **Test de viscoélasticité :**

Pour déterminer les modules G' et G'' à basse fréquence caractéristiques de l'émulsion, on établit la dépendance de ces modules en fonction du taux de cisaillement $\dot{\gamma}$ (exprimée en s^{-1}). Les résultats montrent pour de faibles déformations, la valeur de G' est supérieure à celle de G'' traduisant le caractère élastique dominant des émulsions. Ces expériences ont permis d'obtenir la limite de viscoélasticité et de déterminer les modules visqueux G'' et élastique G'

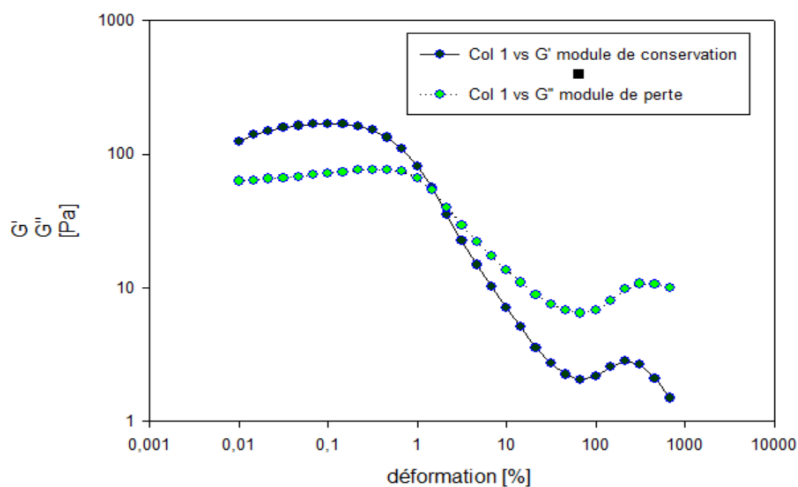
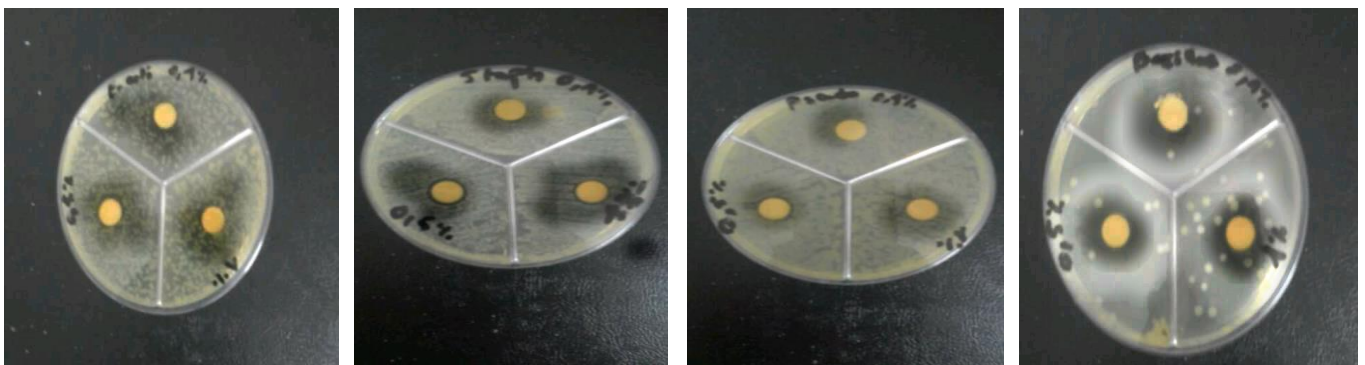


Figure V.9. Variation des deux modules de conservation G' et de perte G'' en fonction de la déformation.

1. 6 Caractérisations biologique du chitosane : Activité antibactérienne :

Tableau V.7. Résultat obtenu par le test antibactérien.

Concentration du chitosane %	0,25%	0,5%	1%
<i>Staphylococcus aureus</i>	16mm	16mm	25mm
<i>Bacillus subtilis</i>	13mm	20mm	22mm
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	15mm	16mm	25mm
<i>E.coli</i>	12mm	13mm	15mm



E. Coli

S. aureus

B. subtilis

P. aeruginosa

Figure V.10. L'effet de l'émulsion sur la reproduction des différentes bactéries.

L'activité antibactérienne des émulsions préparées avec des concentrations différentes du chitosane (0,25, 0,5 et 1%) qui a été menée vis-à-vis de différentes souches à Gram négatif et Gram positif montre une sensibilité très significative avec des zones d'inhibition assez importantes allant de 13 à 25 mm.

III. Préparation des pansements :

1. Conditionnement des pansements :

➤ **Choix de pansement :**

D'après la recherche bibliographique, il existe plusieurs types de pansement à base de polyéthylène (traité, non traité, tissé, non tissé, perméable, non perméable). Le type de pansement qui a été choisis pour notre étude est de type non traité perméable et ce par rapport à ses propriétés qui ont été indiquées dans la partie matériel et méthode. Ces pansements ont été fournis par l'industrie « *Lyn pansement* ».

2. Caractérisation des pansements :

2.1. Uniformité du poids :

Tableau V.8. : Les résultats d'uniformité du poids.

Nombre de partie	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Poids (gramme)	0.0389	0.040	0.0359	0.0370	0.0394	0.0341	0.0354	0.0392	0.0345

10	11	12	13	14	15	16
0.0406	0.0410	0.037	0.0330	0.0430	0.0384	0.0396

Le tableau V.8 présente le poids des différents pansements préparés.

➤ **Calcul du poids moyen :**

$$m \text{ moyenne} = \frac{\sum m}{N} = 0.604/16=0.037 \quad \text{Eq V 2}$$

avec :

m : la masse.

Les résultats du poids des différentes parties variant de 0,03350 g/partie à 0,0430 g/partie. Et le poids moyen égale à 0.037 g/partie .donc on peut dire que le produit est distribué équitablement .Ces résultats sont adaptées à une application sur la peau.

2.2. Poids et épaisseur du pansement :

- les résultats obtenus pour le poids des divers pansements sont indiquée dans le tableau ci-dessous :

Tableau V.9 : Résultat du poids de pansements.

Pansements	1	2	3	4	5	6
Poids (gramme)	1.189	1.148	1.321	1.231	1.278	1.225

Le poids mesuré est donc varie entre 1.148 g/pansement à 1.321g/pansement, et le poids moyenne est de 1.23g, qui indiquant une bonne uniformité.

- les résultats obtenus pour l'épaisseur du pansement à l'aide d'un pied à coulisse sont montrée dans le tableau V.9.

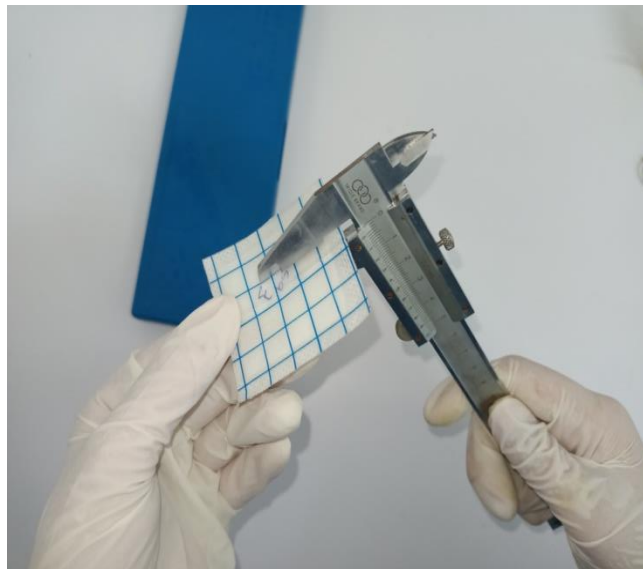


Figure V.11. : Mesure d'épaisseur du pansement à l'aide d'un pied à coulisse.

Les pansements préparés avaient une épaisseur allant de 0.12 mm à 0.14 mm, donc on peut dire qu'on a une bonne homogénéité d'épaisseur.

2.3. Endurance du pliage :

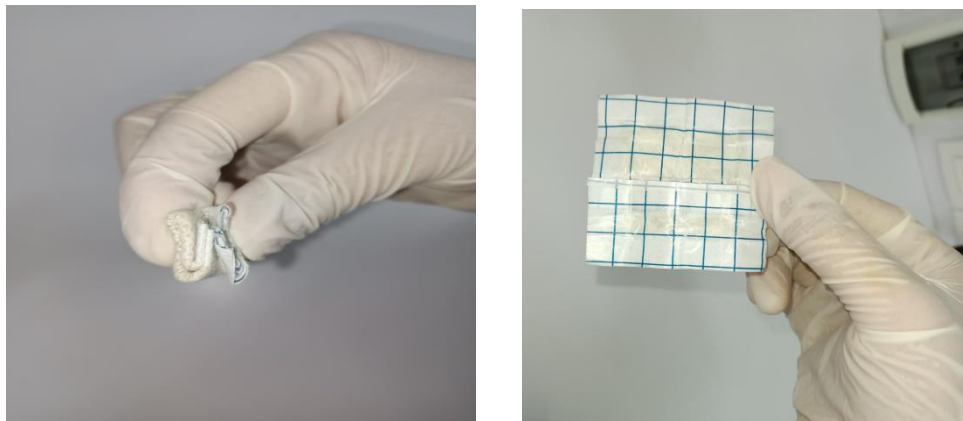


Figure V.12. Pliage et dépliage du pansement.

Les valeurs d'endurance au pliage des pansements formulé sont été trouvées dans un nombre de 6 à 7 plis, et on remarque de ce test que le produit ne sort pas de son adhésion et après le dépliage (le relâchement) de pansement reste intact et ne se casse pas donc une bonne résistance et une bonne élasticité. Comme le montre la figure V.12.

2.4 .Pourcentage d'humidité :

Pour le calcul de la valeur d'humidité nous avons utilisé la formule IV.2. Les résultats sont comme suit :

Tableau V.10 : Variation de taux d'humidité en fonction de temps.

Temps (heure)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	18	24
Taux d'humidité (%)	1.8	1.35	1.2	1.1	0.7	0.5	0.35	0.32	0.32	0.30	0.30

D'après les résultats, nous avons noté un pourcentage d'absorption d'humidité du pansement de 17%. Nous pouvons conclure que ce caractère humidifiant peut favoriser l'hydratation de la plaie ce qui favorise certainement la cicatrisation rapide de la plaie.

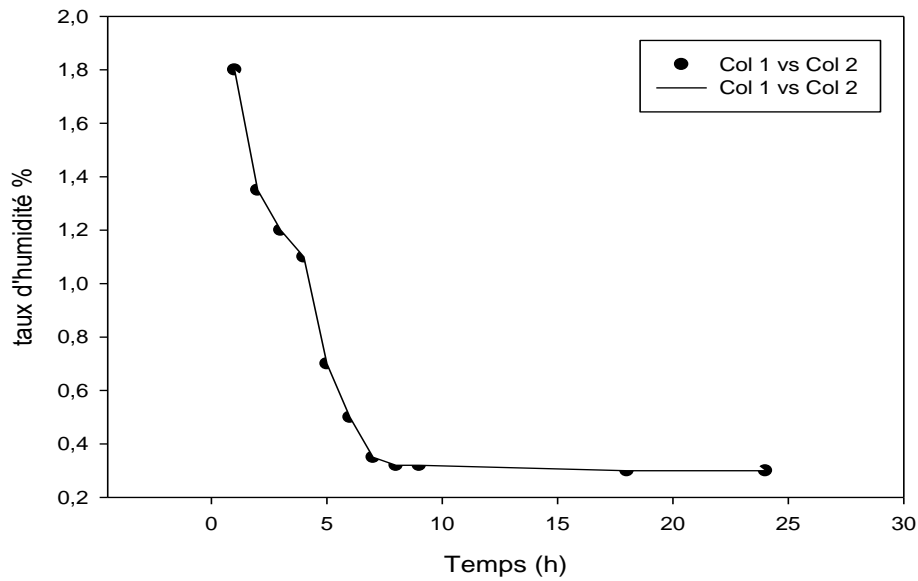


Figure V.13. Variation de taux d'humidité en fonction du temps.

La variation du taux d'humidité en fonction de temps illustrée sur la figure V.13 montre une diminution du taux avec l'augmentation du temps. Cette diminution est due certainement à l'évaporation de l'eau qui dure 8 heures

2.5 Force d'allongement :

Après avoir exercé une force sur notre pansement on a noté la variation de la longueur en fonction du temps jusqu'à ce qu'il se détruit.



Figure V.14. Test de force d'allongement.

Tableau V.11: La variation de la longueur sous l'effet de force d'allongement.

Temps (s)	0	30	60	120	180	240
Longueur (mm)	4	4.5	5.2	6.3	6.9	7.2

Alors : $a = l - l_0$, $a = 3,2\%$, $a > 0$

Donc on conclut que notre pansement a la capacité à s'allonger dans un seul sens.

Plus l'allongement est élevé, plus la ductilité ou l'élasticité du matériau est élevée.

2.6. Uniformité du contenu :

Des études FTIR de la formulation appliquée sur le pansement, ont été réalisées et les résultats sont comme suit :

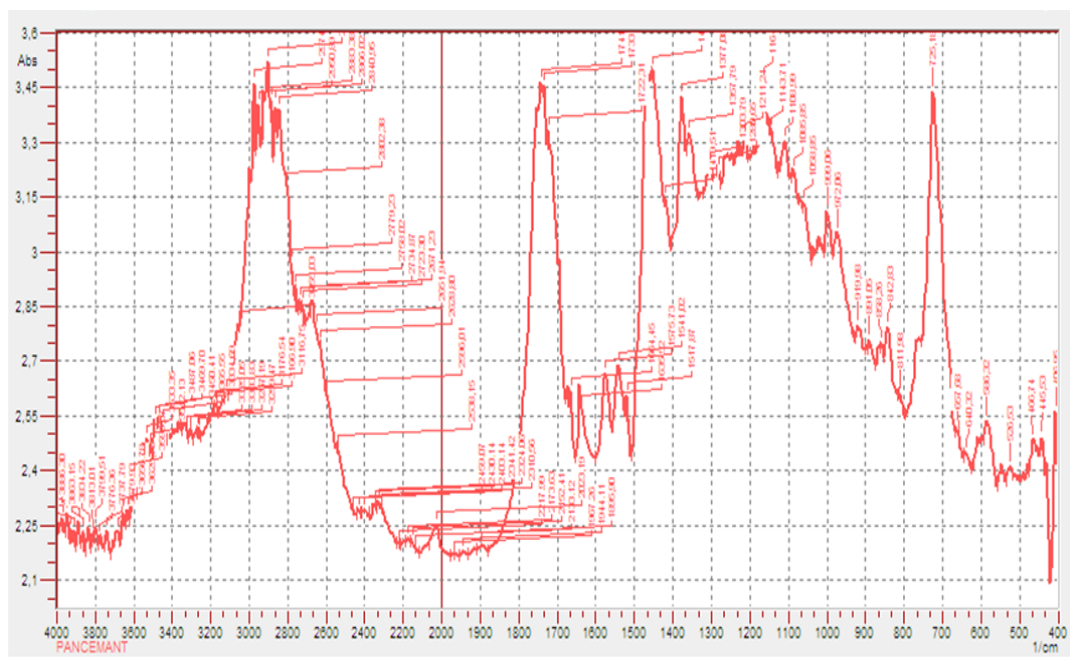


Figure V.15. : Spectre FTIR du pansement.

Tableau V.12: Principales bandes d'adsorption de la poudre du chitosane.

Bandes d'adsorption IR cm^{-1}	Chitosane obtenu
3436	élongation -OH
2958 et 2873	élongation C-H
1027	élongation C-OH
1375	déformation CH ₂ et CH ₃
1166	cycle pyranose
1072 et 892	élongation C-O-C
1641	déformation amide

Selon les résultats obtenu dans la figure (V.15) et au tableau (V.12), on peut conclure qu'il n'y avait aucune interférence (changement) dans les groupements fonctionnel avec ceux du chitosane.

2.7. Caractérisation par microscopie électronique à balayage (MEB) :

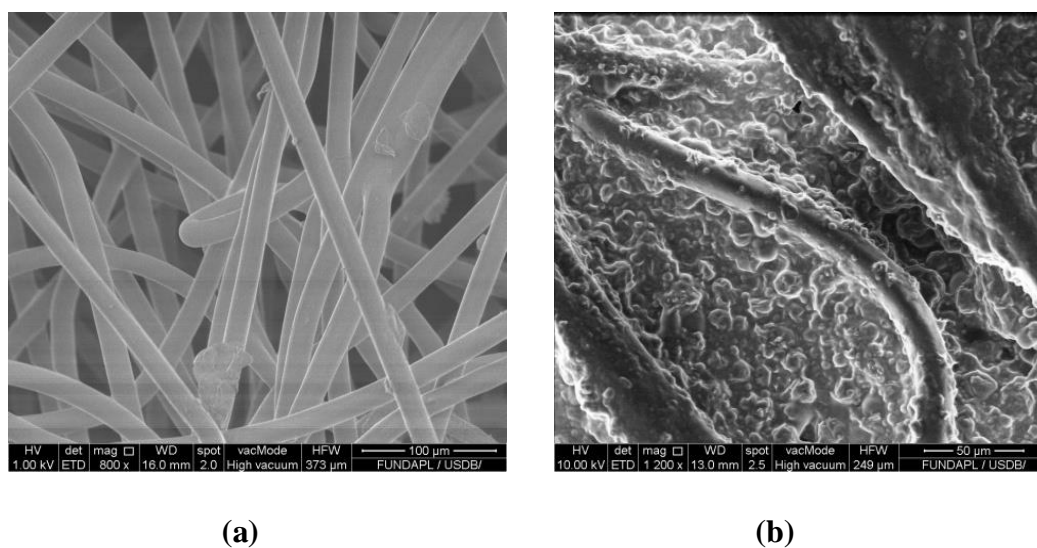


Figure V.16. Image microscopie électronique à balayage (a) polyéthylène sans produit, (b) polyéthylène avec produit.

Nous observons à travers la micrographie (b) l'imprégnation totale de notre émulsion dans les pores du pansement de diamètre 150 ± 30 . Avec une bonne dispersion des particules.

Conclusion :

Les plaies chroniques sont un problème de santé publique majeur en raison des coûts élevés qui engendrent leur prise en charge. Les plaies chroniques décrites dans ce manuscrit sont les brûlures. Ces types de plaies présentent un risque d'infection important, en retardant leur guérison. L'infection des plaies entraîne une production d'exsudats purulents, des mauvaises odeurs et une douleur intense à cause de la réponse inflammatoire provoquée par l'infection.

L'utilisation de dispositifs médicaux comme les pansements est une alternative pour le traitement des plaies notamment pour les plaies infectées ou présentant un risque d'infection. Il existe une vaste gamme de pansement à base de substances actives pour traiter les plaies infectées. Le principe actif le plus utilisé est l'argent, en raison de son large spectre d'action contre les bactéries à Gram positif, les bactéries à Gram négatif et les champignons. Cependant, la large diffusion de l'argent vers les tissus sains peut engendrer des effets toxiques envers les cellules impliquées dans la cicatrisation comme les kératinocytes et les fibroblastes retardant ainsi la cicatrisation.

Le but de notre étude a été de développer un pansement à libération d'une émulsion contenant le principe actif comme phase aqueuse et une phase huileuse pour le traitement des plaies chroniques causées par des brûlures. L'innovation de ce travail se base sur l'incorporation de l'émulsion dans un support textile fibreux à base de polyéthylène comme agent antibactérien, anti-inflammatoire, antioxydant et hydratant.

Tout au long de cette étude, nous avons tenté d'extraire le chitosane à partir de l'os de sépia avec un DDA de 96%, et un poids moléculaire de 1671,93 Dalton. Soluble dans une solution d'acide acétique très diluée ce qui a facilité son utilisation dans le domaine pharmaceutique comme PA.

L'émulsion formulée à base du chitosane se compose de deux phases non miscibles ; phase aqueuse et la phase huileuse. Le choix des excipients a été fait de tel sorte que l'émulsion à préparé soit la plus naturelle possible et hydratante. Afin d'obtenir une émulsion stable, nous avons effectuées plusieurs combinaisons en faisant varier les concentrations des différents composants de l'émulsion. Des caractérisations physico-chimiques à savoir la stabilité thermique et par centrifugation, l'homogénéité et les tests rhéologiques: test de

viscoélasticité et test d'écoulement ont été effectués . Les résultats obtenus ont été très satisfaisants.

Cette émulsion, a été introduire dans un pansement de polyéthylène. Le produit fini a été soumis aux différentes analyses : FTIR, taux d'humidité et le MEB. Les résultats ont montré une bonne uniformité du poids ainsi que l'épaisseur ce qui correspond à un bon étalement et un taux d'humidité considérable favorisant une bonne hydratation de la plaie ce qui favorise une cicatrisation accélérée.

Les pansements non tissés offrent non seulement une bonne couverture, mais sont également perméables à l'air et à l'humidité.

Cependant, comme tout travail réalisé, nous nous sommes heurtés à des difficultés d'ordre expérimental, En dépit des désagréments constatés, nous avons pu atteindre notre objectif qui était l'extraction d'un principe actif à partir d'une biomasse marine afin de l'utiliser dans la formulation d'une émulsion stable et homogène introduire dans les pansements anti brûlure, efficace et conforme.

Ces résultats très intéressants et prometteurs peuvent être confirmés grâce à l'exécution de la diffusion avec les tests anti-brulures in vivo et vérifier la libération prolongée ex vivo (cellule de franz).

Références :

- [1] :Laurent Bidault. (2012). «D'un matériau innovant vers un pansement actif et un substitut cutané», synthèse de doctorat ,Médecine humaine et pathologie, Université de Cergy-Pontoise. p 1_3.
- [2] :Florence Dupasquier. (2011).«Hydrogels physiques de chitosane pour la régénération in vivo du tissu cutané après brûlures du troisième degré», synthèse de doctorat , Médecine humaine et pathologie, University de Claud-Bernard Lyon 1.p 3-5.
- [3] : L. Bargues, T. Leclerc, N. Donat, P. Jault. (2009) .Conséquences systémiques des brûlures étendues Systemic consequences of extensive burns.vol n °18, Pp 687—693.
- [4] :Mélissopoulos, Alexandre et Levacher,Christine. (2012).La peau 2eédition. Paris: LAVOISIER.
- [5]: Aurore Lalouette . (2017) .Le pharmacien et les brûlures : traitements et conseils à l'officine.Thèse pour l'obtention du diplôme d'état de docteur en pharmacie .Université de Bordeaux. p 11- 43.
- [6] :Isoir, M. (2006). Appraisal of alternative skin model for the study of epidermal restoration following exposure to various environmental stress agents: ionising radiation and UV B (No. FRNC-TH--6964). Université de Versailles Saint Quentin en Yvelines (UVSQ).p 4,9,19.
- [7] : (2019). Brûlures Cutanées Récentes. Cours de Résidanat. N° Validation : 0810201927 .p1 .p 28.
- [8] : Hammi ,S ; Takhlidjt, F . (2020) . Effets cicatrisants d'une crème conçue à base d'huile de lentisque (*Pistacialentiscus L.*) et de miel sur les brûlures expérimentales chez les rats.(diplôme de master , université de bouira). P12-14 .
- [9] :<https://www.msmanuals.com/fr/accueil/troubles-cutan%C3%A9s/biologie-de-la-peau/structure-et-fonction-de-la-peau>.
- [10] : Serres-Bérard, D. (2019). Développement d'un modèle de peau reconstruite par génie tissulaire à partir de cellules diabétiques pour l'étude des plaies chroniques cutanées. p 2,4.
- [11] :“Kanitakis J. Anatomy .(2002) .histology and immunohistochemistry of normal human skin. European journal of dermatology. vol n° Pp124 390-401.”
- [12] : Lambert Bérengère. (2018) .prise en charge du vieillissement . cutané : comment les

cosmétiquée s'inspirent des solutions esthétique. Thèse pour l'obtention du diplôme d'état de docteur en pharmacie. Université d'Aix – Marseille. p21- 29.

[13] :Georgel, A. (2008). Pénétration transcutanée des substances actives: application en dermocosmétologie (Doctoral dissertation, UHP-Université Henri Poincaré).p7,12,13.

[14] : Lafourcade, D. (2015). Prise en charge de la brûlure cutanée thermique: parcours-type du centre de traitement des brûlés jusqu'à celui de rééducation. p5,8,10.

[15] :Brodeau Marie. (2015,Novembre).Topiques réparateurs cutanés et molécules cicatrisantes : évaluation des connaissances de l'équipe officinale. Thèse pour l'obtention du diplôme d'état de docteur en pharmacie. Université de Poitiers. p34-35.

[16] :Dréno, B. (2008). Anatomie, immunologie de la peau et de ses annexes. In Annales de Dermatologie et de Vénérologie Elsevier Masson.
(Vol. 135, pp. 149-152).

[17] : Valdivia, A. M..(2018). Conception et évaluation d'un pansement à libération de deux principes actifs pour le traitement des plaies chroniques. Médecine humaine et pathologie. Thèse pour l'obtention du grade de Docteur Université de Lille. Français. p18-23.

[18] :https://www.researchgate.net/figure/Les-zones-du-derme-Dapres-site-web-3_fig4_342622254 .

[19] :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. vol. 301, n° 5, p. 329-336.

[20] :https://www.researchgate.net/figure/Schema-de-lhypoderme-Dapres-site-web-2_fig5_342622254

[21] : Dupasquier, F(2011) .Hydrogels physiques de chitosane pour la régénération in vivo du tissu cutané après brûlures du troisième degré. Pour obtenir du diplôme de DOCTORAT. Médecine humaine et pathologie. Université Claude Bernard - Lyon I,. Français.p20,22.

[22] :Karima SIF NASR. (2021). Les brûlures chimiques au fréon :A propos d'un cas et revue de littérature. Thèse Pour l'Obtention du Diplôme de Docteur en Médecine. royaume du Maroc université mohamed v de rabat . p 14-15.

[23] :KebirZakarya Abdelghani.(2015). Les brûlures. University of Oran.p 15.

[24] : Diane Lafourcade. (2015). Prise en charge de la brûlure cutanée thermique : parcours-type du centre de traitement des brûlés jusqu'à celui de rééducation. . Thèse pour l'obtention du diplôme d'état de docteur en pharmacie. Université de Bordeaux.

- [25] :Betty Laverdet. (2016). Innervation périphérique et réparation cutanée : rôle de l'innervation dans la cicatrisation après brûlure et sur l'activité cellulaire des fibroblastes dermiques. Thèse pour obtenir le grade de Docteur. Médecine humaine et pathologie. Université de Limoges. Français. p 42-43.
- [26] :C. ECHINAR, J. LATARJET. (2012). Les Brûlures. Paris:Masson.pp 29-40.
- [27] :FATOUMA HAIDARA. (2014). LES BRULURES CHEZ L'ADULTE DANS LE SERVICE DE CHIRURGIE GENERALE AU CHU GABRIEL TOURE.pour obtenir le grade de Docteur en Médecine (diplôme d'état).université USTTB.p 44-45.
- [28]:M. Benyamina, J. Stéphanazzi, T. Rackelboom, D. Wassermann, C. Vinsonneau. BRULURES.
- [29] :Laurent Bidault. (2012). D'un matériau innovant vers un pansement actif et un substitut cutané. Médecine humaine et pathologie. pour l'obtention du grade de Docteur. Université de Cergy Pontoise. Français.p 11.
- [30] : <https://www.elsevier.com/fr-fr/connect/ifsiiinfirmier/plaies,-cicatrisation-et-pansements>.
- [31] : Galizra, I.(2013) . Formulation d'une crème hydratante à base de chitosane et l'étude de stabilité. (Mémoire de fin d'étude pour l'obtention d'un diplôme de master professionnelle en chimie pharmaceutique, Université de Saad Dahleb de Blida) .p19 .
- [32] :Mme HASSIBA ZEMMOURI (2008) Division Bio-Energie et Environnement. Le Chitosane ... est-il la molécule du siècle ? Vol, N°14
- [33]:DJELAD AMAL.(2011).PRÉPARATION DES MATERIAUX COMPOSITES CHITOSANE-ZEOLITHES APPLICATION DANS L'ADSORPTION DU CUIVRE Pour Thèse Pour l'obtention du diplôme de Doctorat en Chimie. UNIVERSITÉ D'ORAN ES-SENIA .p10, 19.
- [34]: HERINARIVO Arnaudine Françoise .(2016).PRODUCTION DE CHITINE ET DE CHITOSANE A PARTIR DES DECHETS DE CRABES DE MANGROVE (Scylla serrata) PAR VOIE CHIMIQUE : APPLICATION AU TRAITEMENT DES EAUX USEES D'IMPRIMERIE MEMOIRE DE FIN D'ETUDES. EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME DE MASTER II EN CHIMIE .UNIVERSITE D'ANTANANARIVO.p7,8.
- [35] : BALI FATIMA .(2012). Mise au point et améliorations des caractéristiques

physicochimiques de films de Chitosane purs et plastifiés Mémoire de Magister Pour l'obtention du titre de Magister en Génie de l'environnement Option : Biotechnologies. ÉCOLE NATIONALE POLYTECHNIQUE.p20.

[36]:ZEMMOURI épouse TEGUAR Hassiba .(2012). VALORISATION D'UN BIOMATERIAU, LE CHITOSANE, DANS LE TRAITEMENT DES EAUX DE SURFACE ET DANS LE CONDITIONNEMENT DES BOUES. Thèse de Doctorat en Génie de l'Environnement . ÉCOLE NATIONALE POLYTECHNIQUE.p26.

[37]:DAHMANI .K , ZADI.K.(2018). Synthèse, caractérisation et modification du chitosane. Application dans l'élimination du bleu de méthylène par adsorption. pour l'obtention du diplôme de Master. UNIVERSITE AKLI MOHAND OULHADJ-BOUIRA.p5.

[38]:AbdulhadiAljawish .(2013).« Fonctionnalisation enzymatique du chitosane par des composés phénoliques : évaluation des propriétés biologiques et physicochimiques de ces nouveaux bio polymères ».Thèse de doctorat. Université de Lorraine. En vue d'obtenir le grade de DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE LORRAINE . l'Université de Lorraine.p34.

[39]:LARBI BOUAMRANE Omar .(2018) .Application du chitosane modifié chimiquement pour préparation pharmaceutique :Préparation et évaluation in vitro de microsphères de tétracycline-chitosane et paracétamol-chitosane. En vue de l'obtention du diplôme de DOCTORAT. UNIVERSITE M'HAMED BOUGARA-BOUMERDES.p30-38.

[40]:MOKRANI Nadir .(2013).PREPARATION ET ETUDE DU COMPORTEMENT DE MEMBRANES BIOPOLYMERES ALGINATE DE SODIUM/CHITOSANE. En vue de l'obtention du diplôme de MAGISTER en : Génie des Polymères. UNIVERSITE M'HAMED BOUGARA-BOUMERDES.p29.

[41]:George.A.F.Roberts. coordonné par Grégoriocrini ,pierre Marie Badot et Ericguibal.(2009) . chitine et chitosane du biopolymère à l'application .université de french comtè. p25.

[42]:amirinedjla.(2010) .élaboration et caractérisation des membranes nanocomposite a base de chitosane pol et caractérisation des membranes nanocomposite a base de chitosane pol vinyle alcool NA montmorillonite En vue de l'obtention du diplôme de MAGISTER en : Génie des Polymères . UNIVERSITE M'HAMED BOUGARA-BOUMERDES.p29.

[43]:AMROUN DYHIA , TAHAROUNT KAHINA . (2010 – 2011). Production et utilisation des chitosanes dans les procédés de coagulation-floculation.Mémoire de Master . Université Mouloud Mammeri de tizi ousou .p6-12.

- [44]:HAMEDI CHAHRAZAD, GUEZOULI SOUMIA. (2020) . Optimisation de l'extraction du chitosane par voie hydro chimique à partir des déchets des coproduits chitineux. En vue de l'obtention du diplôme de MASTER . Université AboubakrBelkaïd– Tlemcen .p13-20.
- [45] : BOUDOUAIA Nacer .(2020) .Modification, caractérisation et valorisation d'un matériau d'origine naturelle le chitosane pour la dépollution des eaux. THESE DE DOCTORAT EN SCIENCES. UNIVERSITE DJILLALI LIABE.p20-21.
- [46] : Mr BENSABA Sofiane .(2018). Les procédés de traitement et d'épuration des eaux usées par le chitosane. Pour l'obtention du diplôme de :DOCTORAT EN SCIENCES Spécialité: Chimie Inorganique et Environnement. UNIVERSITE ABOU-BEKR BELKAID – TLEMEN. P22.
- [47] :Laribi-HabchiHassiba, Saadoune Zineb, AmroucheZoheir. (2021). Conception and Evaluation of a Biopolymer Cream Extracted from a Marine Biomass—Anti-Infectious Effect and Healing of Chronic Wounds. *Advance in Biological Research*, 2(1), 1-7. DOI: 10.26855/abr.2021.11.001 .Laboratory of Energy Applications of Hydrogen, University Saad Dahlab of Blida.p2.
- [48]: KERMET SAID Hadjira . (2006).Préparation et Caractérisation des Systèmes Biotextiles Antimicrobiens : Fibres de Coton/Chitosane/Ag et Fibres de Luffa /Chitosane/Ag.MEMOIRE DE MAGISTER.Centre Universitaire Yahia Fares de Médéa.p59.
- [49]:Araremfaiza . (2010). Synthèse et caractérisation de biopolymères application au piégeage de colorants .Pour l'obtention du diplôme de Magister . Université d'oran Es_Sénia.p27.
- [50] :Doumeix, O. (2001). Les émulsions. *Opérations unitaires en génie biologique ScérenCNDPCRDP*.Pp 11-12.
- [51] : M. De Luca, P. Rocha-Filho, J. L. Grossiord, A. Rabaron, C. Vaution et M. Seiller .(1991). «Review: Les émulsions multiples» *International journal of cosmetic science*, vol. 13, Pp. 1-21.
- [52]: R. Lutz, A. Aserin, L. Wicker, N. Garti .(2009). Double emulsions stabilized by a charged complex of modified pectin and whey protein isolate, *Colloids Surf*. Pp 121-127.
- [53]: SEDDARI Soumia. (2015). Formulation et caractérisation physicochimique des émulsions doubles liquides et cristallisables. Etude de stabilité et cinétique de libération. UNIVERSITE DE MEDEA.p24.

- [54]** : Laure Ridel .(2015). Émulsions de Pickering : approche théorique et applications : analyse physico-chimique des phénomènes interfaciaux : obtention d'émulsions de Pickering nanométriques de manière spontanée et d'émulsions foisonnées de Pickering. Chimie théorique et/ou physique. Université Claude Bernard Pp 23 -24.
- [55]** : Marine Protat .(2016). Formation d'émulsions multiples stimulables en une seule étape d'émulsification : effet du sel et évolution vers des architectures biocompatibles. Chimie-Physique [physics.chem-ph], Université Pierre et Marie Curie.p 11.
- [56]**:Smith EW ,MaibachHI,SuberC,Nielloud F, Marti-Mestre G .(2000) . Use of emulsions as topical drug delivery systems en pharmaceutical Emulsions and suspensions. Chapter 7. New York. P 259-270.
- [57]** : Le Hir A. Pharmacie galénique. 8 ème édition. Masson. (2001).p (2, 4, 6, 36,96).
- [58]** : le guide de la médecine et de la santé en Algérie. (2019).
- [59]** : Emile M. (1998-1999). LES PANSEMENTS EN CHIRURGIE, OBEISSENT-ILS SYSTEMATIQUEMENT A LA REGLE D'ASEPSIE ? Institut de Formation Suzanne Pérouse 89 rue Haxo - 75020 Paris. P16.
- [60]** : Anne-Sophie Grosset-Janin. (2007).Pansements à l'argent et pratique officinale. Sciences pharmaceutiques. Université Joseph Fourier .p 13.
- [61]** :Marie-Alix ERTZSCHEID, Hélène SENECHAL Dr B. BRANGE. (2004). Hygiène des plaies et pansements, centre de coordination de la lutte. p45.
- [62]** : François PILLON.(2016).Les différents types de pansements Plaies et cicatrisation, stratégies thérapeutiques, vol ° 554. Pp 45-47.
- [63]** : Jacques BUXERAUD. (2021). Dispensation des pansements à l'officine, vol n° 608. Pp 27-29.
- [64]**: Winter GD. (1962) .Formation of the Scab and the Rate of Epithelization of Superficial Wounds in the Skin of the Young Domestic Pig. Nature vol n° 193.Pp 293-294.
- [65]** : Dr Virginie MALLET Pharmacien PH. (2013). CLASSIFICATION DES PANSEMENTS. Centre Hospitalier de Ruffec .p 4.
- [66]** : DEMANGE E, GHESQUIERE A. (2007). Achetez de la cosmétique bio, Minerva, Genève. « Les ingrédients utilisés en cosmétique bio et naturelle », Pp 45-59.

[67] : Karam, A., Le glycérol .(2010). Une matière première renouvelable pour la préparation catalytique de nouveaux bioproduits. L'Université de Poitiers.

[68]: Les prescriptions générales et les monographies générales de la Pharmacopée européenne ainsi que le préambule de la Pharmacopée française s'appliquent. Pharmacopée française 2004.

[69]: VIDAL - Diclofénac [Internet]. [cité 10 janv 2017]. Disponible sur:
<https://www.vidal.fr/substances/6757/diclofenac/>.

[70] : Flavie Lacharme. (2011). Les produits cosmétiques biologiques : labels, composition et analyse critique de quelques formules. Sciences pharmaceutiques.P 68.

[71] : Alejandra MogrovejoValdivia. (2018). Conception et évaluation d'un pansement à libération de deux principes actifs pour le traitement des plaies chroniques. Médecine humaine et pathologie. Université de Lille. Français.p 87.

[72]: Wlodarczyk, D. (2015). Elaboration contrôlée de membranes à base de chitosane pour le traitement de l'eau (Doctoral dissertation, Université Montpellier).

[73]: Bensaha Sofiane. (2018)."Les procédés de traitement et d'épuration des eaux usées par le chitosane". Thèse de doctorat en sciences. Université Abou-berk belkaid – Tlemcen.

[74] : Friberg, S. (1997) Emulsion stability. (Eds): *Food Emulsions*, 3rd edition, Marcel Dekker, New York, chapitre 1.

[75] : Akelesh Thyagarajan, J. Sam Johnson Udaya Chander, C. Senthil Kumar, Vidya Sreenivasan, R. Venkata Narayanan. (2015). Caractérisation des pansements. Preparation, in vitro Characterization of Transdermal Patch Containing Atenolol and Hydrochlorothiazide: A Combinational Approach. *Journal of Applied Pharmaceutical Science* Vol. 5 (Suppl 3), pp. 33-39.

[76] : Nagalakshmi Sethuraman, Bhavishi Gokuldoss, Anusha Murugesan, Asha Mani, Abdul Gani, Shanmuganathan Seetharaman. (2020). Fabrication and Characterization of Chitin Hydrogel Nano Silver Fused Scaffold for Wound Dressing Applications *Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research* , Vol n° 54, Pp 610-617.

[77] : Mounir SAHL.(2015). Synthèse, élaboration et caractérisation des nanocomposites à base de magnésium pour le stockage solide ;hydrogène. THESE Présentée pour obtenir le diplôme de doctorat. UNIVERSITE DES FRERES MENTOURI DE CONSTANTINE.P 63.