

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

المدرسة الوطنية العليا لعلوم البحر و تهيئة الساحل

École Nationale Supérieure des Sciences de la Mer et de L'Aménagement du Littoral



Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme D'Ingénieur en Sciences de la Mer

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Hydrobiologie Marine et Continentale

Spécialité : biotechnologie marine

Thème :

Élaboration et Caractérisation de Pansements Innovants à Base de Chitosane Marin.

Présenté par :

BOURAS BEDRA

Soutenu le 22/09/2024 devant le jury composé de :

| | | | |
|-------------------------|-----|-----------|------------|
| Mr. LOURGUIOUI HICHAM | MCA | (ENSSMAL) | Président |
| Mr. ZEGHACHE ABDELKADER | MAA | (ENSSMAL) | Examineur |
| Mr. DRICHE MOHAMMED | MCA | (ENSSMAL) | Promoteur. |

Année universitaire : 2023-2024

REMERCIEMENTS

Je souhaite exprimer ma profonde gratitude à toutes les personnes qui ont contribué à la réalisation de mon projet de fin d'étude.

Tout d'abord, je tiens à remercier mon encadreur [DRICHE MOHAMMED], pour leur soutien indéfectible et leurs conseils précieux tout au long de ce parcours. Leur expertise et leur disponibilité ont été des atouts majeurs dans l'avancement de mes recherches.

Je remercie également l'ensemble du personnel de l'École Nationale Supérieure de Science de la Mer et de l'Aménagement du Littoral (Mr. LOURGUIOUI et Mr. ZEGHACHE ABDELKADER) pour leur accueil chaleureux et leur aide logistique, qui ont facilité le bon déroulement de mon projet.

Enfin, je souhaite exprimer ma gratitude envers ma famille et mes amis pour leur soutien moral et leurs encouragements constants. Leur présence m'a motivé à donner le meilleur de moi-même.

DEDICACES

Je dédie ce mémoire à ma famille, en particulier à mes parents, pour leur soutien inconditionnel.

À mes collègues et amis de l'École Nationale Supérieure des Sciences de la Mer et de l'Aménagement du Littoral, qui ont partagé cette aventure académique avec moi.

Je remercie également mes enseignants pour leurs conseils précieux, notamment dans le cadre de ma recherche sur la fabrication de pansements cicatrisants innovants à base de chitosane marin.

Leur aide a été essentielle pour mener à bien ce projet.

Sommaire

| | |
|--|----|
| Liste de figures | 1 |
| Liste de tableaux | 1 |
| GENERALITES | 3 |
| 1.1. Généralités sur l'espèce utilisée | 3 |
| 1.1.1. Répartition mondiale et nationale..... | 3 |
| 1.1.2. Description générale et morphologie..... | 4 |
| 1.1.3. Taxonomie et position systématique | 5 |
| 1.1.4. La taxonomie sommaire de l'espèce étudiée est la suivante : | 5 |
| 1.2. Importance de la valorisation des coproduits de crustacés..... | 6 |
| 1.3. Composition biochimique des coproduits de crustacés | 7 |
| 1.3.1. La chitine et le chitosane | 7 |
| 1.3.2. Définition et structure..... | 8 |
| 1.3.3. Sources de la chitine et du chitosane | 9 |
| 1.3.4. Propriétés de la chitine et du chitosane..... | 11 |
| 1.3.5. Les propriétés biologiques | 12 |
| 1.3.6. Modification de la chitine et du chitosane :..... | 14 |
| 1.4. Chitine et Chitosane : | 16 |
| 1.5. Chitine et Chitosane | 16 |
| 1.6. L'importance du degré désacétylation..... | 17 |
| 1.7. Conditionnement des matériaux..... | 18 |
| 1.8. La plaie et la cicatrisation | 19 |
| 1.9. Les bandages | 20 |
| 1.9.1. Les compresses de gaze | 20 |
| 1.10. Les pansements « modernes »..... | 20 |
| 1.11. Les pansements hydrocolloïdes | 21 |
| 1.12. Les pansements hydrogels | 21 |
| 1.13. Les pansements de carboxyméthylcellulose (CMC, dites aussi hydrofibres)..... | 22 |
| 1.14. Les pansements interfaces | 22 |
| 1.15. Les pansements hydrocellulaires | 22 |
| 1.16. Utilisation conseillée par la HAS des différents pansements | 23 |
| 1.17. Idée de conception d'un textile innovant pour la cicatrisation : | 23 |
| Matériel et méthodes..... | 27 |
| 1.18. INTRODUCTION | 27 |
| 1.18.1. Matériel biologique | 28 |

| | | |
|---------|---|----|
| 1.18.2. | Matériel non-biologique..... | 28 |
| 1.19. | Co-produits de crevette :..... | 30 |
| 1.19.1. | Les sources de la carapace | 30 |
| 1.19.2. | Récolte de la matière première..... | 31 |
| 1.19.3. | Prétraitement des carapaces : | 31 |
| 1.20. | Détermination de la composition biochimique globale des coproduits des crustacés | 32 |
| 1.20.1. | Détermination de la teneur en eau..... | 32 |
| 1.20.2. | Détermination de la teneur totale en matière minérale | 33 |
| 1.20.3. | Détermination de la teneur en lipides totaux..... | 34 |
| 1.20.4. | Détermination de la teneur en protéines totales | 35 |
| 1.21. | Dépigmentation et dilapidation | 38 |
| 1.22. | Déminéralisation | 38 |
| 1.23. | Déprotéinisation et désacétylation :..... | 38 |
| 1.24. | Caractérisation du Chitosane | 39 |
| 1.24.1. | Rendement massique du chitosane | 39 |
| 1.24.2. | Test de solubilité | 39 |
| 1.24.3. | Test de viscosité | 39 |
| 1.24.4. | Calcul du degré de déprotéinisation | 40 |
| | Méthodes | 42 |
| 1.24.5. | Caractérisation des hydrogels | 43 |
| | Résultats et discussion | 50 |
| 1.25. | Identification de l'espèce | 50 |
| 1.26. | Composition biochimique globale des coproduits de crevettes..... | 51 |
| 1.26.1. | Taux d'humidité (Teneur en eau) | 51 |
| 1.26.2. | Teneur en matière minérale :..... | 52 |
| 1.26.3. | Teneur en lipides | 52 |
| 1.26.4. | Teneur en protéines | 52 |
| 1.26.5. | Teneur en sucres | 52 |
| 1.27. | Caractérisation du chitosane produit..... | 53 |
| 1.27.1. | Rendement massique du chitosane produit | 53 |
| 1.27.2. | Solubilité Le chitosane produit à partir de carapaces de crevettes se solubilise parfaitement dans l'acide acétique 1%, la solution est translucide avec un aspect très visqueux par rapport au chitosane commerciale. | 53 |
| 1.27.3. | Viscosité..... | 54 |
| 1.27.4. | Poids moléculaire | 54 |
| 1.27.5. | Qualité du chitosane produit | 55 |
| 1.28. | L'utilisation du chitosane sous forme d'hydrogel | 57 |
| 1.28.1. | Définition d'un hydrogel..... | 57 |

| | | |
|----------------------------------|--|----|
| 1.28.2. | Cas des hydrogels physiques de chitosane | 57 |
| 1.28.3. | Origine de l'activité biologique des hydrogels : concept de leurre des milieux biologiques 58 | |
| 1.29. | élaboration des hydrogels de chitosane | 58 |
| 1.29.1. | Purification et stérilisation du chitosane..... | 59 |
| 1.29.2. | Procédé de fabrication des hydrogels bicouches..... | 60 |
| 1.29.3. | Evaluation des propriétés antibactériennes des hydrogels | 62 |
| CONCLUSIONS | | 72 |
| Références bibliographiques..... | | 75 |
| • | Fournisseurs de Chitosane Marin..... | 80 |
| • | Partenaires Clés | 80 |
| • | Fournisseurs Locaux..... | 80 |
| • | Applications Biomédicales..... | 80 |
| • | Distributeurs Pharmaceutiques..... | 80 |
| • | Principaux Distributeurs..... | 81 |
| • | Réglementation et Contrôle de Qualité | 81 |
| • | Organismes de Régulation..... | 81 |
| • | Initiatives de Recherche et Développement | 81 |
| • | Institutions Impliquées | 81 |
| • | Stratégies de Marketing..... | 81 |
| • | Approches Ciblées..... | 81 |
| • | Logistique et Distribution..... | 81 |
| • | Stratégies Efficaces | 81 |
| • | Contrôle Qualité | 82 |
| • | Phases Clés..... | 82 |
| • | Fabrication en Algérie..... | 82 |
| • | Établissements Clés..... | 82 |
| RESUME..... | | 83 |

Liste de figures

| | |
|---|------------------------------------|
| Figure 1: Répartition géographique de <i>Parapenæus longirostris</i> (LUCAS, 1846)..... | 4 |
| Figure 2: schéma général d'une crevette en vue latérale gauche (Lucie Berger, 2009) | 4 |
| Figure 3: Repartition-de-la-production-mondiale-des-crevettes..... | 6 |
| Figure 4: Structure chimique de la chitine et du chitosane (LE ROUX, 2012) | 9 |
| Figure 5: principaux dérivés de la chitine | 15 |
| Figure 6: Restaurant Dalia Dely Ibrahim,ALGER..... | 30 |
| Figure 7: pêcherie d'Alger | 31 |
| Figure 8: Extracteur de Soxhlet..... | 34 |
| Figure 9: Préparation de la gamme étalon..... | Erreur ! Signet non défini. |
| Figure 10: Etape de dilapidation et dépigmentation..... | 38 |
| Figure 11: Dispositif de déprotéinisation..... | 39 |
| Figure 12: <i>Parapenæus longirostris</i> échantillon de la pêcherie d'Alger..... | Erreur ! Signet non défini. |
| Figure 13:Solubilisation des chitosanes Commercial | 53 |
| Figure 14: Spectre RMN 1H du chitosane extrait..... | 56 |
| Figure 15: obtention d'hydrogels par réticulation ionique | 58 |
| Figure 16: Hydrogels physiques de chitosane..... | 59 |
| Figure 17:Fabrication d'un un hydrogel bicouche de chitosane | 61 |
| Figure 18:hydrogel physique bicouche de chitosane | 61 |

Liste de tableaux

| | |
|--|----|
| Tableau 1: Sources potentielles de la chitine | 11 |
| Tableau 2: les trois principales voies permettant de dépolymérisation des chaines de chitine et de chitosane..... | 15 |
| Tableau 3:Usage potentiel pour plusieurs formes de chitine Et de chitosane | 19 |
| Tableau 4: Appareils et réactifs utilisés. | 28 |
| Tableau 5: Critères distinctifs pour l'identification de <i>Parapenæus longirostris</i> | 50 |
| Tableau 6: Résultats obtenus et comparaison avec les résultats retrouvés dans la littérature..... | 51 |
| Tableau 7: Rendement massique en chitosane obtenu à partir des coproduits de crevettes rapportés dans la littérature | 53 |
| Tableau 8: Résultats de la viscosité dynamique de différentes solutions de chitosane..... | 54 |
| Tableau 9: Degrés de déminéralisation et de déprotéinisation du chitosane produit. | 55 |

CHAPITRE I

GENERALITES

GENERALITES

1.1. Généralités sur l'espèce utilisée

Une seule espèce a fait l'objet de cette étude : *Parapenæus longirostris*

Voici une introduction professionnelle sur l'espèce *Parapenæus longirostris* :

***Parapenæus longirostris* : Une Crevette Rose du Large**

Parapenæus longirostris, également connue sous le nom de "Crevette rose du large", est une espèce de crevette de la famille des Penaeidae. Cette crevette est largement répandue dans l'Atlantique Est, de la Mer du Nord jusqu'en Afrique du Sud, ainsi que dans la Méditerranée.

Elle vit principalement en eaux profondes, entre 20 et 800 mètres de profondeur, sur des fonds meubles comme la vase ou le sable. *Parapenæus longirostris* est une espèce commerciale importante, pêchée pour l'alimentation humaine dans de nombreux pays.

Cette étude se concentre spécifiquement sur cette espèce de crevette, en examinant sa biologie, son habitat, sa répartition géographique et son importance économique. Les principales caractéristiques de *Parapenæus longirostris* seront détaillées afin de mieux comprendre cette ressource marine [1].

1.1.1. Répartition mondiale et nationale

Penaeus à longues cornes se trouve dans l'eau salée des estuaires. c'est le fond Au-dessus d'un fond boueux ou sableux vaseux, 20 à 700 m, généralement 70 à 400 m. Il se rencontre dans tout le bassin méditerranéen et est également abondamment répandu dans l'Atlantique Est : de l'Angola au Portugal (FORÊT DE CROSNIERET, 1973 ; HOLTHUIS, 1980 ; SOBRINO et CARDENAS, 1996) et l'Atlantique Ouest : de la Guyane au Massachusetts (États-Unis) (HOLTHUIS, 1987). (Figure 1)

Parapenæus Longirostris se trouve sur le bord supérieur du plateau continental, Vue sur le talus continental à une profondeur de 100 mètres. c'est fréquent et abondant Les hauteurs diurnes varient de 150 à 300 m et les hauteurs nocturnes vont de 100 à 300 m (GRIMES et al. 2004).

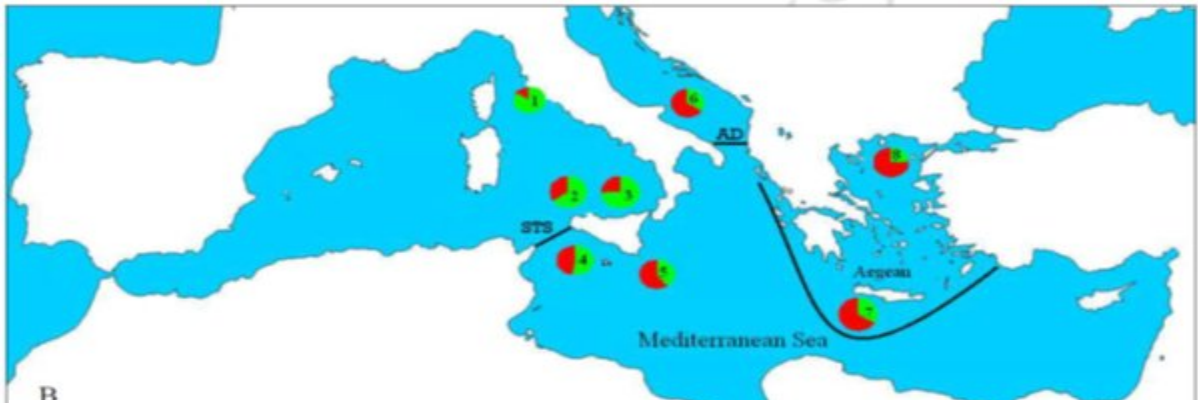


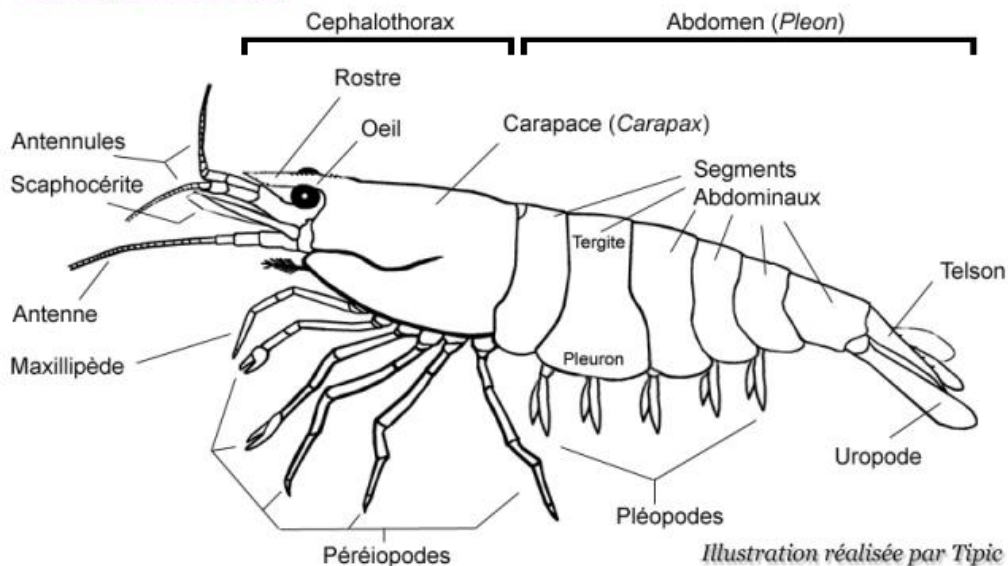
Figure 1: Répartition géographique de *Parapenæus longirostris* (LUCAS, 1846)

1.1.2. Description générale et morphologie

Parapenæus Longirostris (LUCAS, 1846) présente, en général, une coloration beige plus ou moins nacrée, le rostre est de couleur plus foncée, ainsi que les pattes, les articulations, des appendices et le telson (Figure 2).

La coloration est rose rouge chez les individus qui viennent de muer. La carapace des femelles dépasse souvent 27 mm et peut atteindre 41,5 mm ; celle des mâles mesure généralement plus de 25 mm et atteint 38 mm ; La carène post-rostrale est haute et tranchante

Morphologie d'une crevette



(BENKABOUCHE, 2015). Le nombre de dents du rostre est compris entre 6 et 10, dans 30% des cas (MORI et al, 2000).

Figure 2: schéma général d'une crevette en vue latérale gauche (Lucie Berger, 2009)

1.1.3. Taxonomie et position systématique

Appartenant à l'ordre des Décapodes (LATREILLE, 1802) et le sous ordre des Natantia (BURKENROAD, 1963), ce dernier comprend trois principaux infra-ordres : Penaeidea, Stenopodidea et Caridea.

Pour sa part, l'infra-ordre des Penaeidea se distingue par plusieurs caractères, dont les pleurons du second segment abdominal qui recouvre ceux du troisième, ainsi que la présence de petites pinces aux trois premières paires de pattes. On note aussi la présence d'épines sur le bord supérieur du rostre, l'œil est sans tubercule, bien marqué sur le pédoncule, mais avec une écaille à sa base (Figure 3).

Les Penaeidea (RAFINESQUE, 1815) se composent de trois familles dont celle des Penaeidae qui se caractérise par un rostre robuste, la présence de plusieurs branchies, et cinq paires de périopodes bien développées munies de pinces pour les trois premières (BENKABOUCHE, 2015)[2].

1.1.4. La taxonomie sommaire de l'espèce étudiée est la suivante :

-Règne : Animal.

-Embranchement : Arthropodes

-Sous Embranchement : Antennates

-Classe : Crustacés (Pennant,1777)

-Sous Classe : Malacostracés (Grobber, 1892)

-Super Ordre : Eucaridés (Calman,1904)

-Ordre : Décapodes (Latreille, 1802)

-Sous Ordre : Natantia (Burkenroad, 1963)

-Infra Ordre : Penaeidea (Rafinesque, 1815)

-Super Famille : Penaeidea (Rafinesque, 1815)

-Famille : Penaeidae (Rafinesque, 1815)

-Genre : *Parapenæus* (Smith, 1885)

-Espèce : *Parapenæus longirostris* (Lucas, 1846)

1.2. Importance de la valorisation des coproduits de crustacés

La hausse de la consommation des crustacés, principalement la crevette était marquée avant la crise de 2009. La consommation mondiale est passée de 0,4 kg/hab en 1961 à 1,6 kg/hab en 2005. La crevette est la première valeur échangée parmi les produits marins. Sa production annuelle mondiale était estimée à plus de 6 Mt en 2005.

La région Asie-Pacifique, et notamment la Chine, la Thaïlande, le Vietnam, l'Indonésie et l'Inde, est la principale productrice, totalisant près de 88 % des productions (FAO, 2009 ; GLOBEFISH, 2011). Les exportations de crevettes atteignent 14 milliards de dollars par an, soit 16 % des produits marins.

La part de l'aquaculture représente 70 % de la production mondiale de crevettes et plus généralement 76 % pour l'ensemble des crustacés (FAO, 2006). Cependant, la répartition entre l'aquaculture et la pêche de crevettes est très inégale selon la région du globe (Figure I.4.)

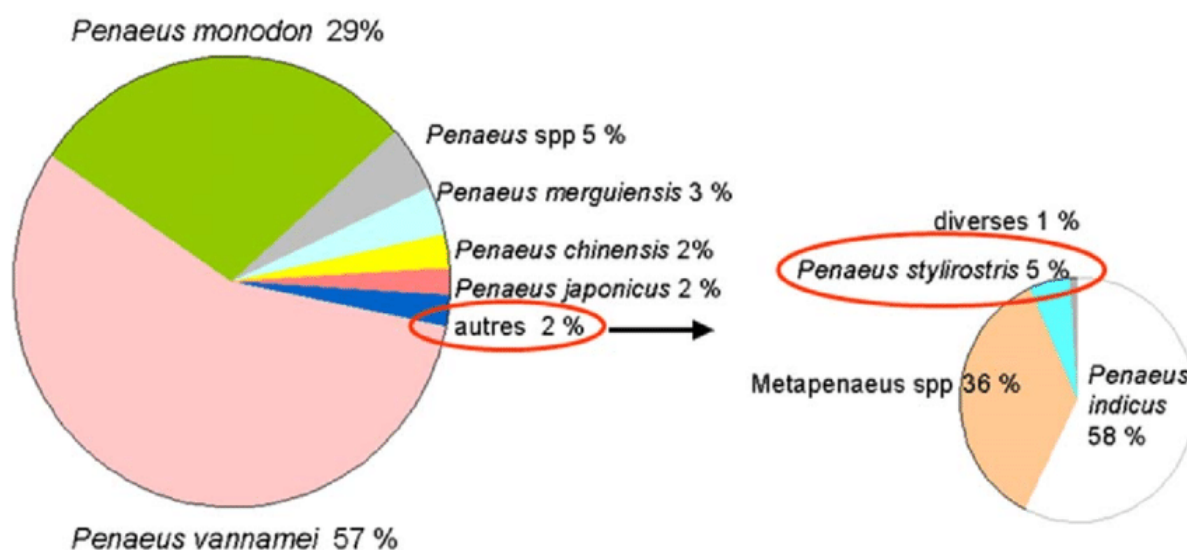


Figure 3: Répartition de la production mondiale des crevettes

L'augmentation de la consommation des crustacés entraîne une augmentation du volume de leurs

coproduits. Les coproduits de crustacés représentent plus de 60 % du poids frais (WANG et al. 2011).

La valorisation de ces coproduits, qui sont essentiellement des carapaces récupérables après décorticage de la crevette, est importante vu leur richesse en différentes molécules : Protéines, lipides, minéraux, vitamines et d'autres composés bioactifs qui sont bénéfiques et que l'on peut mettre au profit de la santé humaine et animale (RANDRIAMAHATODY, 2011). On parle de déchet lorsqu'aucune voie de valorisation n'existe et que le sous-produit doit être détruit (ANDRIEUX, 2004)[3].

Des plateformes de décorticage de crevettes existent notamment au Maroc et en Asie. Leur principale voie de valorisation est la production de chitine, l'un des composés majoritaires des cuticules de crustacés (LE ROUX, 2012).

1.3. Composition biochimique des coproduits de crustacés

Les coproduits des crustacés sont une source précieuse de plusieurs molécules de haute valeur tels que les pigments d'astaxanthine et de caroténoïdes, les petits peptides à activité antimicrobienne, les minéraux et vitamines, les acides gras polyinsaturés de la série oméga 3 et oméga 6, la chitine et le chitosane. Ces biomolécules ont des applications dans différents domaines en diététique, nutraceutique, pharmaceutique et en cosmétique (JOHNSON, 2002).

Dans la présente étude, une attention toute particulière est accordée à la chitine et le chitosane.

1.3.1. La chitine et le chitosane

Chitine et chitosane sont des polymères polysaccharidiques naturels. La chitine, isolée pour la première fois en 1811, est présente dans les parois cellulaires des champignons et des arthropodes. En 1823, Auguste Odier isole le même résidu insoluble et le nomme chitine. Le chitosane, obtenu à partir de la chitine, est soluble en milieu acide et possède des propriétés bioactives et biodégradables. Ces composés sont utilisés dans divers domaines tels que l'agriculture, l'alimentation, la médecine, les biotechnologies, la cosmétique, le traitement des eaux, et les polymères. La chitine et le chitosane ont suscité un grand intérêt scientifique avec plus de 20 000 publications depuis l'an 2000, mettant en lumière leurs multiples applications et propriétés bénéfiques[4].

1.3.2. Définition et structure

La chitine est le deuxième bio-polymère le plus abondant dans la nature après la cellulose. La chitine n'a pas une structure chimique unique mais plusieurs, elle englobe plusieurs polysaccharides composés d'unités de N-acétyl-β-D-glucosamine (de 50% à 100%) et d'unités D-glucosamine (de 0 à 50%).

La chitine est présente dans les coproduits sous forme de complexe chitine-protéines- minéraux (principalement du carbonate de calcium).

Elle est extraite en trois étapes :

- déminéralisation par hydrolyse acide, pour éliminer les minéraux,
- déprotéinisation par hydrolyse basique, pour éliminer les protéines,
- décoloration (ou blanchiment) : étape facultative pour éliminer les pigments.

Entre ces différentes étapes, des opérations de lavage sont nécessaires.

La chitine peut ensuite être désacétylée pour obtenir le chitosane :

- par voie chimique : à haute température par une base concentrée (soude par exemple),
- par voie enzymatique avec la chitine- désacétylase.

La frontière entre chitosane et chitine correspond à un degré de désacétylation (DD) de 60-70% : en-deçà le composé est nommé chitine, au-delà, chitosane. (<http://alpha-chitin.fr/chitine-chitosane>).

Le chitosane est soluble en milieu acide (à pH<6,5) contrairement à la chitine qui est insoluble.

De très nombreux dérivés bioactifs peuvent être obtenus à partir de la chitine et du chitosane par diverses réactions chimiques ou enzymatiques.

La chitine et le chitosane sont biocompatibles, biodégradables et non toxiques permettant ainsi leur utilisation dans des domaines allant de l'agriculture à la médecine.

Le chitosane a l'exceptionnelle particularité d'être chargé positivement (en milieu acide), ce qui lui permet de réagir avec tous les composés biologiques chargés négativement (membranes des muqueuses, parois des bactéries, lipides ...) et de les fixer solidement par liaison ionique. Cette particularité lui confère de très nombreuses propriétés (bio-adhésion, agent filmogène...).

Depuis l'an 2000, la chitine et le chitosane ont fait l'objet de plus de 20 000 publications scientifiques et 50 000 brevets ! Leurs propriétés et applications sont très variées et dépendent de leurs caractéristiques physico-chimiques.

Les chitosanes sont caractérisés par :

- la matière première dont ils sont issus (insecte, crevette, calmar, champignons...)
- leur viscosité ou leur poids moléculaire, leur conformation et longueur de la chaîne moléculaire.
- leur degré de désacétylation,
- leur pureté (grade technique, pur et ultra pur) qui dépend notamment des quantités de cendres et de protéines restantes, de la concentration en substances insolubles (turbidité), en certains métaux lourds, et de la « charge » biologique (bactéries, levures, moisissures...).(Figure I. 5).

1.3.3. Sources de la chitine et du chitosane

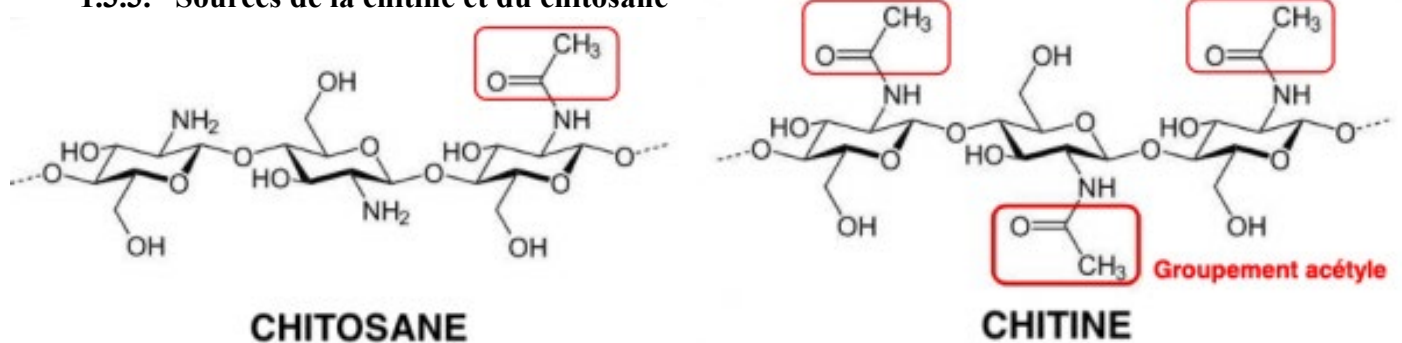


Figure 4: Structure chimique de la chitine et du chitosane (LE ROUX, 2012)

Dans le règne animal, la chitine est un élément structural important des téguments de certains invertébrés. Elle n'existe que sous la forme de complexes avec des protéines et des minéraux. Elle est présente principalement dans les coquilles de mollusques, dans les cuticules des insectes et dans la carapace des crustacés.

Dans le règne végétal, la chitine se trouve dans la paroi de la plupart des champignons et de certaines algues chlorophycées. En plus de son rôle dans le maintien de la rigidité de la cellule, elle contribue au contrôle de la pression osmotique. La chitine est présente aussi dans certaines levures et bactéries.

Bien que les sources potentielles de chitine soient très nombreuses (Tableau 1), elle est essentiellement produite aujourd'hui à partir des carapaces de crevettes.

| Sources | Description |
|--|---|
| Carapaces de crustacés | <p>La source la plus courante de chitine, représentant 90% de la production mondiale</p> <p>https://di.univ-blida.dz/jspui/bitstream/123456789/4894/1/Untitled.pdf</p> <p>https://www.dieti-natura.com/plantes-actifs/chitine.html</p> |
| Carapaces de mollusques | <p>Une source alternative de chitine, utilisée dans la production de chitosane</p> <p>https://www.dieti-natura.com/plantes-actifs/chitine.html</p> |
| Parois cellulaires de champignons et d'algues | <p>Une source de chitine et de chitosane, obtenue par ultrasonication</p> <p>https://new.societechimiquedefrance.fr/produits/chitine-et-chitosane/</p> <p>https://www.hielscher.com/fr/chitin-and-chitosan-production-from-mushrooms.htm</p> |
| Exosquelettes d'arthropodes et d'insectes | <p>Une source de chitine, isolée pour la première fois à partir d'un champignon en 1811</p> <p>https://new.societechimiquedefrance.fr/produits/chitine-echitosane/</p> |
| Résidus de traitement (déchets de champignons) | <p>Une source de chitosane, utilisant des champignons comestibles et médicinaux</p> |

| Sources | Description |
|------------------------------|---|
| | https://www.hielscher.com/fr/chitin-and-chitosan-production-from-mushrooms.htm |
| Chenilles et autres insectes | Une source de chitine, présentant une structure molle |

Tableau 1: Sources potentielles de la chitine

1.3.4. Propriétés de la chitine et du chitosane

a. Degré de N-acétylation

Le terme « chitine » est généralement utilisé pour désigner les amino-polysaccharides qui se composent d'unités de N-acétyl- β -D-glucosamines (NacGlu ou A), à une proportion de 50 à 100 %, et de D-glucosamines (Glu ou D), la fraction incorporée. Selon TOKURA et TAMURA (2007), les unités sont connectées entre elles par des liaisons β (1-4) et les groupements N-acétyles sont attachés au C-2. Si la désacétylation était complète, une chitine parfaite aurait un degré d'acétylation (DA) de 100 %, tandis que le chitosane, son dérivé désacétylé idéal, aurait un DA de 0 % (ou un degré de désacétylation, DD, de 100 %). Dans la nature, il n'y a pas ces deux extrêmes, la forme la plus fréquente est une chitine de DA.

b. Solubilité dans l'acide acétique

La chitine est hydrophobe en raison de sa densité de charge. Ainsi, elle ne se dissout pas dans les solvants traditionnels (LE ROUX, 2012). L'Hexafluoroisoacétone sesquihydrate, l'Hexafluoroisopropanol et l'acide dichloracétique sont des solvants toxiques solubles dans les acides concentrés à chaud. En revanche, ces substances altèrent la composition de la chitine et du chitosane, ce qui constitue un danger pour l'opérateur (HSIAO et al., 2004).

Selon Kasaai (2007), le chitosane peut être soluble dans des solvants acides, en général, les mélanges les plus fréquents sont composés d'acide acétique et d'acétate de sodium.

C. Poids moléculaire

Le chitosane est un polymères qui peut atteindre des poids moléculaires (PM) élevés

,atteignant jusqu'à 1-3 Mda dans le cas des produits obtenus par des processus contrôlés d'extraction et de désacétylation .dans le cas du chitosane commercial pour des applications dans le domaine du traitement des eaux le poids moléculaire est généralement plus faible (compris entre 100 et 500 KDa) .

D. Viscosité

La viscosité du chitosane augmente avec l'augmentation de la solubilité de ce polymère. La solubilité est importante lorsque le DD est important, et donc le nombre de groupements amines libres. Elle dépend donc du DD du Cs.

Le Cs forme des gels avec un certain nombre d'anions multivalents et également avec le glutaraldéhyde (SUHEYLA KAS, 1996).

1.3.5. Les propriétés biologiques

a. Biocompatibilité

La non-toxicité du chitosane a été démontrée chez la souris, le rat et l'humain pour des applications diététiques et cosmétiques . Il est préférable de considérer le dispositif médical lui-même, plutôt que le matériau avec lequel il est fabriqué pour évaluer la réelle biocompatibilité. Effectivement, le même matériau pourra présenter des propriétés différentes et induire des réponses différentes en fonction de sa forme physique (solution, hydrogel, fil, etc.), de la fonctionnalité du dispositif médical et de ses conditions d'implantation.

La cytocompatibilité du chitosane a largement été étudiée, notamment sous différentes formes (solution, hydrogel, film, lyophilisat, etc.) et sur différents types de cellules telles que les fibroblastes , les chondrocytes , les kératinocytes ou les ostéoblastes .

Néanmoins le comportement des cellules au contact d'un matériau à base de chitosane (in vitro ou in vivo) dépend des paramètres structuraux du chitosane , sans oublier la forme du matériau testé.

b. Agent hémostatique

Le chitosane n'altère pas les équilibres osmotiques du sang, les protéines plasmatiques, les éléments figurés du sang et les cellules du tissu vasculaire. Néanmoins, ses interactions avec le sang sont toujours étudiées. Effectivement, bien qu'il n'ait pas été observé de symptômes anormaux après une injection en intraveineuse de chitosanes et d'oligochitosanes, des propriétés hémostatiques et thrombogènes sont décrites dans la littérature .

Une activité hémostatique du chitosane de haute masse a été démontrée . Il a été montré que le chitosane avait la capacité de diminuer de 43 % le temps de saignement du lapin dont la coagulation avait été diminuée par l'administration d'héparine . Le mécanisme de coagulation provoquée par un film de chitosane serait dû à l'agglutination des globules rouges au contact du polysaccharide dont les propriétés poly-cationiques pourraient jouer un rôle important, indépendant de la cascade de coagulation classique .

C. Agent cicatrisant

Il a été largement publié que le chitosane était un matériau de choix pour l'ingénierie tissulaire [2]. En effet, il peut favoriser la prolifération de différents types de cellules (animales et humaines) sans modification de leur phénotype et par conséquent stimuler la production de matrice extracellulaire. Les hydrogels de chitosane ont largement été étudiés et leur capacité de cicatrisation a été démontrée par des études in vivo et in vitro .

Le chitosane a la capacité de stimuler la cicatrisation par l'activation des cellules inflammatoires tels que les macrophages , les polymorphonucléaires (PMN), et également les fibroblastes et les cellules endothéliales [5].

d. Agent antibactérien

Un des nombreux atouts du chitosane dans les applications pharmaceutiques, cosmétiques,

agroalimentaires ou encore dans les dispositifs médicaux est qu'il possède la capacité d'être antibactérien.

Dans la littérature, les chitosanes possèdent une activité aussi bien sur les bactéries à Gram positif (G+) (ex. *Staphylococcus aureus*) que celles à Gram-négatif (G-) (ex. *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*). Les mécanismes ne sont pas encore bien compris et

beaucoup de paramètres (pH, Mw, DA, le type de matériau) peuvent contribuer à l'activité antibactérienne [6]. Quatre mécanismes d'action antibactériens sont proposés dans la

littérature. Le plus accepté est l'interaction ionique entre le chitosane et la membrane

bactérienne engendrant la mort de la cellule. Effectivement, les bactéries à G- possèdent, en globalité, une membrane cellulaire chargée négativement composée de lipopolysaccharides.

En présence de chitosane, chargé positivement, l'interaction chitosane/bactérie provoquerait une déstructuration de sa membrane, puis la fuite de ses composants cellulaires et la mort de la cellule bactérienne .

Néanmoins, le chitosane est également actif sur les bactéries G+ dont la membrane cellulaire est globalement neutre, composée essentiellement de peptidoglycanes. Le deuxième

mécanisme proposé est la liaison du chitosane avec l'ADN microbien qui engendrerait

l'inhibition de la synthèse d'ARNm et de protéines via la pénétration du chitosane dans le noyau des microorganismes [7].

Des observations ont montré que plus la concentration en chitosane était élevée et plus le polymère avait tendance à former un revêtement autour de la bactérie sans nécessairement être attaché à la surface et indépendamment du type de bactérie [8].

1.3.6. Modification de la chitine et du chitosane :

L'une des difficultés majeurs pour la valorisation de la chitine est celle de sa mise en œuvre liée à la difficulté de mise en solution [2.3].c'est pourquoi de nombreux

dérivés ont été préparés comme le chitosane, qui est son dérivé le plus simple et le plus étudié, ou la carboxyméthylchitine, un dérivé synthétique obtenu par modification chimique (Figure 5)

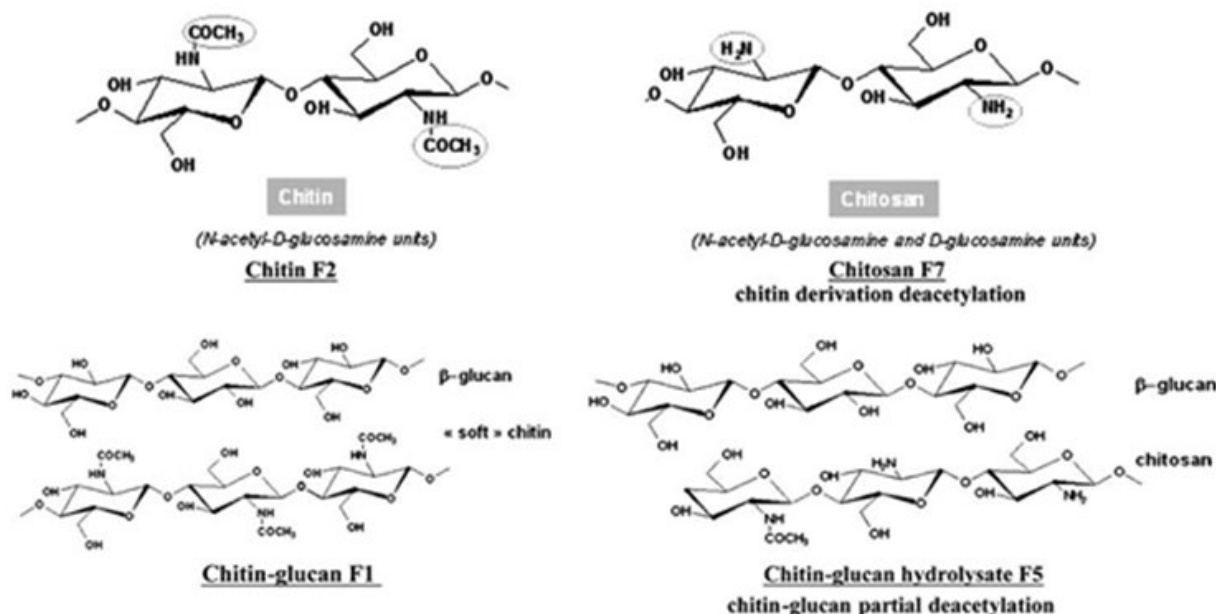


Fig. 1 Chemical structures of chitin, chitosan, chitin glucan, chitin glucan hydrolysate

Figure 5: principaux dérivés de la chitine.

Une caractéristique importante des polysaccharides est, en effet, leur bonne réactivité chimique, due la présence d'un nombre de groupes fonctionnels réactifs (hydroxyle, amine ou acétamide). Ces groupes permettent des réactions de substitution ou de modification chimiques qui donnent de nouveaux polymères et des structures macromoléculaires plus ou moins organisées. Actuellement, la chitine et le chitosane font l'objet de nombreuses études concernant leur dépolymérisation. Cette étape de dépolymérisation qui permet obtenir de nouveaux dérivés, notamment des oligomères, peut se faire par différentes voies (tableau : 01). Le challenge réside alors du contrôle des unités glucosamines (ou acétylglucosamine) formées.

| Voie chimique | Voie physique | Voie enzymatique |
|--|--------------------------------|--|
| Utilisation d'acides (HCl, NHO 3) | Utilisation de radiation (UV,) | Utilisation d'enzymes spécifique |
| Radicaux libres /oxydation (H 2 O 2 , K S O) | Ultrasons | (chitinase,chitosanase) |
| | Micro-ondes | Utilisation d'enzymes non-spécifiques (lipase, protéase, lysosome) |
| | Traitements thermique | |

Tableau 2: les trois principales voies permettant de dépolymérisation des chaines de chitine et de chitosane.

1.4. Chitine et Chitosane :

Quelque exemple de conditionnements du chitosane

La modification chimique du chitosane permet également obtenir des superstructures intéressantes incluant des billes réticulées, des résines modifiées ou ore des matériaux composites. Les méthodes de modification sont classées entre deux la première à consiste greffer le chitosane sur un support insoluble ce minérale ou organique) par greffage chimique ou radiochimique utilise des réactions de réticulation en présence d'agents réticulant. L'étape de réticulation une structure réticulée grâce à utilisation d'agent de pontage qui permettent de chaines entre elles et de créer ainsi un réseau macromoléculaire traditionnels plus ou moins réticulé mais irréversible .les réseaux obtenus se présentent sous la forme de particules dont les propriétés dépendent essentiellement de la densité de la réticulation .les agents réticulant utilisés sont les Diques (formol,glutaraldéhyde)et les agents époxy (épichlorhydrine diglycidyl éther) , mais l'agent le plus employé reste le glutaraldéhyde[9]

Chimique de groupement fonctionnels sur le biopolymères répond à plusieurs objectifs, souvent complémentaires, comme par exemple la modification de la solubilité (les dérivés de la chitine deviennent solubles dans l'eau) ; la modification des hydrophiles /hydrophobes pour apporter un caractère amphiphiles modification des MM et la préparation d'oligomères).Ces modification correspondent à la d'étendre le champ d'application de ces biopolymères .

1.5. Chitine et Chitosane

La modification chimique du chitosane permet également obtenir des superstructures intéressantes incluant des billes réticulées.

Les méthodes de modification sont classées entre deux :

la première à consiste greffer le chitosane sur un support insoluble ce minérale ou organique) par greffage chimique ou radiochimique ; la seconde utilise des réactions de réticulation en présence d'agents réticulant.

L'étape de réticulation une structure réticulée grâce à utilisation d'agent de pontage qui permettent de relier les chaines entre elles et de créer ainsi un réseau macromoléculaire traditionnels plus ou moins réticulé mais irréversible .les réseaux obtenus se présentent sous la forme de particules dont les propriétés la réticulation .les agents réticulant utilisés sont les époxy (épichlorhydrine ,éthylénglycol groupement fonctionnels sur le biopolymères répond à plusieurs objectifs, souvent complémentaires, comme par exemple la modification de la ; la modification des hydrophiles

/hydrophobes pour apporter un caractère amphiphiles ; la modification des MM et la préparation d'oligomères). Ces modifications correspondent à la Les propriétés particulières du chitosane Sont liées essentiellement à la présence de la fonction amine portée par le carbone 2.

Elles sont de deux types :

A pH acide, ou il est soluble, le chitose porte de nombreuses charges positives. Il est donc un bon agent de floculation et un bon agent de coagulation [10]. Il peut interagir avec des molécules chargées négativement (par exemple acide gras, protéines et argiles)

(Fang et al .2001) et former ainsi des complexes polyanion- polycation , cette propriété lui ouvre de multiples applications notamment en dermo- cosmétologie : elle permet d'interagir de façon très intime avec les Kératines de la peau et ainsi former un film à la surface de celle-ci .

à pH (> 6,5) le chitosane perd ses charges positives, le doublet électronique de l'azote est libre, ces doublets libres et présence de nombreux atomes d'oxygène dans le chitosane lui permettent de se comporter comme un excellent complexant, en particulier des métaux lourds, il est donc utilisé pour la purification de l'eau, Par exemple pour la récupération de métaux dans les effluents industriels. La chitine est hydrolysée par les lysozymes ce qui n'est pas le cas de chitosane, celui-ci peut alors transiter sans adsorption dans tout l'appareil digestif, il est donc utilisé comme ballast pour le transit intestinal et pour son activité hypocholestérolémiante.

1.6. L'importance du degré désacétylation

Pour obtenir le degré désacétylation total, il conviendrait de procéder à une série de traitements successifs avec le risque de voir diminuer de manière dramatique la MM du polymère. Une autre possibilité est d'opérer en conditions contrôlées limitant les mécanismes d'oxydation. Ceci restreint l'utilisation à la synthèse de chitosane pour des applications très spécifiques à forte valeur ajoutée dans les domaines biomédical ,pharmaceutique ou cosmétique .Hors de ces applications spécifiques ,l'utilisateur recherche du chitosane à moindre coût avec comme corollaire une désacétylation incomplète.

Le paramètre DD est extrêmement important car il influence les propriétés des chaînes macromoléculaires des polymères et leur comportement en solution , à savoir :

- La solubilité de chitosane
- La flexibilité des chaînes macromoléculaires
- La conformation du polymère

- Et donc la viscosité des solutions

Le DD peut être déterminé par analyse d'élimination (analyse du % d'azote) par titrages

Potentiométriques ou conductimétriques, par diffraction de RX, par spectrophotométries infrarouge à transformée de Fourier et UV, ou encore par résonance magnétique nucléaire

(RMN) liquide ou solide (essentiellement proton ^1H et carbone ^{13}C , azote ^{15}N). La technique d'infrarouge est la plus adaptée pour une caractérisation rapide et simple, et la technique RMN la plus précise, dès lors que le polymère est parfaitement soluble dans l'eau deutériée en présence d'acide chlorhydrique.

1.7. Conditionnement des matériaux

La solubilité du chitosane en milieu d'acide permet de décliner le chitosane sous différentes formes comme indique dans la figure : 2. Cependant, la neutre physique du matériau dépend en générale de son utilisation (tableau 2).

Le chitosane sera ainsi utilisé :

- a) sous forme liquide dans des formulations de principes actifs thérapeutiques ou de facteurs de croissance.
- b) sous forme de particules (microsphères, nanoparticules) pour préparer des médicaments ou immobiliser des enzymes,
- c) sous forme de fibres pour préparer des tissus biologiques
- d) sous forme semi-solides (hydrogels) pour préparer des crèmes
- e) ou encore sous forme d'objets façonnés (lentilles de contact ou prothèses Orthopédique)

Voici un tableau résumant les principales applications potentielles de la chitine et du chitosane:

| Domaine | Applications |
|------------|--|
| Biomédical | Pansements, sutures et prothèses grâce à leur biocompatibilité et propriétés cicatrisantes. Vecteurs de médicaments et d'agents thérapeutiques grâce à leur biodégradabilité. |
| Cosmétique | Ingrédients dans les crèmes, lotions et shampooings pour leurs propriétés hydratantes, revitalisantes et antifongiques |

| | |
|---------------------|--|
| Alimentaire | Agent épaississant, stabilisant et floculant. Enrobage comestible pour les aliments. |
| Traitement des eaux | Agent coagulant et floculant pour éliminer les matières en suspension, les huiles et les métaux lourds des eaux usées. |
| Textile | Fibres antibactériennes et anti-odeurs lorsque mélangé à d'autres textiles comme le coton ou la soie. |
| Agricole | Stimulant de croissance pour les plantes. |
| Autres | Papier et encre. Membranes de séparation. Adsorbant pour la purification de l'air. |

Tableau 3: Usage potentiel pour plusieurs formes de chitine Et de chitosane

1.8. La plaie et la cicatrisation

Une plaie est définie par la Société de Cicatrisation des Plaies (Wound Healing Society, woundheal.org) comme une interruption anormale de la structure anatomique et physiologique d'un tissu ; elle représente un danger pour les barrières naturelles de défense en rendant les tissus plus accessibles à l'invasion par les microorganismes. Les plaies peuvent être classées en deux catégories qui sont basées sur la nature du procédé de réparation : plaies aiguës ou chroniques [10].

La cicatrisation, quant à elle est définie par la Société de Cicatrisation des Plaies comme un procédé dynamique complexe dont le résultat est la restauration des fonctions et de la continuité anatomique du tissu. Il s'agit d'un procédé physiologique impliquant une série d'étapes qui se chevauchent. Il y a entre 3 et 5 étapes de cicatrisation des plaies. La première étape, l'hémostase, intervient immédiatement après la blessure et dure généralement quelques heures. La seconde étape, l'inflammation, commence rapidement après le début de l'hémostase et se termine entre 24 et 72 h après la blessure. La prolifération et la réparation des tissus correspondent à la troisième étape. Celle-ci s'achève 1 à 3 semaines après la blessure. La quatrième et dernière étape est le remodelage des tissus. Elle commence approximativement 3 semaines après la blessure et peut prendre plusieurs mois voire années pour atteindre l'achèvement physiologique. De plus, il est important de noter que bien que la peau soit reconstruite dans les jours ou semaines qui ont suivi la blessure, elle reste vulnérable aux dommages qu'elle subit jusqu'à la dernière étape de cicatrisation des plaies [9]. Enfin, il est conseillé de respecter l'écosystème bactérien de la plaie. Les antiseptiques ne doivent pas être utilisés de manière systématique et il est souvent préférable d'éviter les antibiotiques [3].

Les mécanismes de la cicatrisation sont davantage développés en Annexe 1. Leur connaissance permet d'établir la structure des pansements et les propriétés attendues des dispositifs médicaux destinés à la cicatrisation des plaies. Les pansements « conventionnels » Les pansements conventionnels incluent la laine de coton, les bandes naturelles ou synthétiques et les compresses de gaze vaselinées ou non. Ils sont secs et ont comme principale fonction le rôle de barrière. Ils permettent de garder une plaie sèche en absorbant l'exsudat de la blessure tout en limitant l'accès d'organismes pathogènes [5].

1.9. Les bandages

Les bandages peuvent être fabriqués à partir de matériaux naturels (ex. laine de coton ou cellulose) ou synthétiques (ex. polyamides) qui contribuent à différentes fonctions. Par exemples les bandages conventionnels en coton sont utilisés pour la rétention de petites plaies alors que les bandages à forte capacité de compressions sont d'avantage utilisés dans le traitement d'insuffisance du retour veineux.[11]

1.9.1. Les compresses de gaze

Les compresses de gaze sont faites à partir de fibres de coton tissées ou non tissées, de polyesters synthétiques ou de l'association de ces deux composants. Malgré l'arrivée de matériaux plus modernes, les compresses de gaze restent d'actualité pour diverses raisons [6]. Elles sont notamment utilisées sur les plaies ouvertes pour drainer l'exsudat de la plaie. Elles ont l'avantage d'être moins chères que les pansements plus modernes. Néanmoins, les compresses de gaze ont besoin d'être changées régulièrement afin d'éviter toute macération des tissus sous-jacents. De plus, bien qu'elles puissent fournir une certaine protection bactérienne, cette fonction est perdue à partir du moment où la surface extérieure de la compresse est mouillée par l'exsudat de la plaie ou toute autre substance extérieure.

Les pansements conventionnels sont surtout utilisés pour les plaies propres et sèches ou comme pansements secondaires pour protéger la plaie. Concernant les plaies chroniques et les brûlures, les compresses conventionnelles ont été largement remplacées par des matériaux plus modernes. Ces derniers sont plus adaptés pour protéger le lit de cicatrisation tout en apportant un environnement humide davantage favorable à la cicatrisation [12].

1.10. Les pansements « modernes »

Les pansements modernes ont pour principale caractéristique de créer et maintenir un environnement humide autour de la plaie pour faciliter sa cicatrisation. Ils sont principalement classés en fonction du matériau à partir duquel ils sont produits.

1.11. Les pansements hydrocolloïdes

Les pansements hydrocolloïdes sont les plus largement utilisés. Le terme « hydrocolloïdes » décrit la famille des pansements obtenus à partir de « matériaux colloïdaux » (agents gélifiants) combinés avec d'autres matériaux tels que des élastomères et des adhésifs. Les agents gélifiants fréquemment utilisés sont des carboxyméthylcelluloses (CMC), des gélatines et des pectines [13]. Ils existent sous forme de plaques adhésives de tailles, d'épaisseurs variables et de différentes formes anatomiques (pour le sacrum, le talon, le coude...), de poudres ou de pâtes [4]. Les plaques sont semi-perméables ou occlusives dont certaines autorisent les échanges gazeux. Elles sont imperméables aux liquides et aux bactéries. Les pâtes permettent d'atteindre des zones anfractueuses de la plaie. Les poudres quant à elles renforcent le pouvoir absorbant des plaques [6].

Les pansements hydrocolloïdes sont souvent utilisés puisqu'ils adhèrent aussi bien sur un site sec que mouillé, contrairement aux autres textiles [14]. Lorsque les hydrocolloïdes absorbent l'exsudat de la plaie, ils changent d'état physique et forment un hydrogel. Ce dernier devient alors progressivement perméable à l'air, assurant les échanges gazeux [15]. Les compresses hydrocolloïdes présentent généralement une couche extérieure occlusive qui prévient des échanges de vapeur d'eau entre la plaie et le milieu extérieur maintenant ainsi un milieu humide, chaud et de pH favorable à la cicatrisation.

1.12. Les pansements hydrogels

Les pansements hydrogels sont un autre exemple de pansements « modernes ». Ce sont des matériaux hydrophiles gonflés. Dans le domaine des textiles destinés à la cicatrisation tissulaire, ils sont souvent fabriqués à partir de polymères synthétiques comme des polyméthacrylates et des polyvinylpyrrolidones. Les pansements hydrogels existent sous forme de plaques, de compresses imprégnées et de gels. Dans le cas des dispositifs médicaux, ce sont généralement des polymères réticulés qui peuvent absorber et retenir l'eau. Un pansement hydrogel nécessite souvent d'être recouvert par une seconde couche de protection comme une gaze, il a besoin d'être changé régulièrement et peut être utilisé comme dispositif de première ou de seconde intention. Comme ils contiennent un taux important d'eau (> 50 %), ils sont plutôt utilisés pour humidifier les plaies non exsudatives [4]. Leur utilisation sur des plaies exsudatives est déconseillée car leur fort taux d'humidité ne leur permet pas d'avoir une forte capacité d'absorption. L'accumulation de fluide dans la plaie pourrait alors conduire à la macération de la peau et à une prolifération bactérienne pouvant engendrer une surinfection de la plaie voire une septicémie [6].

Néanmoins, l'hydrogel est la forme groupant le plus de caractéristiques désirées dans le design d'une « compresse idéale ». Cette forme est adaptée pour le nettoyage des plaies sèches ou nécrosées en réhydratant les tissus morts. La plupart des textiles en hydrogels sont non-réactifs avec les tissus biologiques, perméables aux métabolites et non-irritants . Ils procurent un environnement humide, favorable à la cicatrisation. Ils sont aussi non-adhérents aux plaies engendrant une réduction de la douleur et ont par conséquent une haute acceptabilité par le patient. De plus, les pansements hydrogels ne laissent pas de résidus de fibres sur la plaie, ils sont malléables et augmentent la ré-épithélialisation de la blessure [6].

1.13. Les pansements de carboxyméthylcellulose (CMC, dites aussi hydrofibres)

Ces pansements sont composés majoritairement (> 50 %) de fibres non tissées de carboxyméthylcellulose (CMC) pure. Ils existent sous forme de compresses ou de mèches.

Une seule gamme de pansement est vendue sur le marché français : Aquacel® du laboratoire

Convatec. Ces fibres présentent l'avantage de se transformer au contact des exsudats en gel cohésif. Elles sont caractérisées par leur forte capacité d'absorption et de rétention qui permet d'éviter une macération au niveau de la plaie. Le gel obtenu s'adapte parfaitement au lit de la plaie ne laissant pas d'espaces vides qui sont des foyers potentiels de colonisations microbiennes. Le laboratoire Convatec revendique également un pouvoir de séquestration bactérienne permettant de limiter la prolifération bactérienne au niveau de la plaie. De plus, cette transformation en gel apporte un environnement humide à la plaie, favorable à la cicatrisation.

1.14. Les pansements 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 (absence de migration de la substance imprégnée ou enduite), afin de limiter le traumatisme et la douleur lors du retrait de pansement.

Les interfaces sont recommandées par la Haute Autorité de Santé (HAS) pour des plaies chroniques aux phases de bourgeonnement et d'épidermisation ainsi que pour les plaies aiguës en phase d'épidermisation lors d'un traitement séquentiel. La HAS recommande aussi leur utilisation dans les cas spécifiques de peau fragile telles que les lésions bulleuses [14].

1.15. Les pansements hydrocellulaires

Les pansements hydrocellulaires sont constitués de polymères absorbants (généralement en mousse polyuréthane). Ils existent sous forme de plaques adhésives ou non avec des tailles et des

épaisseurs variables, de différentes formes anatomiques (talon, sacrum, coude...) et de formes adaptées au remplissage des plaies cavitaires (coussinets sphériques ou tubulaires). Les pansements hydrocellulaires sont utilisés pour leur capacité à maintenir un environnement humide au niveau de la plaie. Ils absorbent l'exsudat au sein de leur structure, sont perméables aux échanges gazeux mais imperméables aux bactéries. Ils existent sous différentes épaisseurs permettant différents niveaux d'absorption [15].

Les pansements hydrocellulaires sont recommandés par la Haute Autorité de Santé (HAS) pour le traitement séquentiel des plaies chroniques lors de la phase de bourgeonnement mais aussi pour le traitement des plaies aiguës, sans distinction de phase cicatricielle [6].

1.16. Utilisation conseillée par la HAS des différents pansements

En France, certaines plaies, chroniques ou aiguës, ouvrent droit au remboursement des pansements inscrits sur la liste des produits et prestations remboursables. Les « pansements et articles pour pansements » comprennent d'une part les pansements primaires, placés au contact direct de la plaie, et d'autre part, les pansements secondaires incluant les compresses et les matériels de fixation et de maintien. Ceux-ci ont été évalués par la Commission nationale d'évaluation des dispositifs médicaux et technologies de santé de la Haute Autorité de Santé (HAS). A la suite de ce rapport, la nomenclature des pansements remboursables a été modifiée (arrêté du 16 juillet 2010, paru au J.O. du 7 août 2010). La HAS a émis une classification des pansements recommandés dans chaque indication dans le but de fournir des outils pour orienter les choix des professionnels de santé, une cicatrisation plus rapide.

1.17. Idée de conception d'un textile innovant pour la cicatrisation :

La présente invention concerne un pansement pour la protection et la cicatrisation de lésions du type plaies chroniques et notamment d'escarres. Elle concerne également un procédé de préparation d'un tel pansement.

Les lésions du type plaies chroniques sont des lésions en profondeur qui touchent à la fois l'épiderme et le derme et qui sont généralement dues à une ischémie entraînant une nécrose plus ou moins localisée, due à l'interruption de l'irrigation sanguine. Parmi ce type de lésions, on note plus particulièrement les escarres qui sont des plaies pouvant être très profondes et de grandes dimensions. Les escarres peuvent notamment se produire chez des patients alités, par écrasement localisé des vaisseaux. Le derme, n'étant plus irrigué, se nécrose jusqu'à élimination complète des tissus de l'intérieur vers l'extérieur ce qui crée des cratères pouvant prendre de grandes proportions.

En dehors des escarres proprement dites, on fait rentrer également dans les lésions du type plaies chroniques les ulcères cutanés, les brûlures au premier et au deuxième degrés superficiels et profonds et troisième degré, les dermabrasions ainsi que les pertes de substances cutanées. Pour le traitement de telles lésions, on a déjà proposé un grand nombre de pansements qui ont pour

première fonction de protéger la lésion du milieu extérieur et qui peuvent avoir comme seconde fonction d'améliorer le processus de cicatrisation.

On utilise également le chitosane qui est une chitine totalement ou en grande partie désacétylée. , il est décrit un biomatériau à base d'un mélange de collagène , de chitosane et de glycosaminoglycane ; il s'agit dans ce cas d'un chitosane acétylé avec un degré d'acétylation compris entre environ 10 et 40%. Cependant, selon le demandeur , les pansements déjà connus à base de chitine ou éventuellement de chitosane ne donnent pas entièrement satisfaction, notamment lorsqu'il s'agit de les appliquer sur des lésions du type plaies chroniques et particulièrement des escarres.

Le but que s'est fixé le demandeur est de proposer un pansement qui non seulement protège la lésion et favorise la cicatrisation mais également accélère le processus de reconstruction cellulaire du derme et la reformation de l'épiderme jusqu'à l'épithélialisation, tout en limitant les risques d'hyper-bourgeonnement.

Ce but est parfaitement atteint par le pansement de l'invention. De manière connue il s'agit d'un pansement pour la protection et la cicatrisation de lésions du type plaies chroniques, notamment d'escarres. De manière caractéristique ce pansement est constitué d'un gel macroscopique de chitine ou de chitosane acétylé avec un degré d'acétylation d'au moins 60%.

Le chitosane marin est intégré dans les pansements innovants de plusieurs façons pour optimiser ses propriétés bénéfiques pour la cicatrisation:

Utilisation de gels macroscopiques de chitosane acétylé :

Un pansement innovant a été développé, constitué d'un gel macroscopique de chitosane acétylé avec un degré d'acétylation d'au moins 60%. Cette forme de gel, contrairement aux formes plus classiques de chitine ou chitosane, permettrait d'atteindre des résultats optimaux en termes de cicatrisation:

- Accélération significative du processus de cicatrisation, avec une épithélialisation complète en seulement 8 jours dans certains cas
- Reformation rapide du derme et de l'épiderme
- Limitation des risques d'hyper-bourgeonnement

Incorporation de nano fibres de chitosane :

Une autre approche innovante est l'utilisation de nano fibres de chitosane pour la conception de pansements. La société Nano Médical a développé une technologie brevetée permettant la fabrication industrielle de ces nano fibres.

Les principaux avantages de ces pansements à base de nanofibres de chitosane sont:

- L'accélération de la cicatrisation grâce aux propriétés bioactives du chitosane
- La protection de la plaie contre la contamination grâce à la nano-structure
- La création d'une structure naturelle favorable à la prolifération cellulaire et la cicatrisation.

Avantages des pansements à base de nanofibres de chitosane par rapport aux pansements traditionnels :

- Surface spécifique élevée : Les nanofibres ont un rapport surface/volume important, ce qui favorise une meilleure interaction avec les cellules et les facteurs de croissance, stimulant ainsi la cicatrisation.
- Propriétés antibactériennes : Le chitosane possède des propriétés antimicrobiennes intrinsèques, réduisant le risque d'infection, ce qui est crucial pour le traitement des plaies.
- Porosité et structure tridimensionnelle : La porosité des nanofibres permet une meilleure circulation de l'air et de l'humidité, créant un environnement propice à la guérison tout en évitant l'accumulation de fluides.
- Libération contrôlée de médicaments : Les pansements à base de nanofibres peuvent être conçus pour libérer progressivement des agents thérapeutiques, tels que des antibiotiques ou des facteurs de croissance, améliorant ainsi l'efficacité du traitement.
- Biocompatibilité et biodégradabilité : Le chitosane est un biopolymère naturel, ce qui le rend compatible avec les tissus humains et biodégradable, minimisant les risques de réactions indésirables.
- Facilité de fabrication : Les techniques modernes comme l'électrofilage permettent de produire des nanofibres de manière efficace et à grande échelle, ce qui peut réduire les coûts de production par rapport aux pansements traditionnels[6].

Matériel

Et méthodes

Matériel et méthodes

1.18. INTRODUCTION

Ce chapitre se concentre sur les matériaux utilisés et les méthodes expérimentales mises en œuvre pour élaborer et caractériser ces pansements. Nous aborderons les techniques d'extraction du chitosane, les procédés de formulation des pansements, ainsi que les méthodes d'évaluation de leurs propriétés physico-chimiques et biologiques. L'objectif est de fournir une compréhension approfondie des étapes nécessaires à la création de pansements efficaces, en mettant en lumière l'importance du chitosane marin dans le domaine de la santé.[4].

Objectifs du Chapitre

1. Extraire et purifier le chitosane à partir de carapaces de crevettes marines en poudre optimiser les étapes de déminéralisation, de déprotéinisation et de désacétylation.
2. Formuler des pansements cicatrisants à base de chitosane en utilisant différentes techniques de préparation, telles que le mélange et le séchage, pour obtenir des films ou des gels.
3. Caractériser les propriétés physico-chimiques des pansements élaborés, notamment la solubilité, la cristallinité et la morphologie, à l'aide de techniques d'analyse comme la spectroscopie infrarouge (IR) et la microscopie électronique à balayage (MEB).
4. Évaluer les propriétés biologiques des pansements, en mettant l'accent sur leur activité antimicrobienne et leur biocompatibilité, à travers des tests *in vitro*.
5. Comparer les performances des différentes formulations de pansements afin d'identifier les compositions les plus efficaces pour favoriser la cicatrisation des plaies.
6. Établir des protocoles normalisés pour l'extraction du chitosane et la préparation des pansements, garantissant ainsi la reproductibilité des résultats.
7. Identifier les paramètres clés qui influencent les propriétés des pansements, tels que le degré de désacétylation du chitosane, la concentration des agents de réticulation, et les conditions de séchage.
8. Corréler les propriétés physico-chimiques des pansements avec leurs performances biologiques, afin de mieux comprendre les mécanismes implicites dans la cicatrisation des plaies.

Matériel

1.18.1. Matériel biologique

Le matériel biologique utilisé durant cette étude est :

- Carapaces de crevettes de l'espèce *Parapenæus longirostris*. [1].

1.18.2. Matériel non-biologique

Les différents appareils et réactifs qui ont été utilisés durant cette étude sont cités dans le tableau ci-dessous :

Tableau 4: Appareils et réactifs utilisés durant cette étude.

| Appareils | Réactifs |
|---|--|
| -Agitateur magnétique chauffant (IKA® WERKA RCT basic). | Acide chloridrique (HCL) |
| - Agitateur magnétique chauffant (Fisherbrand™ LAB-MIX 35). | - Acide Acétique. |
| - Agitateur magnétique à 6 postes. (LABINCO BV). | - Acide sulfurique. |
| - Agitateur BIOBLOCK SCIENTIFIC. | - Acétone. |
| - Appareil BRUKER RMN. | - BHIB (Bouillon cœur-cervelle). |
| - Balance de précision (SHIMADZU AUW220D UNIBLOC). | - BCYE (Legionella GrowthSupplement). |
| - Balance de précision (KERN ABS220-4N). | - Cristaux de Phénol. |
| - Bêchers (25 ml, 50 ml, 100 ml, 2L). | - Ethanol. |
| - Boîtes de Pétri. | - Ether diéthylique. |
| - Ballons (250ml, 2L.) | - Eau distillée. |
| - Bec bunsen. | - Eau physiologique. |
| - Bacs en inox. | - Eau du robinet. |
| - Barreaux magnétiques. | - Glycérol. |
| - Chauffe ballons (Benstead Electro thermal). | - Gel de silice. |
| - Creusets en porcelaine. | - GVPC (Legionella SelectiveSupplement). |
| - Congélateur. | - Hypochlorite de sodium. |
| | - Kit d'agglutination Legionella Latex Test. |
| | - Legionella CYE agar base. |
| | - NaOH (Hydroxyde de Sodium). |
| | - Réactif de Bradford. |
| | - Saccharose. |

- Ciseaux.
- Cuves de spectrophotométrie en quartz.
- Cuves de spectrophotométrie usage unique.
- Cartouches en cellulose.
- Densimètre.
- Dispositif de Soxhlet (huberminichiller).
- Dessiccateur.
- Disques pour antibiogrammes.
- Etuve (MEMMERT UM 600).
- Evapoconcentrateur (IGOUD).
- Eprouvettes graduées (10ml,50ml, 100ml).
- Erlenmeyer 2L.
- Evaporateur rotatif (Ika HB10).
- Ecouvillons.
- Entonnoirs en plastique et en verre.
- Four à moufle (wise therm).
- Fioles jaugés (10ml, 50 ml,100ml,500ml,1L).
- Filtres seringues (0.45 μ m)
- Flacons en verre 1L. (PYREX).
- Flacons stériles à usage unique en PET 1L.
- Incubateur (NEW BRUNSWICK SCIENTIFIC G24).
- Mixeur.
- Micropipettes et cônes stériles. (2-20 μ l) (20-100 μ l) (100-1000 μ l).
- Mortier.
- Membranes de filtration (de0.45 μ m.)
- Portoirs.
- Passoire.
- Pipettes Pasteur.
- Papier absorbant.
- Papier wattman.
- PH mètre (inoLab).

- TiO₂ (Titanium dioxide).

- Pincettes métalliques.
- Pissettes.
- Rampe de filtration à 6 postes.
- Spatules.
- Spectrophotomètre UV-Visible (Shimadzu UV1800).
- Tamis de 200µm.
- Tubes à essais.
- Thermomètres.
- Seringues.
- Viscosimètre numérique de la série NDJ-5S.

1.19. Co-produits de crevette :

1.19.1. Les sources de la carapace

Les déchets de crevettes (céphalothorax + carapace de l'abdomen) qui vont servir de matière première pour l'isolement de la chitine, j'ai récolté de plusieurs sources différentes: trois restaurants (Dely Ibrahim (Figure 1), Ben Aknoun et Bab Ezzouar). Les crevettes ont été généralement pêchées dans la zone algérienne.



Figure 6: Restaurant Dalia Dely Ibrahim, ALGER

1.19.2. Récolte de la matière première

La récolte de la matière première (carapaces fraîches de crevettes) s'est faite : la fin mars 2024, au niveau de la pêcherie d'Alger. L'identification de l'espèce a été effectuée au niveau du laboratoire LBCM au niveau de l'ENSSMAL avec la contribution de madame SELMA.



Figure 7: pêcherie d'Alger

1.19.3. Prétraitement des carapaces :

La quantité des déchets récupérés a subi un prétraitement par lavage puis robinet et eau distiller pour éliminer certains déchets (liquide jaune, le sang, les débris épi cuticule).

Après lavage, les carapaces sont conservées dans des sacs en plastique dans le congélateur à 20°C.



A. Lyophilisation :

La lyophilisation est reconnue comme étant la méthode de séchage la plus efficace au monde. Elle permet d'éliminer, par un procédé physique appelé sublimation, presque la totalité de l'eau (sauf l'eau intracellulaire) contenue dans la matière sans abîmer ses caractéristiques physico-chimiques (figure: 3).

Les carapaces de crevette, déjà congelées, sont mises dans des sachets, et placées dans les étagères du lyophilisateur. Une fois la cloche posée, une pompe sous vide va aspirer la totalité de l'eau et de ce fait un vide très puissant va se créer, transformant ainsi la glace contenue dans les carapaces en une forme gazeuse sans passer à l'état liquide (sublimation).[15].



Séchage de la matière première



Broyage de la matière première

1.20. Détermination de la composition biochimique globale des coproduits des crustacés

1.20.1. Détermination de la teneur en eau

La teneur en eau est définie par le rapport du poids de l'eau dans l'échantillon en fonction du poids de la matière sèche après l'élimination de toute la quantité d'eau présente initialement, suite à un séchage dans une étuve à 105°C pendant 24h (jusqu'à poids constant). (AOAC,1980).

Mode opératoire :

- Peser le creuset vide ;
- Peser 2g d'échantillon dans le creuset et noter le poids total ;
- Mettre le creuset dans l'étuve à 105°C ;

- Après que les 24h se soient écoulées, retirer le creuset et le laisser refroidir dans un dessiccateur ;
- Effectuer la pesé finale.

Le taux l'humidité est calculé selon la formule suivante :

Avec : $((m_0 - m_1) / m_2) \times 100$

M0 : Le poids du creuset vide

M1 : Poids du creuset avec l'échantillon avant étuvage à 105°C

M2 : Poids du creuset avec l'échantillon après étuvage à 105°C

1.20.2. Détermination de la teneur totale en matière minérale

La teneur en matière minérale a été déterminée par incinération au four à moufle, La poudre de carapaces de crevettes a été placée à 600°C pendant 4h (AOAC, 1999). Des cendres sont

Formées après épuisement de la matière organique [16].

Mode opératoire :

- Peser un creuset vide dans une balance à précision ;
- Peser 2g de poudre de crevettes dans le creuset vide ;
- Placer le creuset dans un four à moufle à 600°C, pendant 4h ;
- Placer le creuset dans un dessiccateur pour refroidir sans que les cendres ne se ré humidifient ;
- Repeser le creuset avec l'échantillon après refroidissement.

La teneur en minéraux est déterminée selon la formule suivante :

Avec : $(C) = ((M_1 - M_0) / (M_2 - M_0)) \times 100$

C (%) : La teneur totale en minéraux exprimée en pourcentage ;

M0 : La masse du creuset vide en g ;

M1 : La masse du creuset et de l'échantillon avant incinération en g ;

M2 : La masse en g du creuset avec les cendres.

1.20.3. Détermination de la teneur en lipides totaux

La détermination de la teneur en lipides totaux est effectuée grâce à l'extracteur de Soxhlet

(Figure 8). Pour se faire, une quantité déterminée de poudre de carapaces est placée dans la cartouche de cellulose, cette dernière est disposée au niveau de la chambre d'extraction. Puis une quantité de solvant est versée dans la chambre de stockage (le ballon) qui sera porté à ébullition,

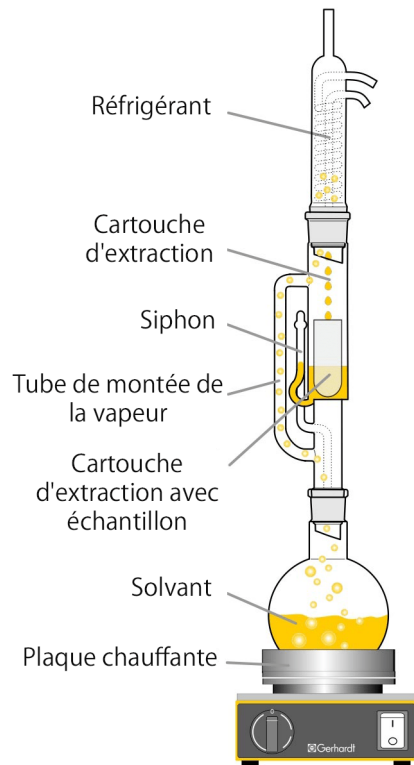


Figure 8: Extracteur de Soxhlet

celui-ci va s'évaporer et se condenser au niveau du réfrigérant pour se rediriger vers la chambre de stockage, en passant par la chambre d'extraction à travers les parois de la cartouche en cellulose, ce qui va solubiliser les composés lipidiques qui vont être vidangés en même temps que le solvant vers le ballon. [17].Ce cycle va se répéter jusqu'à l'extraction complète de tous les composés lipidiques (EL HOUDA, 2017).Pour déterminer la teneur il suffira d'effectuer une pesée du ballon (chambre de stockage) avant et après extraction puis de calculer le pourcentage de la masse obtenue en fonction de la masse initiale.

Mode opératoire

- Mettre en marche le réfrigérant à 2°C .
- Peser le ballon vide avant extraction .
- Dans une cartouche de cellulose peser 2g de poudre de carapaces de crevettes .

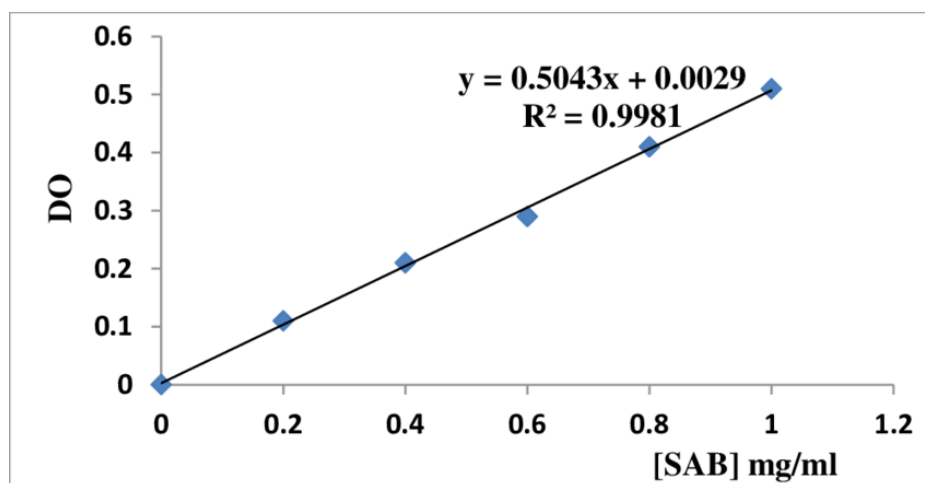
- Placer la cartouche dans la chambre d'extraction .
- Prévoir un blanc qui ne contiendra que le solvant (pour confirmer l'absence de composés lipidique dans celui-ci .
- Ajouter 160 ml d'éther éthylique .
- Préchauffer le ballon à 100°C pour porter le solvant à ébullition, une fois fait abaisser sa température à 60°C pendant 4 heures .
- Une fois le temps écoulé le ballon est placé dans un rota-vapeur à 60°C afin de concentrer les lipides obtenus en éliminant le solvant .

Chambre de stockage,(Ballon) ,Réfrigérant ,Chambre d'extraction (Matra) ,Plaque chauffante ,Cartouche en cellulose.

1.20.4. Détermination de la teneur en protéines totales

La teneur en protéines a été déterminée par dosage colorimétrique, selon la méthode de

Biuret, les liaisons peptidiques réagissent avec les ions cuivriques (provenant du sulfate de cuivre, un réactif de la réaction) et forment un complexe de coloration bleu-violacée en milieu alcalin.



Figures (8-1) : Courbe de la teneur en protéines totales

Mode opératoire :

- Préparer une série de tubes énumérés.

- Préparer une solution mère de BSA à 1 % .
- Dissoudre l'échantillon (poudre de carapaces de crevettes) dans un volume déterminé d'eau distillée .
- Ajouter dans les tubes des volumes graduels de solution de BSA .
- Compléter avec de l'eau distillée jusqu'à volume final constant et bien mélanger .
- Ajouter 1 ml de solution de NAOH .
- Ajouter un volume déterminé du réactif de Biuret .
- Incuber à température ambiante de 30 à 90min .
- Prélever une partie de la solution contenue dans les tubes à essais afin de remplir la cuvette photospectrométrique aux trois quarts .
- Mesurer l'absorbance à la longueur d'onde de 545 nm.

Lecture :

Les valeurs obtenues permettent de tracer la courbe d'étalonnage des absorbances en fonction des concentrations en protéines, $A = f \text{ protéines}$

Détermination de la teneur en sucres totaux (méthode DUBOIS modifiée).

La teneur en sucres totaux a été déterminée par dosage colorimétrique, les sucres et leurs dérivés méthylés réagissent avec le phénol et l'acide sulfurique concentré pour donner un produit de coloration jaune orangé stable pendant plusieurs heures (DUBOIS et aln1956).

Mode opératoire :

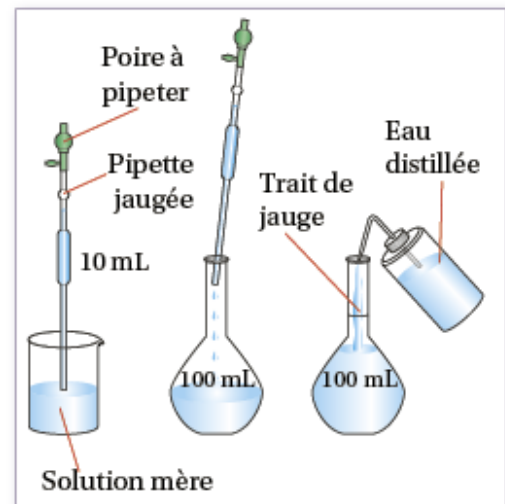
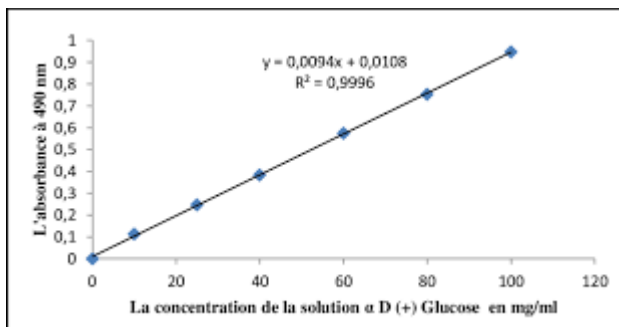
- Préparer une série de tubes énumérés ;
- Dissoudre l'échantillon de poudre de carapaces de crevettes dans de l'eau distillée.
- Ajouter des volumes graduels de solution de saccharose ;
- Compléter avec de l'eau distillée jusqu'à l'obtention d'un volume final constant ;
- Ajouter une solution de phénol à 80 % ;
- Ajouter de l'acide sulfurique à 95% massique ;

- Laisser les tubes au repos 10 minutes, puis agiter et placer pendant 10 à 20 minutes à une température de 30°C ;
- Prélever une partie de la solution contenue dans les tubes à essais afin de remplir la cuvette photospectrométrique aux trois quarts ;
- Mesurer l'absorbance à la longueur d'onde de 490 nm.

Lecture :

Les valeurs obtenues permettent de tracer la courbe d'étalonnage des absorbances en fonction des concentrations en sucres, $A = f[\text{sucres totaux}]$.

Courbe d'étalonnage des sucres totaux



Extraction du chitosane

L'extraction du chitosane a été réalisée sur la base de synthèse des protocoles décrits dans la littérature et les conditions optimums de production déterminées après plusieurs essais, conciliants rendements d'extraction et qualité du chitosane produit (EATON et al., 2008, LIU et al., 2020, TRUONG et al., 2007).

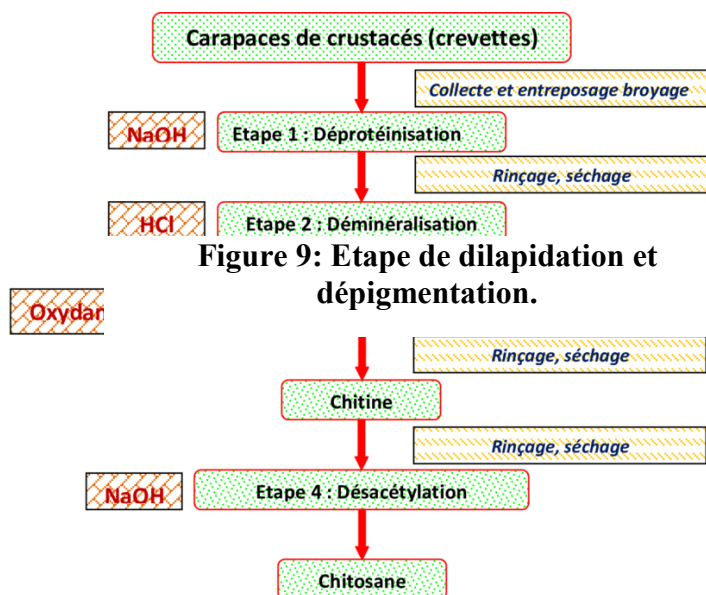


Figure 9: Etape de dilapidation et dépigmentation.

1.21. Dépigmentation et dilapidation

Cette étape permet l'élimination des lipides et des pigments, elle consiste à laisser macérer la poudre de carapaces de crevettes dans de

l'acétone/éthanol pendant 18 à 20h. Après macération, faire plusieurs lavages à l'eau distillée jusqu'à éclaircissement de la couleur de la poudre.

1.22. Déméralisation

L'objectif de cette étape est d'éliminer les minéraux présents dans la poudre de carapaces de crevettes. Après dépigmentation la poudre est récupérée, séchée, pesée et ensuite transférée dans un ballon de 2L avec l'ajout graduel de l'acide chloridrique 1N. Sur une plaque chauffante magnétique, le ballon est mis sur agitation moyenne et à une température de 70°C pendant plusieurs minutes. Le contenu du ballon est filtré et la poudre est récupérée. Après plusieurs lavages à l'eau distillée le pH de la poudre est neutralisé.

1.23. Déprotéinisation et désacétylation :

Elle est effectuée à l'aide d'une solution d'hydroxyde de sodium à 12.5N. Après séchage de la poudre obtenue suite à la déminéralisation, une pesée est effectuée afin de déterminer la quantité de poudre obtenue dans le but de connaître la quantité de NaOH nécessaire au processus.

Dans un ballon de 2 litres mettre la poudre obtenue ainsi que la solution caustique sous agitation à haute température pendant quelques heures. Puis effectuer un lavage à l'eau distillée afin de neutraliser le pH.

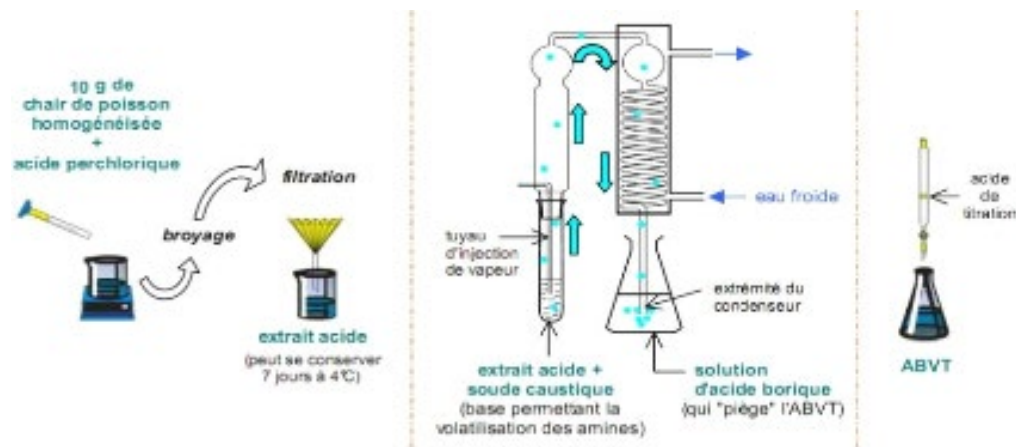


Figure 10: Dispositif de déprotéinisation.

1.24. Caractérisation du Chitosane

1.24.1. Rendement massique du chitosane

Le rendement massique est calculé à partir du poids du chitosane obtenu après extraction en fonction du poids de la poudre de carapace de base (LE ROUX, 2012), selon la formule ci-dessous

$$: Y_m (\%) = \frac{M1}{M2} \times 100$$

Avec :

M1 : le poids de la poudre initiale.

M2 : le poids du chitosane obtenue.

1.24.2. Test de solubilité

Dissoudre 0.1g du chitosane en poudre dans 10 ml d'une solution d'acide acétique (1%), sous agitation constante pendant une nuit à température ambiante jusqu'à sa solubilisation

(FERNANDEZ-KIM, 2004), dans le but de mesurer le degré de désacétylation.

1.24.3. Test de viscosité

L'analyse de la viscosité a été effectuée au niveau du laboratoire du SARL Casbah. La viscosité dynamique de la solution du chitosane est déterminée à l'aide d'un viscosimètre numérique. Le Cs a été mis en solution dans de l'acide acétique à (1%), et une gamme de solutions de chitosane à différentes concentration a été préparée.

Les solutions sont passées à l'analyse dans un viscosimètre numériques de la série NDJ. Le principe est de placer le liquide à étudier entre deux cylindres coaxiaux (l'un mobile, l'autre fixe).

Lorsque le cylindre mobile est entraîné en rotation, il se crée un gradient de vitesses à l'intérieur du fluide, proportionnel à la vitesse de rotation. Le fluide exerce alors une contrainte sur le cylindre mobile en lui imposant une certaine résistance, directement mesurée par un capteur. (MEYER, 2018).

1.24.4. Calcul du degré de déprotéinisation

Le degré de déprotéinisation permet d'évaluer l'efficacité du traitement de déprotéinisation. Il est calculé par la formule suivante (RAO et al., 2000)

Formule

$$DD(\%) = \frac{M_0 \times P_0 - M_r \times P_r}{M_0 \times P_0} \times 100$$

Avec :

M_0 : Masse initiale du produit avant hydrolyse.

M_r : Masse résiduelle du produit après hydrolyse.

P_0 : Pourcentage de protéines dans le produit initial.

P_r : Pourcentage de protéines dans le produit résiduel après hydrolyse.

Calcul du degré de déminéralisation :

Le degré de déminéralisation est calculé par la formule suivante (RAO et al.2000) :

$$DD(\%) = \frac{M_0 \times A_0 - M_r \times A_r}{M_0 \times A_0} \times 100$$

Avec :

M_0 : Masse initiale du produit avant déminéralisation.

M_r : Masse résiduelle du produit après déminéralisation.

A_0 : Pourcentage de matière minérale dans le produit initial.

A_r : Pourcentage de matière minérale dans le produit résiduel après déminéralisation.

Préparation et Placement des Disques

Préparer les disques de papier :

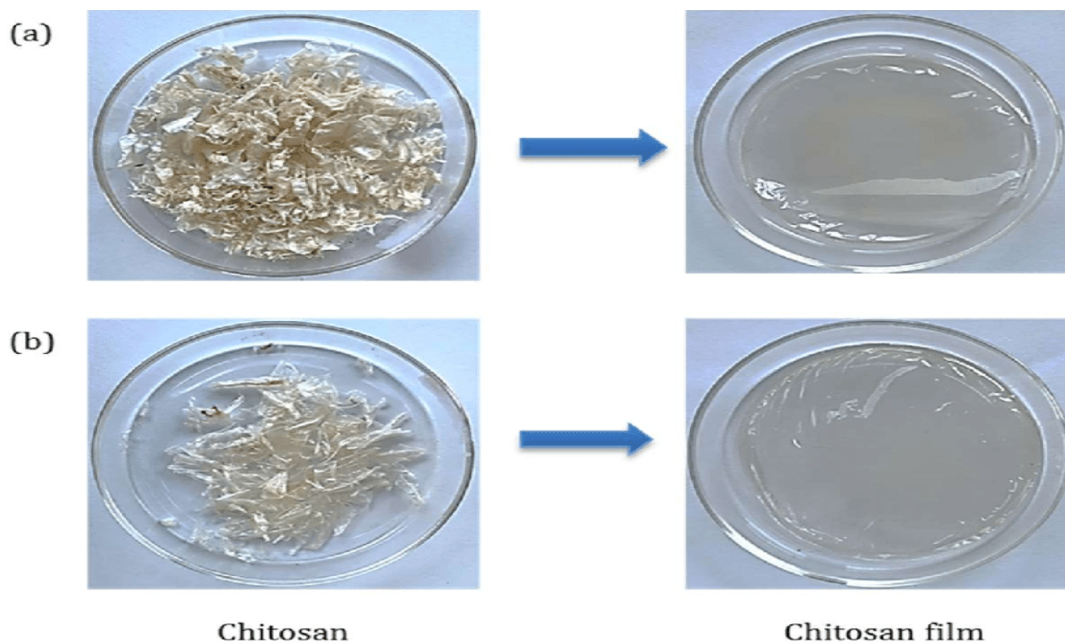
Imprégnez les disques de papier avec 80 μ L de solution de chitosane. La concentration de chitosane dans la solution dépend des recommandations spécifiques pour le test, mais assurez-vous que chaque disque est uniformément imbibé.

Les disques doivent être secs avant leur placement sur le milieu pour éviter toute diffusion prématurée ou inégale.

Placer les disques sur la gélose :

Disposez les disques imbibés sur la surface du milieu BCYE ensemencé à l'aide d'une pince stérile ou d'une pipette.

Espacer les disques pour éviter le chevauchement des zones d'inhibition et permettre une lecture claire.



Incubation :

Incuber les boîtes de Pétri :

Incubez les boîtes de Pétri à 37 °C.

La période d'incubation peut varier de 2 à 10 jours. Vérifiez les résultats régulièrement, mais laissez les boîtes en incubation complète pour obtenir des résultats fiables.

Lecture et Interprétation

Mesurer les zones d'inhibition :

Après incubation, mesurez les diamètres des zones d'inhibition autour des disques.

Utilisez une règle millimétrée ou un compas pour mesurer le diamètre des zones où la croissance bactérienne a été inhibée.

Interprétation des résultats :

Le résultat est considéré comme positif si le diamètre de la zone d'inhibition est supérieur à 2mm.

Comparez les résultats obtenus avec des critères de référence pour évaluer l'efficacité de l'antimicrobien.

Résumé des Valeurs et Conditions

Densité de la suspension bactérienne : 0.5 McFarland ($\approx 1 \times 10^8$ CFU/mL)

Volume de solution de chitosane pour chaque disque : 80 μ L

Température d'incubation : 37 °C

Durée d'incubation : 2 à 10 jours

Diamètre minimum de la zone d'inhibition pour un résultat positif : > 2 mm

Méthodes

1.24.4.1. Préparation des hydrogels lyophilisés de CHT et de PCD

Les poudres de CHT et de PCD sont préalablement broyées afin, d'obtenir des particules de taille identique. Le CHT est dans un premier temps broyé dans un broyeur rapide à rotor

(Pulvérisette 14 Fritsch, Allemagne) à raison d'un cycle de 2 min à 8000 rpm. Le PCD est quant à lui broyé dans un mortier. Les poudres ainsi obtenues sont ensuite tamisées séparément à l'aide d'un tamis avec une taille de maille de 125 μ m.

1.24.4.2. Préparation des hydrogels lyophilisés

La première étape pour la préparation des hydrogels consiste à co-broyer à sec les poudres de CHT et de PCD grâce à un vibro-broyeur (MM 400, Retsch, Allemagne) à 10 Hz pendant 3 min. Les poudres sont mélangées à différents ratios de CHT:PCD qui se différencient par leur quantité de PCD (Tableau 8). Les poudres sont mises en suspension dans de l'eau ultrapure et mélangées 1,5 minutes, à l'aide de deux seringues connectées par un connecteur[18].

luer-lock femelle-femelle (Vygon®, France). L'acide acétique glacial (grade HPLC Merck,

France) est ajouté par ce même système de seringues et mélangé pendant 1 minute et 30 secondes. L'hydrogel obtenu est ensuite injecté dans un tube à centrifuger (15 mL, Ø 12 mm,

Thermo Fisher Scientific, France) congelé 12 heures à -20 °C puis lyophilisé à 0,056 mBar, -55 °C pendant 48 heures (lyophilisateur Christ 1-4 LDplus, Allemagne). Pour chaque ratio, la moitié des éponges est soumise à un traitement thermique dans un four Poupinel UFP600

(Mammert, France) 1, 5 heures à 140 °C.[19] Le comportement des éponges traitées thermiquement (TT) et non traitées thermiquement (NTT) sera comparé au cours des expérimentations. Les étapes de productions sont résumées dans la Figure 26. Les échantillons obtenus sont découpés en disques de différents diamètres et hauteurs, selon les besoins des expérimentations. Pour certaines études, un poinçon à biopsie a été utilisé pour obtenir des éponges de 5 mm de hauteur et 6 mm de diamètre.[20].

1.24.5. Caractérisation des hydrogels

1.24.5.1. Test du flacon retourné

La gélification a été étudiée par le test du flacon retourné (265). Un hydrogel frais (1,5 mL) est immédiatement injecté dans un flacon en verre (10 mL) qui est retourné pendant 3 min pour évaluer si l'hydrogel s'écoule sous son propre poids. Le relevé par la prise d'une photographie pour chaque ratio a été réalisé après 3 minutes, 1 heure et 24 heures après une incubation à 37°C.

La présente invention [21] se rapporte à un pansement comprenant un support non tissé comprenant sur une de ces faces, un biomatériau capable de faire des transitions gel/solution comprenant une phase aqueuse et un réseau de polymères une première enzyme de dégradation dudit polymère, et une seconde enzyme capable d'effectuer des liaisons covalentes entre des monomères issus du polymères[22]. La présente invention se rapporte également à un procédé de fabrication dudit pansement. La présente invention trouve une application notamment dans le domaine médical et dans le domaine vétérinaire, par exemple pour soigner les plaies.[35]

La fabrication de pansements cicatrisants à base de chitosane marin implique plusieurs étapes clés, allant de l'extraction du chitosane à la formulation finale du pansement. Voici un aperçu détaillé de ces étapes :[34]

1. Extraction du Chitosane

Le chitosane est dérivé de la chitine, un polysaccharide présent dans les carapaces de crustacés. Le processus d'extraction comprend :

Déminéralisation : Les carapaces sont traitées pour éliminer les minéraux, généralement par un traitement acide.

Déacétylation : La chitine est ensuite déacétylée pour obtenir du chitosane, souvent en utilisant une solution alcaline.

2. Préparation de la Solution de Chitosane

Une fois le chitosane extrait, il est dissous dans un solvant approprié pour former une solution. Par exemple, une solution hydro-alcoolique de chitosane est préparée,[33] généralement à une concentration d'environ 10 g de chitosane par litre de solvant, qui peut contenir entre 10 et 65 % d'alcool[33].

3. Formulation du Pansement

a. Ajout d'Autres Composants

Pour améliorer les propriétés du pansement, d'autres ingrédients peuvent être ajoutés :

Réacétylation : Une solution d'anhydride acétique peut être ajoutée pour modifier le degré d'acétylation du chitosane, ce qui influence ses propriétés[25].

Incorporation d'Alginate : Dans certaines formulations, l'alginate, dérivé d'algues, est mélangé avec le chitosane pour créer un matériau composite appelé alchite, qui possède une capacité d'absorption supérieure[24].

b. Moulage et Gelification

La solution obtenue est versée dans des moules pour prendre la forme souhaitée. Elle est ensuite laissée à reposer jusqu'à ce qu'elle gélifie, ce qui peut nécessiter l'élimination de l'excès de solvant par évaporation ou lyophilisation[26][27].

4. Conditionnement et Distribution

Une fois les pansements testés et approuvés, ils sont conditionnés dans des emballages stériles et distribués pour un usage médical, notamment pour le traitement des plaies chroniques ou difficiles à cicatriser[28][29].

Pour fabriquer des pansements cicatrisants à base de chitosane extrait des carapaces de crevettes, voici un protocole complet que vous pouvez suivre. Ce processus inclut la préparation du chitosane à partir des carapaces de crevettes et sa formulation en pansements cicatrisants.

Matériaux et Équipements

Matériaux :

Carapaces de crevettes (fraîches ou séchées)

Acide acétique (pour la dissolution du chitosane)

Hydrogel ou agent gélifiant (comme alginate de sodium ou gélatine)

Support : tissu non-tissé ou feuille de silicone

Équipements :

Équipement de broyage (moulin, broyeur ou mortier)

Filtre (pour séparer les particules solides)

Bécher et agitateur magnétique

Étuve ou séchoir

Moules (pour former les pansements)

Ciseaux ou cutter (pour découper les pansements)

Équipement de stérilisation (comme un autoclave ou des solutions désinfectantes)[29]

Protocole de Fabrication

1. Préparation du Chitosane

1.1 Nettoyage et Préparation des Carapaces :

Nettoyer les carapaces de crevettes sous l'eau courante pour enlever toute matière organique résiduelle.[1]

Si elles sont fraîches, les faire sécher complètement au four ou à l'air libre jusqu'à ce qu'elles deviennent cassantes.

1.2 Broyage des Carapaces :

Broyer les carapaces sèches en une poudre fine à l'aide d'un moulin ou d'un broyeur.

1.3 Déminéralisation :

Dissoudre la poudre de carapace dans une solution d'hydroxyde de sodium (NaOH) à 1 M à 80-90°C pendant environ 2 heures pour enlever les minéraux. Filtrer le mélange pour éliminer les résidus solides.

1.4 Déprotéinisation : Traiter la poudre déminéralisée avec une solution d'acide chlorhydrique (HCl) à 1 M pendant 2 heures pour éliminer les protéines restantes. Filtrer et laver le résidu avec de l'eau distillée jusqu'à ce que le pH soit neutre.

1.5 Démarche de Déacétylation :

Dissoudre la poudre nettoyée dans une solution d'acide acétique à 1-2 % pour obtenir une solution de chitosane. Agiter doucement jusqu'à dissolution complète. Cette étape peut prendre plusieurs heures.

Pansement pour plaies chroniques, notamment escarres, en gel de chitine :

Le pansement pour la protection et la cicatrisation de lésions du type plaies chroniques, notamment d'escarres, est constitué d'un gel de chitine ou de chitosane acétylé avec un degré d'acétylation d'au moins 60 %. Avantageusement la proportion de chitine ou de chitosane en poids par rapport au gel est comprise entre 0,5 et 3,5 %, de préférence et son épaisseur est de l'ordre de 3 à 4 mm. Son procédé de préparation consiste: à réaliser une solution hydro-alcoolique de chitosane, à raison d'environ 10g de chitosane par litre d'un milieu alcoolique contenant entre 10 et 65 % d'alcool, à ajouter sous agitation à ladite solution de chitosane une solution de réacétylation consistant en de l'anhydride acétique dans le même alcool que celui qui est contenu dans la solution hydro-alcoolique, à verser la solution ainsi obtenue dans un moule ayant la forme souhaitée pour le pansement et à laisser reposer jusqu'à la prise en gel et l'élimination de l'excès de solvant, et à laver abondamment.[35]

On sait qu'un gel est un mélange d'une matière colloïdale et d'un liquide. Un gel est dit microscopique lorsque quelques chaînes macromoléculaires forment localement des agrégats ; un gel est dit macroscopique lorsque toutes les chaînes macromoléculaires sont reliées entre elles. Le gel macroscopique possède des propriétés mécaniques très supérieures à celles du gel microscopique ; en particulier il ne coule pas et peut être façonné par exemple par découpe. Dans le cas d'espèce il s'agit d'un gel macroscopique de chitine ou du chitosane acétylé avec un degré d'acétylation d'au moins 60%, avec l'eau comme liquide. Dans le gel macroscopique, la chitine et le chitosane acétylé se présentent sous la forme d'un réseau tridimensionnel dont la structure est fonction notamment des conditions opératoires lors de la formation du gel. Par ailleurs le gel de chitine ou chitosane acétylé est incolore, transparent et sensiblement rigide, tout en conservant

une certaine faculté de déformation, en fonction de son épaisseur. De plus le gel de chitine ou chitosane acétylé présente une bonne perméabilité à l'air.[34].

Pour obtenir un résultat ainsi amélioré, il est souhaitable que la proportion de chitine ou de chitosane acétylé en poids par rapport au gel soit comprise entre 0,5 et 3,5%.

En-dessous de 0,5%, il serait très difficile de former un gel. Au-dessus de 3,5%, la densité du réseau tridimensionnel serait telle que le développement cellulaire aurait du mal à pénétrer dans les mailles de ce réseau.[33].

Ainsi grâce à la présentation de la chitine et du chitosane acétylé sous forme d'un gel macroscopique, il y a une très grande accessibilité aux systèmes hydrolytiques comme le lysozyme, dans un milieu particulièrement favorable à la dégradation par hydrolyse. Ceci stimule la formation des produits biostimulants qui stimulent le développement cellulaire.

De préférence l'épaisseur du pansement est de l'ordre de 3 à 4mm.

Cette épaisseur confère au gel de chitine ou de chitosane acétylé une certaine élasticité lui permettant d'épouser la forme de la lésion. De plus avec cette épaisseur, on peut atteindre une consommation quasi-intégrale du pansement lorsque la cicatrisation est complète. C'est un autre objet de l'invention que de proposer un procédé spécialement conçu pour la préparation du pansement précité.[32].

Ce procédé consiste :

- à réaliser une solution hydro-alcoolique de chitosane, à raison d'environ 10g du chitosane acétylé par litre d'un milieu alcoolique contenant entre 10 et 65% d'alcool,
- à ajouter sous agitation à ladite solution de chitosane acétylé une solution de réacétylation consistant dans de l'anhydride acétique dans le même alcool que celui qui est contenu dans la solution hydro-alcoolique, - à verser la solution ainsi obtenue dans un moule ayant la forme souhaitée pour le pansement et à laisser reposer jusqu'à la prise en gel macroscopique et l'élimination de l'excès de solvant, et à laver abondamment.

Le pansement de gel de chitine selon l'invention est réalisé dans les conditions opératoires suivantes. La chitine est un polysaccharide constitué de poly (N-acétyl-D- glucosamine), qui contient un groupe amino-acétyle par motif. La chitine est extraite de la carapace de crustacés par des moyens mécaniques appropriés. Les copeaux de chitine native sont désacétylés pour obtenir le chitosane. Le chitosane est donc un composé partiellement ou fortement désacétylé de

la chitine ; c'est un polysaccharide comportant des motifs unitaires glucosamines et d'autres N-acétyl-glucosamines. Dans les conditions normales , c'est-à-dire avec un degré d'acétylation généralement inférieur à 40%, le chitosane est soluble en milieu aqueux acide.

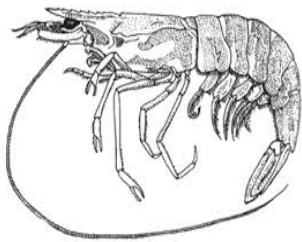
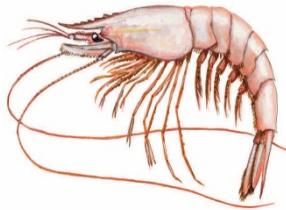
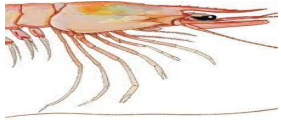



Résultats et Discussion

Résultats et discussion

1.25. Identification de l'espèce

L'espèce utilisée lors de cette étude est *Parapenæus longirostris* aussi appelée la crevette rose, ce décapode (LATREILLE, 1802) au corps latéralement comprimé possède 5 paires d'appendices abdominaux développés qui sont utilisés pour la nage et une carapace mesurant de 25mm à 41.5mm (BENKABOUCHE,2015). Les principales caractéristiques permettant son identification sont décrites dans le (Tableau 4). Ci-dessous :

Tableau 4: Critères distinctifs pour l'identification de *Parapenæus longirostris*. Fiche FAO (FISCHER,1987)

| Critère | Rostre | Segment | Telson |
|---|--|--|---|
| Caractéristiques | <p>Légèrement recourbé vers le haut.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Un bord dorsal armé de 8 dents. • La partie ventrale dépourvue de dents. | <p>Pleurons du second Segment abdominal chevauché par celui du premier segment.</p> | <p>Se terminant par une pointe flanquée de 2 épines fixes.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Ses marges latérales sans épines mobiles. • Pas d'exopodes à la base des péréiopodes. |
| Schéma descriptif Fiche FAO (FISCHER, 1987) |  |  |  |
| Echantillon |  |  |  |

1.26. Composition biochimique globale des coproduits de crevettes

La composition biochimique globale des coproduits de crevettes de *P. longirostris* est présentée dans le (Tableau 5) et la (Figure 27) et elle est comparée à celles décrites par les études antérieures :

Tableau 5: Résultats obtenus et comparaison avec les résultats retrouvés dans la littérature.

| Taux (%) | Présente étude | (OULHIZ,2018) | (KEFIL,2020) | (HADDAB et KORTBI, 2020) |
|------------------|----------------|---------------|--------------|--------------------------|
| Humidité | 11.57 | 10.09 ± 0.09 | 10.5 | 14.61 |
| Matière Minérale | 39.88 | 28.09 ± 0.52 | 32.6 | 37.49 |
| Lipides | 11.04 | 3.22 ± 02.04 | 8.7 | 6.99 |
| Sucres libres | 4.7 | / | 2.11 | / |
| Protéines | 8.3 | 30.63 ±2.01 | 24.26 | 28.96 |

1.26.1. Taux d'humidité (Teneur en eau)

Au regard du tableau 5. Le taux d'humidité, contenu dans les carapaces de notre échantillon qui est de 11.57%, est assez proche de ceux observés lors des études précédentes avec 10% dans les études d'OULHIZ (2018), 10.5% dans le cas de KEFIL (2020) alors que KORTBI et HADDAB (2020) ont enregistré des taux légèrement au-dessus (14.61%).

Néanmoins, contrairement aux autres études dont les carapaces ont été séchées à une température allant de 35 à 37 °C dans une étuve ventilée, pour le présent travail, le séchage a été fait à l'air libre à température ambiante. Nous constatons donc que le séchage à l'air libre est aussi efficace que celui à l'étuve, cependant la durée de séchage est plus grande.[30].

Par ailleurs, les carapaces de crevettes traitées par KEFIL (2020) et alors que KORTBI et HADDAB (2020) est un mélange de deux espèces (*Aristeus antennatus* et *P. longirostris*), quant à celles de OULHIZ, elles sont issues de la crevette rouge (*Aristeus antennatus*) uniquement.

1.26.2. Teneur en matière minérale :

De même, la teneur en minérale obtenue (39.88 %) est voisine de celles décrites dans la littérature (KORTBI et HADDAB, 2020, KEFIL, 2020). Il est admis que la composition chimique générale de la carapace de crevette fluctue selon l'espèce, selon le sexe, son environnement (La richesse en minéraux), ainsi que son stade de croissance. En effet, les crevettes muent au fur et à mesure qu'elles grandissent car la carapace devient trop petite pour leur corps, et après chaque mue l'animal se retrouve dans l'obligation de reconstituer un nouvel exosquelette, celui-ci est formé à base de minéraux absorbés dans le milieu naturel. La teneur varie alors en fonction de la taille ainsi que du stade de croissance de l'animal.[2][23].

1.26.3. Teneur en lipides

Les carapaces de crevettes sont relativement pauvres en composés lipidiques (Tableau 5), les valeurs obtenues (8.11%) corroborent avec celles enregistrées par KEFIL (2020) (8.7%). En revanche, elles sont largement supérieures, voire le triple, à celles relevées par OULHIZ

(2018) qui est de 3.22%.

1.26.4. Teneur en protéines

La teneur en protéines de l'échantillon est de 8.3%, ce qui représente moins du tiers des taux rapportés par OULHIZ (2018) et KORTBI (2020) qui sont respectivement de 30.63% et 28.96%. Cette considérable différence résulte vraisemblablement d'une décortication minutieuse et d'un bon nettoyage de la matière première, lors du nettoyage toute la chair collée à

la carapace et au telson a été extraite dans le but de faciliter et d'optimiser l'étape de la déprotéinisation.

Lors d'une étude ; menée par RANDRIAMAHATODY (2011), il a été relevé des taux très élevés en protéines dans les têtes de crevettes qui étaient de l'ordre de 57%.

Il est courant que, pour les animaux aquatiques, des fluctuations dans la composition biochimique dans la chair et coproduits soient observées chez un même individu, des écarts peuvent être relevés entre la région prète de la tête par rapport à celle de la queue.

1.26.5. Teneur en sucres

D'après le tableau, la teneur en sucres est considérablement faible presque négligeable, un taux de 4.7% contre 2.14% pour KEFIL (2020), Cela est dû au fait que la part de glucides la plus

importante est représenté par la chitine, qui forme un complexe chitino-protéique non détectable par la méthode colorimétrique de Dubois.

1.27. Caractérisation du chitosane produit

Afin de déterminer le rendement d'extraction du chitosane et d'apprécier sa qualité, sa teneur en protéines et de matière minérale résiduelles, sa solubilisation dans un acide dilué et son degré de désacétylation par résonance magnétique (RMN 1 H) ont été déterminés.[2].

1.27.1. Rendement massique du chitosane produit

Le chitosane obtenu après déminéralisation, déprotéinisation et désacétylation des coproduits de crevettes (*P. longirostris*), est d'un rendement massique de 11.13.

La valeur obtenue est proche aux valeurs de rendements obtenus par OULHIZ (2018) (9.02%) et HADDAB et KORTBI (9.6%) En revanche, le taux obtenu est supérieur à ce qui a été reporté par CHENNIT et NAIT YAHIA (2015) (8,1 %) et KEFIL (2020) (6,84 %).

Tableau5: Rendement massique en chitosane obtenu à partir des coproduits de crevettes rapportés dans la littérature

| | Présente étude | OULHIZ (2018) | HADDAB et KORTBI (2015) | HADDAB et KORTBI (2020) | KEFIL (2020) |
|------------------------|----------------|---------------|-------------------------|-------------------------|--------------|
| Rendement d'extraction | 11.13 % | 9,02 % | 8,1 % | 9,6 % | 6,84 % |

Selon ÖZOGUL et al (2018), Les rendements massiques varient en fonction de plusieurs facteurs tels que : la méthode d'extraction, l'espèce utilisée, les saisons et les conditions environnementales (zones de pêche).

1.27.2. Solubilité Le chitosane produit à partir de carapaces de crevettes se solubilise parfaitement dans l'acide acétique 1%, la solution est translucide avec un aspect très visqueux par rapport au chitosane commerciale.



**Figure12:Solubilisation des chitosanes, (1) Extrait.
(2) Commercial**

Le chitosane est presque insoluble dans l'eau et dans les solutions alcalines aussi bien concentrées que diluées. Cependant il est soluble dans les acides faiblement dilués (comme l'acide acétique, lactique, citrique, ...).

Les groupes aminés du chitosane sont protonés à partir de pH= 3, le chitosane est solubilisé lorsque le polymère est positivement chargé (CATALDO et al., 2009) ; et il devient cationique quand le pH est inférieur au pKa intrinsèque de la fonction amine du chitosane soit

6,3. À un pH supérieur (>6,5), les groupements ne sont plus ionisés et le chitosane se précipite (RINAUDO et al.1993).

1.27.3. Viscosité

La viscosité dynamique est une grandeur physique qui caractérise la résistance à l'écoulement laminaire d'un fluide incompressible. La viscosité dynamique de la solution du chitosane a été déterminée à l'aide d'un viscosimètre numérique, Des solutions de chitosane à différentes concentrations ont été préparées et analysées au viscosimètre à température ambiante.

Tableau 6: Résultats de la viscosité dynamique de différentes solutions de chitosane.

| [Cs] g/ml | 0.01 | 0.005 | 0.0078 |
|------------------------------|--------|--------|--------|
| Viscosité dynamique mPa.s | 2173.3 | 1151.3 | 1917.5 |

La projection de la droite l'axe des y représente la viscosité intrinsèque, méthode de calcul sert à tracer le graphe $\eta=f(c)$.

Donc : pour X=0, $\eta= 170$ ml/g

La viscosité du chitosane produit est de 170 ml/g elle dépend essentiellement de la concentration, de sa masse molaire, de sa température ainsi que de son DD. Plus il est désacétylé, plus il y a des groupements amine libres et plus il est soluble, et plus sa viscosité est importante.

1.27.4. Poids moléculaire

La méthode choisie pour la détermination de la MM nécessite la connaissance de la viscosité intrinsèque $[\eta]$ des polymères ainsi que les paramètres k et a. Les valeurs prises par ces derniers dépendent de la nature du solvant, de sa concentration et de la température

(KASAAI, 2007). Dans notre cas, pour le solvant utilisé CH₃COOH à 1% et une température de 20°C : a = 0.93 (sans dimension) ; k=1.81 10⁻³ (dl.g⁻¹).

La masse molaire moyenne est déterminée par la mesure de la viscosité en utilisant de l'équation Mark Houwink (RINAUDO et DOMARD, 1998) :

$$[\eta] = K * M^a$$

Avec $[\eta]$: viscosité intrinsèque, $[M]$: poids moléculaire.

Le poids moléculaire du chitosane produit est de 223 kDa. Les masses molaires du chitosane et la répartition des motifs N-acétylés le long de la chaîne dépendent de la méthode de désacétylation utilisée. Le chitosane commercial a une masse molaire entre 100-500 kDa

(KASAAI, 2007).[3]

1.27.5. Qualité du chitosane produit

1.27.5.1.Degrés de déminéralisation et de déprotéinisation

Afin d'évaluer l'efficacité des traitements de déminéralisation et de déprotéinisation effectués sur les coproduits de crevettes, la teneur du chitosane en protéines et cendres résiduelles a été déterminée. Les résultats sont mentionnés dans le tableau ci-dessous :

Tableau 7: Degrés de déminéralisation et de déprotéinisation du chitosane produit.

| | Degrés Chitosane produit |
|--------|--------------------------|
| DM (%) | 100 |
| DP (%) | 63.2 |

Le degré de déminéralisation est de 100% (Figure 31), ce qui signifie une élimination complète des matières minérales malgré leur présence en forte proportion dans la carapace des crevettes (39,88%),

Un taux d'élimination des cendres de l'ordre de 53.31 % a été rapporté par HADDAB et KORTBI (2020), après un traitement acide (HCL) à 50°C des carapaces des crustacés.

L'élimination totales des minéraux durant cette étude a été possible grâce à l'utilisation d'une plus grande température (70°C).

Bien que le degré de déprotéinisation (63,2%) soit inférieur à ceux rapportés par HADDAB et

KORTBI (2020), KEFIL (2020) ainsi qu'OULHIZ (2018), le traitement appliqué (NaOH)

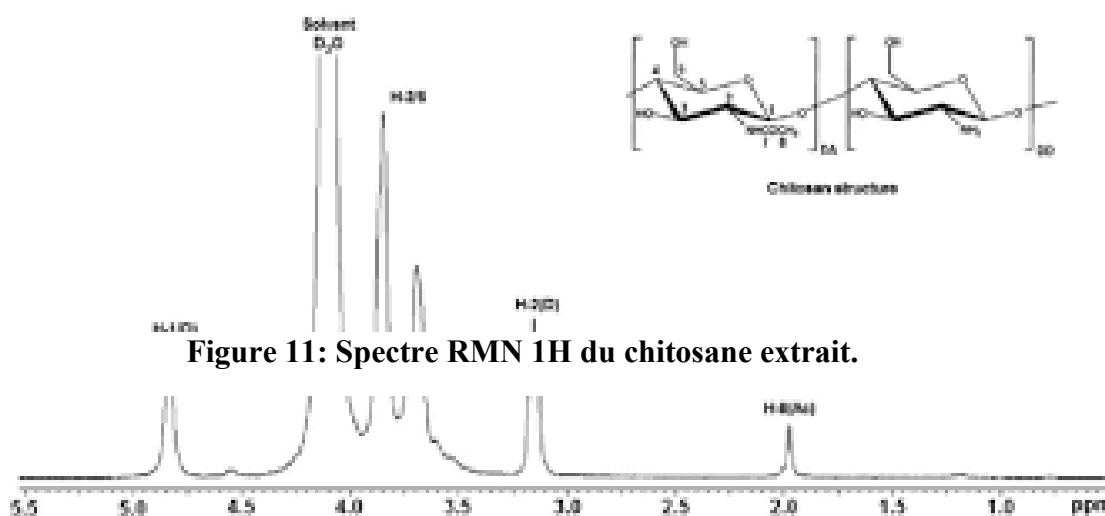
(12,5N) dans la présente étude est plus efficace car le maximum de protéine a été déjà éliminé durant l'étape de prétraitement des carapaces de crevettes, d'ailleurs la teneur totale en protéine est plus faible que celles rapportées par ces auteurs.[11].

1.27.5.2.Degré de désacétylation du chitosane par résonance magnétique nucléaire RMN

La RMN 1 H est une méthode très utilisée pour la détermination du DDA du chitosane. La technique s'avère rapide, précise, reproductible, robuste, stable et ne nécessite qu'une petite quantité de chitosane (LAVERTU et al, 2003).

À partir des spectres présentés ci-dessus, le degré de désacétylation (DD) peut être déterminé en comparant l'intégralité du pic de résonance à 2 ppm environ, correspondant aux protons du CH₃ du groupe acétyl, par rapport aux protons H₂-H₆ du cycle glucosidique, situés entre 3 et 4,4 ppm (VO, 2013).

L'analyse du degré de désacétylation par RMN a permis l'obtention des spectres présentés là-dessous :



Le DDA du chitosane produit est de 98.8%. Selon OULHIZ (2018), Un DD élevé indique que le chitosane est de bonne qualité.

Il n'existe pas de pansement « idéal » mais la communauté scientifique s'efforce de développer de nouveaux dispositifs répondant au cahier des charges présenté .

Traditionnellement utilisés pour protéger les plaies des agressions extérieures, et destinés aux traitements et aux soins des plaies pour favoriser la cicatrisation, ils sont exploités depuis plusieurs

années comme plateforme pour la délivrance locale de molécules actives. On parle de pansements techniques dits « avancés ». Ils sont constitués de divers biomatériaux, et les substances dont ils sont imprégnés agissent directement ou indirectement sur le processus de cicatrisation . L'accélération et l'amélioration de la régénération de la peau permet de lui rendre son intégrité, ses fonctions protectrice et homéostatique, de réduire les temps des soins, les rechutes et le coût de prise en charge.[17].

1.28. L'utilisation du chitosane sous forme d'hydrogel

1.28.1. Définition d'un hydrogel

On peut définir un gel comme « un réseau constitué de chaînes polymères interconnectées et gonflées par un solvant dont la concentration est supérieure à 90% »

Un gel ne doit pas se dissoudre dans son solvant, et ne doit pas fluer sous son propre poids, même après plusieurs heures. On qualifie d'« hydrogels » les gels dont le réseau polymère est gonflé par l'eau. Il faut toutefois différencier les gels hydrogels de type chimique des hydrogels physiques.[35].

L'hydrogel chimique se caractérise par la nature covalente des liaisons constituant le réseau tridimensionnel. Du fait de la présence de ces liaisons covalentes, les hydrogels chimiques ne sont ni thermoréversibles (retour à l'état liquide par chauffage impossible), ni solvoréversibles (dissolution dans le solvant initial impossible). L'hydrogel physique quant à lui présente un réseau polymère dont les nœuds de réticulation sont uniquement de nature physique, comme des liaisons hydrogènes, des interactions de Van der Waals (liaisons hydrophobes), des interactions ioniques ou encore la formation de zones cristallines. Ce type de liaison étant de plus faible énergie que les liaisons covalentes, les hydrogels physiques sont souvent réversibles, selon les conditions de température et de pH.[35].

1.28.2. Cas des hydrogels physiques de chitosane

Nous nous intéresserons ici uniquement à la description des hydrogels physiques de chitosane obtenus sans agents réticulants, puisque l'utilisation d'agents réticulants (souvent toxiques) peut porter préjudice à la biocompatibilité finale du dispositif médical. De plus l'élaboration d'hydrogels par la voie chimique ne permet pas de conserver la structure physique du chitosane et donc ses propriétés biologiques.

Comme nous l'avons déjà évoqué, les hydrogels physiques résultent d'interactions ioniques ou d'interactions plus faibles comme les liaisons hydrogènes ou encore des interactions hydrophobes.

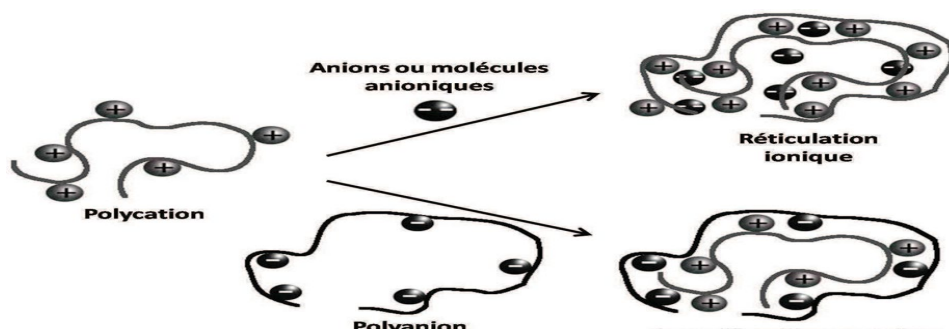


Figure 12: obtention d'hydrogels par réticulation ionique (complexation à l'aide d'anions ou olécules anioniques) ou formation de complexes polyélectrolytes entre polycations et polyanions.

1.28.3. Origine de l'activité biologique des hydrogels : concept de leurre des milieux biologiques

L'intérêt des hydrogels chimiques ou physiques est largement étudié dans la littérature, en particulier pour les applications biomédicales et pharmaceutiques [34].

Les hydrogels sont des réseaux tridimensionnels hydrophiles capables d'absorber de grandes quantités d'eau ou de fluides biologiques et qui ainsi ressemblent beaucoup au tissu vivant.

Les hydrogels destinés à l'ingénierie tissulaire doivent répondre à un certain nombre de critères pour promouvoir la formation d'un nouveau tissu. Ces critères incluent d'une part des paramètres classiques d'ordre physique, tels que des propriétés mécaniques et un mode de biodégradation adaptés ; et des caractéristiques d'ordre biologique d'autre part, en particulier une bonne biocompatibilité. La biocompatibilité fait référence à la capacité d'un matériau à ne pas causer de dommages aux cellules adjacentes et à ne pas induire de réponse défavorable. Ce type de réponse peut-être par exemple une réponse inflammatoire qui sera jugée défavorable si elle affecte la réponse immunitaire vis-à-vis des cellules de l'hôte et des cellules transplantées (dans le cas de matériaux cellularisés). Pour cette raison seront généralement préférés les polymères naturels qui se caractérisent par une biocompatibilité adaptée, tandis que les polymères synthétiques sont plus fréquemment à l'origine de réponses biologiques défavorables.

1.29. élaboration des hydrogels de chitosane

La production d'hydrogels bicouches de chitosane est basée sur la combinaison de deux procédés de gélification distincts, précédemment mis au point au laboratoire IMP/LMPB [1-3].

Le premier, que l'on appellera « procédé par voie hydroalcoolique », est basé sur l'évaporation à une température de 50°C d'une solution hydroalcoolique de chitosane de composition initiale

eau/alcool 50/50 (% en masse). La différence de température d'ébullition entre l'eau et le 1,2 propanediol (188°C) conduit à l'évaporation de l'eau en premier lieu. La présence d'alcool diminue la constante diélectrique du milieu ce qui a pour effet de modifier la balance hydrophile/hydrophobe de la solution. La perturbation du milieu favorise la formation de liaisons hydrogène et hydrophobes entre les chaînes, conduisant à la formation d'un réseau physique tridimensionnel, neutralisé par la suite à l'aide de vapeur d'ammoniac. Le gel obtenu est alors stable et peut-être lavé à l'eau afin d'éliminer les résidus d'ammoniac et de sels, pour ne contenir au final que du chitosane et de l'eau.

Le deuxième procédé que l'on appellera « procédé par voie aqueuse », consiste à mettre en contact une solution aqueuse de chitosane avec des vapeurs d'ammoniac. La gélification est obtenue du fait de la modification de l'état d'ionisation du polymère, puisque les charges limitent les associations inter-chaînes et favorisent la solubilité. Sur le plan du mécanisme, la gélification est due à la formation de nano-objets obtenus à partir d'interactions hydrophobes [4]. La formation de ces nano-objets ne peut cependant conduire à la formation d'un gel, c'est-à-dire à un ensemble de particules enchevêtrées, que si la concentration en polymère dépasse une certaine concentration : au dessous d'un certain seuil, on forme un précipité donc les caractéristiques mécaniques sont très faibles, ou encore un colloïde dont les applications dépassent le cadre de ce travail.

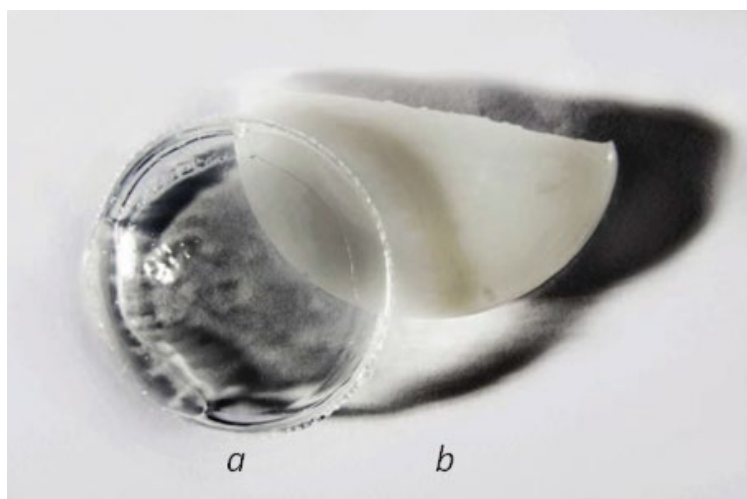


Figure 15: Hydrogels physiques de chitosane obtenus par la voie hydroalcoolique (a) et aqueuse (b)

1.29.1. Purification et stérilisation du chitosane

Nous avons utilisé du chitosane issu de plumes de calamar (Mahtani, lot 113). Afin de le purifier, il a été dissout (0.5% en masse) en présence de la quantité d'acide acétique nécessaire à la protonation stœchiométrique des sites $-NH_2$. La solution obtenue a été filtrée sur des membranes de filtration Millipore (3, 1.2 et $0.45\mu m$). Le polymère est ensuite précipité par l'addition

d'ammoniaque concentré à 28% en masse. Après plusieurs cycles de lavages/centrifugations jusqu'à l'obtention d'un pH neutre, le chitosane est lyophilisé. Le produit obtenu est un chitosane de bas DA (1.5%) et de haute masse moléculaire (M_w proche de $500\,000\text{ g.mol}^{-1} \pm 50\,000\text{ g.mol}^{-1}$) dont la teneur en eau est d'environ 9% w/w $\pm 1\%$. Destinés à être implantés sur des plaies chirurgicales, les hydrogels de chitosane doivent être soumis à un traitement stérilisant. Les principaux procédés de stérilisation employés pour les dispositifs médicaux et pharmaceutiques sont la chaleur sèche, la vapeur d'eau, l'oxyde d'éthylène et le rayonnement gamma ont montré que la stérilisation par chaleur sèche diminue la solubilité du chitosane, phénomène également observé après une stérilisation à la vapeur, et accompagné dans ce dernier cas d'une chute importante des propriétés mécaniques des membranes de chitosane testées. Par ailleurs Lim et coll. ont conclu à la suite d'une autre étude que les rayons gamma, en dépit d'un grand nombre de ruptures de chaînes polymères et d'une importante dégradation des propriétés mécaniques, constitue le meilleur procédé de stérilisation pour le chitosane[34]. Ces conclusions sont en contradiction avec celles de Rao et coll. et celles de Jarry et coll. qui préconisent la méthode de stérilisation à la vapeur d'eau.

Plusieurs auteurs décrivent un jaunissement du chitosane lors de stérilisation à la vapeur ou aux rayons gamma [35].

1.29.2. Procédé de fabrication des hydrogels bicouches

Une solution aqueuse de chitosane concentrée à 3% en masse est préparée sous la hotte à flux laminaire à partir du chitosane précédemment purifié et stérilisé, d'eau permutée stérile et de la quantité d'acide chlorhydrique (37% en masse) nécessaire pour atteindre la protonation de tous les sites $-NH_2$. La dissolution est complète après 8 heures sous agitation. On obtient alors une solution hydroalcoolique de chitosane en ajoutant du 1,2- propanediol à cette solution aqueuse, avec un ratio 1/1. Lorsque la solution hydroalcoolique est homogène, celle-ci est versée dans une boîte de Pétri puis placée à l'étuve à 50°C . Après environ 48h, l'eau contenue dans le mélange est complètement évaporée (ce qui correspond à une chute de masse de 50%), et on obtient alors un gel alcoolique.

La seconde couche du système est obtenue par l'ajout sur ce gel alcoolique d'une solution aqueuse de chitosane (3% en masse), obtenue comme précédemment par dissolution du chitosane dans une solution aqueuse d'acide chlorhydrique.[19].

Finalement on place la boîte de pétri contenant les deux couches dans une atmosphère chargée en vapeur d'ammoniac, capable de diffuser à travers la solution d'une part et l'alcool gel d'autre part.

Ceci conduit à la gélification de la couche aqueuse et à la neutralisation des fonctions amines libres.

Plusieurs lavages du gel bicouche à l'eau permutée stérile permettent alors d'éliminer le propanediol, le chlorure d'ammonium formé et l'excès d'ammoniaque.

Le dispositif final obtenu est composé de deux couches ne contenant que du chitosane et de l'eau. La couche obtenue par voie hydroalcoolique confère au système de bonnes propriétés mécaniques et une réserve d'eau tandis que la seconde couche, plus souple, jouera le rôle d'interface bioactive avec la plaie. L'assemblage des deux gels est assuré par l'interdiffusion des chaînes polymères entre la solution et le gel alcoolique, en effet au contact de la solution, une partie de l'alcool se dissout sous forme de solution hydroalcoolique.

Les hydrogels bicouches ainsi produits (figure 17) sont ensuite conservés dans des flacons stériles d'eau permutée jusqu'à l'implantation.

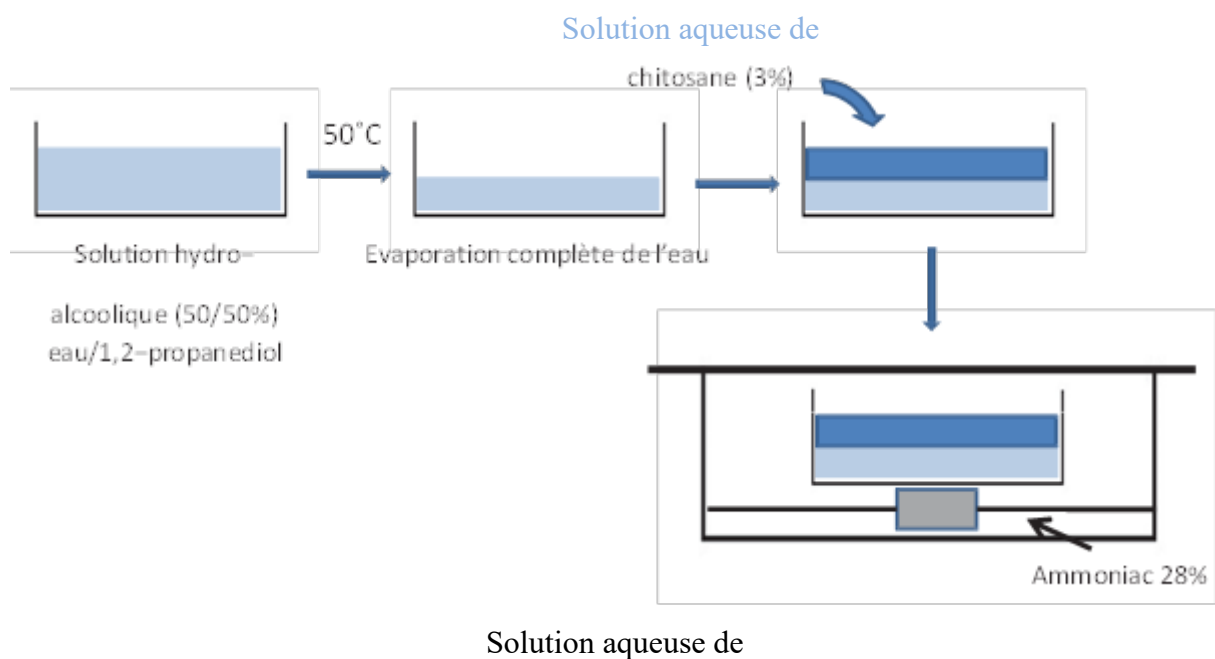


Figure 13: Fabrication d'un hydrogel bicouche de chitosane

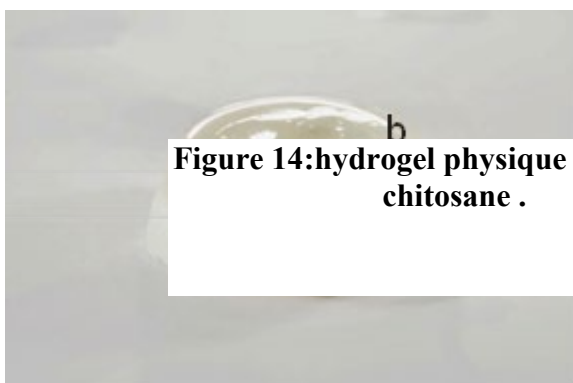


Figure 14: hydrogel physique bicouche de chitosane .

1.29.3. Evaluation des propriétés antibactériennes des hydrogels

Bien que les propriétés antibactériennes du chitosane soient largement documentées dans la littérature du fait de ses nombreuses applications dans les domaines pharmaceutique, agro-alimentaire et biomédical, le plus souvent les études sont conduites en solution, et donc dans des conditions de pH acide. Il est donc délicat de savoir si l'activité antibactérienne observée est-elle due au chitosane lui-même ou à l'acidité du milieu. Pourtant il s'agit là d'une information de grande importance dans le cadre du développement d'un dispositif cicatrisant pour le soin des brûlures. En effet les brûlés sont des patients susceptibles d'être très rapidement infectés et de façon massive du fait de la disparition de la couverture cutanée jouant un rôle essentiel de barrière, et aussi du fait de l'immunodépression sévère qui se développe.[32].

Il nous est donc apparu important d'évaluer cette activité dans des conditions de pH proches de la neutralité, conditions dans lesquelles nos hydrogels sont stables.

Les bactéries peuvent être cultivées en milieux liquide et solide. Les milieux liquides sont utilisés pour la culture de bactéries pures ou lors d'infections microbiennes (culture dans un bouillon nutritif ou encore à partir du sang d'un patient par exemple, on parle alors d'hémoculture). Les milieux solides ou semi-solides, à base d'agar (gélose), sont utilisés pour l'isolement et le comptage. Dans ces milieux sont ajoutés des nutriments favorisant la croissance des bactéries étudiées.

Afin de procéder à une culture bactérienne en milieu liquide et à pH proche de la neutralité, nous avons choisi de travailler à partir de broyats d'hydrogels, dispersés dans le milieu de culture. Ainsi l'effet bactériostatique évalué est celui des dispositifs eux-mêmes.

1.29.3.1.Choix du milieu de culture

Un milieu de culture est composé d'un mélange de substrats nutritifs (acides aminés, peptides, sucres, etc), d'un système tampon pour éviter les variations importantes du pH, de sels minéraux et de vitamines. Il est possible d'ajouter des facteurs de croissance.

Le milieu de culture qui a été choisi est le bouillon de culture Brain-Heart. Il s'agit d'un bouillon d'usage courant qui convient à la culture de germes exigeants. Il est composé principalement d'infusion de cervelle de veau (12.5 g.L⁻¹), d'infusion de cœur de bœuf (5.0g.L⁻¹), de protéose-peptone (10.0g.L⁻¹), de glucose (2.0 g.L⁻¹), de chlorure de sodium (5.0g.L⁻¹), de phosphate disodique (2.5 g.L⁻¹) et d'eau. Le pH du milieu est de 7.4 (+/- 0.2).

Les infusions d'organes sont riches en éléments nutritifs, permettant une croissance rapide des bactéries. L'apparition d'une turbidité dans ce milieu, initialement limpide et légèrement brunâtre, témoigne en général d'une croissance bactérienne.[33].

1.29.3.2.Choix des bactéries

Nous avons choisi d'étudier des bactéries rencontrées couramment et pouvant donc constituer des pathogènes potentiels lors de plaies ou de brûlures profondes : *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa* (Gram -) d'une part, *Staphylococcus aureus* et *Enterococcus faecalis* (Gram +) d'autre part.

***Escherichia coli* (souche CIP 7624)**

Egalement appelée colibacille, il s'agit d'une bactérie du tube digestif des mammifères très communes chez l'être humain. C'est une bactérie commensale, c'est-à-dire que l'hôte lui fournit sa nourriture sans contrepartie mais toutefois sans préjudice, qui peut être cependant à l'origine de diverses pathologies, tant chez l'homme que chez l'animal (diarrhées, gastro-entérites, infections urinaires, méningites, septicémies,...)

***Pseudomonas aeruginosa* (CIP 76110)**

Pseudomonas aeruginosa, ou bacille pyocyanique, est un saprophyte de l'environnement (c'est-à-dire une bactérie qui se nourrit de matière organique en décomposition), vivants dans les sols et les milieux humides (robinets, bouchons,...). Elle est pathogène et très résistante, une des plus difficiles à traiter cliniquement et de plus en plus souvent responsable de maladies nosocomiales, qui s'avèrent mortelles dans le cas de patients immunodéprimés.

Les formes de pathologies qu'elle engendre sont diverses : infection de l'œil et des plaies (surtout s'il s'agit de brûlures ou de plaies chirurgicales), méningites, surinfection des bronches dans la mucoviscidose. Elle induit facilement des infections systémiques chez les personnes immunodéprimées et chez les victimes de brûlures.

***Staphylococcus aureus* (souche ATCC 7625)**

Plus connue sous le nom de staphylocoque doré, c'est une bactérie commensale de la peau et des muqueuses. Elle se révèle être un pathogène opportuniste dans certaines circonstances, et très invasif (multiplication rapide et dissémination dans l'organisme pouvant conduire à une septicémie). Elle agit également par libération d'une ou plusieurs toxines (hémolysine, leucocidine, exfoliatine, enterotoxine,...) lors d'intoxications alimentaires par exemple.

C'est un germe responsable de la suppuration, qui a la capacité de développer des résistances aux antibiotiques, de ce fait il partage avec *Pseudomonas aeruginosa* le premier rôle dans les infections hospitalières.

Enterococcus faecalis (souche CIP 103214)

C'est une bactérie commensale du tube digestif des mammifères pouvant causer des infections mortelles. Son haut niveau de résistance naturelle aux antibiotiques la rend dangereuse, particulièrement en milieu hospitalier.

E. faecalis peut causer des endocardites, des infections de la vessie et de la prostate.

Ces quatre souches bactériennes ont été choisies en raison de leur caractère pathogène pouvant être responsable d'infections dans le cas de plaies ou brûlures profondes. On notera que *P.aeruginosa*, saprophyte de l'environnement, et *S.aureus*, commensale de la peau sont responsables de suppuration si elles sont présentes dans une blessure. *E.coli* et *E.faecalis* étant des bactéries du tube digestif, la contamination des plaies par ces pathogènes est moins fréquente dans la vie de tous les jours mais pourrait être représentative de conditions de vie où les conditions d'hygiène ne peuvent être maintenues.[31].

Propriétés du Chitosane

Le chitosane, dérivé de la chitine présente dans les carapaces de crustacés, est reconnu pour ses propriétés antimicrobiennes, hémostatiques et cicatrisantes. Il favorise la régénération tissulaire et la reformation de l'épiderme, ce qui en fait un matériau de choix pour le développement de pansements[33][35].

Avantages des Pansements à Base de Chitosane

1. Absorption et Gestion de l'Humidité : Les pansements à base de chitosane peuvent absorber jusqu'à 40 fois leur poids en eau, ce qui est crucial pour maintenir un environnement humide favorable à la cicatrisation[35].
2. Propriétés Antimicrobiennes : Le chitosane présente une activité antimicrobienne qui aide à prévenir les infections dans les plaies, un facteur essentiel pour une cicatrisation efficace[35].
3. Biocompatibilité : En tant que polysaccharide naturel, le chitosane est biocompatible, ce qui réduit le risque de réactions indésirables lors de son application sur la peau[32].

Procédé de fabrication de pansements en chitosane, comprenant les étapes consistant à :

- ✓ prévoir une solution aqueuse incluant une bio-substance de chitosane ;
- ✓ placer la solution aqueuse dans un moule ;
- ✓ congeler la solution aqueuse à l'intérieur du moule en refroidissant le moule et la solution aqueuse pour former une structure de chitosane gelée à l'intérieur du moule ;
- ✓ retirer l'eau de la structure de chitosane gelée par un processus de lyophilisation pour former une structure de chitosane spongieuse ; et
- ✓ comprimer la structure de chitosane spongieuse par l'application de chaleur et de pression pour réduire l'épaisseur et accroître la densité de la structure de chitosane spongieuse avec pour résultat une structure de chitosane densifiée constituant un pansement doté d'une force d'adhésion et d'une résistance à la dissolution dans des situations de saignements à haut débit de sang.
- ✓ incluant en outre une étape de préconditionnement de la structure de chitosane densifiée par un chauffage de la structure de chitosane densifiée.
- ✓ incluant en outre une étape de dégazage de la substance de chitosane avant de la placer dans le moule, ladite étape de dégazage consistant à retirer le gaz résiduel de la bio-substance de chitosane pour éliminer les vides ou les bulles de gaz piégées indésirables dans le produit de pansement.
- ✓ pour lequel l'étape de congélation est effectuée en refroidissant la bio-substance de chitosane et en abaissant sa température de la température ambiante à une température finale inférieure au point de congélation, de préférence inférieure ou égale à - 10 °C.
- ✓ pour lequel l'application de chaleur durant la compression met en jeu une température de compression supérieure ou égale à 60 °C.
- ✓ pour lequel les conditions de préconditionnement de la structure de chitosane densifiée consistent à chauffer la structure de chitosane densifiée à une température de jusqu'à 85 °C.
- ✓ pour lequel les conditions de préconditionnement de la structure de chitosane densifiée sont maintenues pendant une période de temps de jusqu'à 0,50 heures.
- ✓ pour lequel l'application de chaleur durant la compression met en jeu une température de compression comprise entre 60 °C et 85 °C.
- ✓ incluant en outre une étape d'irradiation dudit pansement.
- ✓ incluant en outre une étape d'élimination de l'eau présente dans les interstices de la bio-substance de chitosane gelée.
- ✓ durant l'étape d'élimination de l'eau présente dans les interstices de la bio-substance de chitosane gelée, l'eau passe d'une phase de congélation solide à une phase gazeuse sans la formation d'une phase liquide intermédiaire.

- ✓ pour lequel l'étape d'élimination de l'eau présente dans les interstices de la bio-substance de chitosane gelée consiste en une lyophilisation ou en une cryo-substitution ou en une combinaison de incluants en outre une étape de dégazage de ladite solution aqueuse en la chauffant, puis en lui appliquant une pression relative négative avant de la placer dans le moule. celles-ci.
- ✓ incluants en outre une étape de dégazage de ladite solution aqueuse en la chauffant, puis en lui appliquant une pression relative négative avant de la placer dans le moule.

Résultats des Études

Des études ont montré que les pansements à base de chitosane améliorent la cicatrisation par rapport aux pansements traditionnels. Les résultats indiquent une réduction significative du temps de cicatrisation et une diminution des infections dans les plaies traitées avec ces pansements[3][4].

Discussion

L'utilisation de chitosane marin dans les pansements cicatrisants représente une avancée prometteuse dans le domaine des soins des plaies. Les résultats des recherches indiquent que ces pansements non seulement protègent la plaie, mais favorisent également la régénération tissulaire tout en minimisant les risques d'infection. La combinaison de chitosane avec d'autres polysaccharides comme l'alginate pourrait offrir des solutions innovantes pour le traitement des plaies chroniques et complexes.

Donc, les pansements à base de chitosane marin montrent un potentiel significatif pour améliorer les résultats cliniques dans le traitement des plaies, justifiant ainsi des recherches supplémentaires et des développements industriels pour leur mise en œuvre dans la pratique médicale.

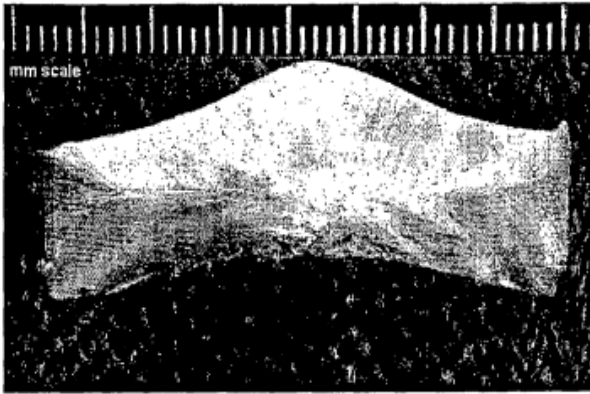


Figure 1. Photo-digital image of transverse cross section through early uncompressed 38 mm diameter wound dressing.

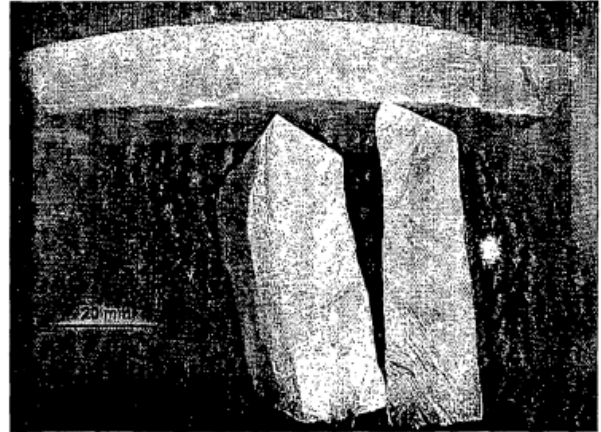


Figure 2. Photo-digital image of transverse cross section through oriented lamella structures in uncompressed chitosan wound dressing.

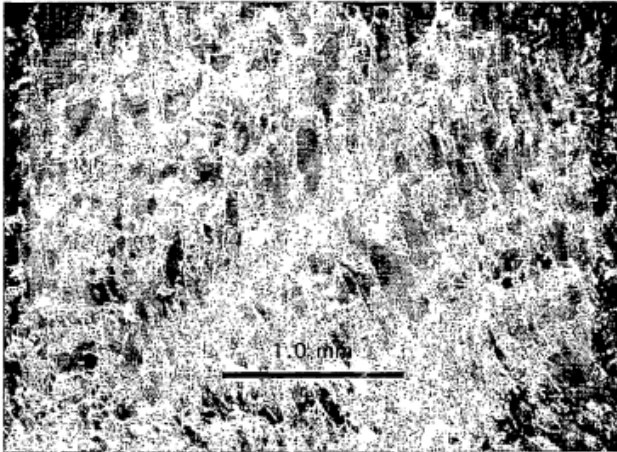


Figure 3. Light photomicrograph of interconnected porous chitosan wound dressing structure sectioned normal to base.



Figure 4. Photograph of chitosan biomaterial wound dressing after heating and compression.

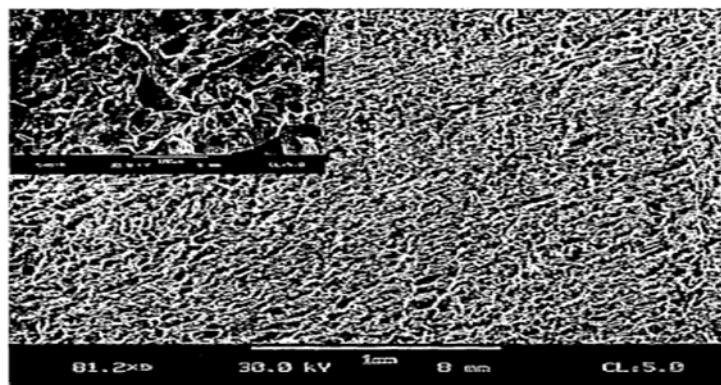


Figure 5. Scanning electron photomicrographs of a typical base surface of compressed chitosan wound dressing. Higher magnification inset (bar = 100 micron).

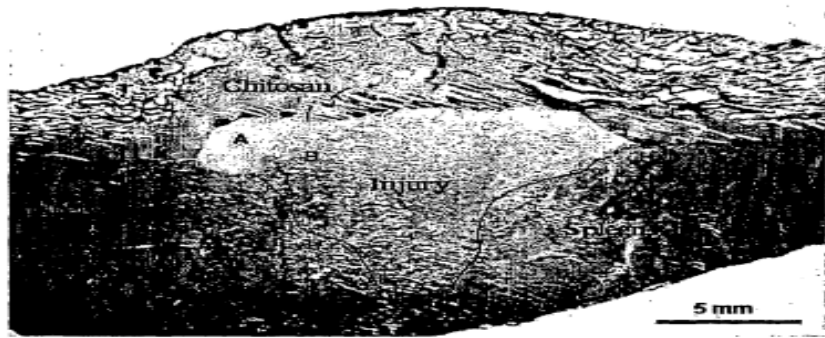


Figure 6. Histological stained section through chitosan/spleen injury site and adjacent splenic surface. Agglutinated clot response (A) with a mixture of fibrin/platelet rich blood clot (B) between patch and spleen. Very good adhesion between spleen and chitosan



Figure 7. Photograph of thoracic aorta injury sealed with chitosan patch

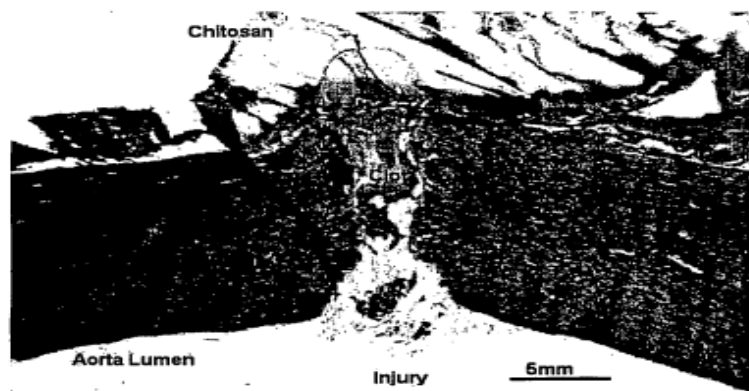


Figure 9. Stained histological section through thoracic aorta injury



Figure 10. Photograph of *in vitro* burst pressure failure in a strongly adherent 2.5 cm diameter dressing

Dans le traitement médical et les soins des plaies cutanées, les articles hémostatiques sont des matériaux nécessaires, et il existe deux principaux types de matériaux hémostatiques disponibles sur le marché :

① organiques comme le collagène, la gélatine, la chitosane, etc.

② inorganiques comme les zéolites poreuses, la kaolinite, etc. Ces matériaux ont tous de bons effets hémostatiques, mais présentent également certains inconvénients. Par exemple, le collagène ne dépend que de l'activation des plaquettes pour stopper le saignement, a un mode d'action unique et une faible adhésivité ; la chitosane est un produit de la chitine dont une partie de l'acétyl a été retirée, possède les caractéristiques de non-toxicité, de sécurité et de biodégradabilité, est facile à obtenir et a un large potentiel d'application, cependant, l'application de la chitosane est limitée car les liaisons hydrogène intramoléculaires et la configuration spatiale des macromolécules de la chitosane ne sont pas facilement solubles dans l'eau et les solvants organiques. Lorsqu'on utilise la zéolite poreuse pour l'hémostase, une grande quantité de chaleur peut être libérée en raison de l'absorption d'eau, ce qui présente un risque de brûlure de la plaie ; le bandage en cellulose carboxyméthylrique ne peut pas se dégrader à la surface de la plaie, et des cicatrices sont facilement générées lorsque le bandage en cellulose carboxyméthylrique est retiré.

En fait, Roveeti a découvert que l'environnement humide de la plaie peut accélérer la migration des cellules épithéliales et favoriser la guérison de la plaie dès 1972. Par conséquent, le bandage recouvrant la surface de la plaie doit être capable de prévenir la perte d'humidité. Les bandages traditionnels tels que la gaze, les bandages, etc., ont un effet protecteur sur la surface de la plaie,

mais ont une capacité de préservation de l'humidité et d'absorption des liquides limitée, ne pouvant absorber que 4 à 5 fois leur poids, et pour certaines plaies, lorsque les bandages traditionnels sont retirés, ils ont tendance à adhérer aux tissus de la plaie, causant des dommages secondaires à la plaie. Ainsi, lors des opérations chirurgicales, un bandage dégradable avec une bonne biocompatibilité est souvent nécessaire pour prévenir l'adhésion des organes.

Ainsi, en se basant sur les quatre étapes de la réparation de la plaie : la phase d'hémostase, la phase inflammatoire, la phase de prolifération et la phase de maturation, le bandage peut répondre aux exigences de toutes les étapes lorsqu'il agit sur une plaie, peut arrêter le saignement à temps, possède des effets antibactériens et anti-inflammatoires, et ne colle pas à la surface de la plaie, permettant ainsi une réparation parfaite de la surface de la plaie.

CONCLUSIONS

CONCLUSIONS

La demande du public en matière de produits renouvelables et biodégradables croît de jour en jour avec la sensibilisation à la protection de l'environnement. Il existe une recherche active visant à produire des matériaux plus respectueux de l'environnement et de la santé.

Parmi les matières premières de bon marché, renouvelables et non nocives pour l'environnement, on retrouve les polysaccharides qui suscitent un intérêt croissant pour le développement. Parmi les polysaccharides qui ont retenu l'attention des chercheurs dans le domaine de la biomédicale, on retrouve la chitine et son principal dérivé, le chitosane. Ses propriétés exceptionnelles que nous avons précédemment énumérées expliquent l'engouement pour ces macromolécules naturelles, extraites de carapaces de crustacés, considérées il y a encore peu comme des déchets. Il s'est en effet avéré que ces coproduits d'origine marine, très bon marché, peuvent participer à l'élaboration de produits commerciaux à haute valeur ajoutée. En pratique, toutes les applications du chitosane sont intimement liées à son caractère polycationique qui est unique parmi les polymères naturels. De nombreux secteurs industriels sont concernés, allant des cosmétiques à l'industrie agroalimentaire, en passant par la pharmacie et l'ingénierie biomédicale. Les perspectives sont variées et nombreuses. De nouveaux marchés prometteurs sont également susceptibles de s'ouvrir, comme par exemple dans le domaine des biotechnologies. Pour des expérimentations futures, il apparaît envisageable d'utiliser ces biopolymères afin d'effectuer une livraison cellulaire ainsi que d'agents thérapeutiques tout en évitant l'utilisation d'endoprothèse vasculaire permanente. Cette stratégie de réendothélialisation serait très utile chez les personnes âgées ainsi que chez celles atteintes de maladies cardiovasculaires afin d'augmenter la disponibilité de CEP fonctionnelles. D'ailleurs, la livraison de cellules directement au site de lésion pourrait permettre d'améliorer la réparation vasculaire.

Finalement, à partir des résultats que nous avons obtenus, nous pouvons affirmer que le chitosane peut être utilisé comme une bonne matière première pour les produits pharmaceutique. Grâce à son faible coût, son abondance dans l'environnement, ses propriétés biologiques, il présente de meilleures caractéristiques comme une molécule d'avenir.

Ce mémoire a pour objectif d'explorer l'efficacité des pansements cicatrisants à base de chitosane marin, en évaluant leurs propriétés physico-chimiques et biologiques.

Les résultats obtenus démontrent que les pansements élaborés présentent des caractéristiques favorables à la cicatrisation, notamment grâce à la biocompatibilité et aux propriétés antimicrobiennes du chitosane

Cependant, il est important de noter certaines limites, telles que la variabilité des résultats en fonction des conditions expérimentales et des types de plaies. Une exploration plus approfondie pourrait inclure des études cliniques pour valider ces résultats dans un contexte médical réel. De plus, l'intégration d'autres biomatériaux pourrait enrichir les propriétés des pansements et élargir leur champ d'application.

En conclusion, Un bandage hémostatique modifié à base de chitosane, doté de propriétés anti-infection et anti-adhésion, est caractérisé par le fait qu'il se compose, de la surface de la plaie vers l'extérieur, d'une couche hémostatique rapide, d'une couche composite antibactérienne et d'une couche de protection extérieure. La couche hémostatique rapide est un film en gel de chitosane modifié, conçu pour absorber les ions calcium. Ce film en gel de chitosane modifié est préparé par réticulation et modification des fibres alimentaires insolubles de patate douce et du chitosane. La couche composite antibactérienne est un film composite d'alginate/amidon de patate douce chargé de microsphères composites de rectorite organique/chitosane, ces microsphères composites de rectorite organique/chitosane comprenant des facteurs de croissance fibroblastiques basiques et des protéines actives d'asticot. La couche de protection extérieure est formée par greffage du chitosane sur un tissu non tissé ou du coton absorbant. Les couches hémostatique rapide, composite antibactérienne et de protection extérieure sont reliées entre elles par des effets physiques et chimiques.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- [1] **MARQUIS-DUVAL F.O. (2008)**. Isolation et valorisation des constituants de la carapace de crevette nordique. Québec, Université Laval, Faculté des sciences et génie. P 98 .
- [2] **BEAUMONT, A. ET CASSIER, P. (2000)**. Biologie animale : des protozoaires aux métazoaires épithélioneuriens. Paris Dunod. 970 p.
- [3] **FERNANDEZ- KIM, S. O. (2004)**. Physicochemical and functional properties of crawfish chitosan as affected by different processing protocols. Thesis of the Louisiana State University.
- [4] **NO et al. (1989)**. Isolation and characterization of chitin from crawfish shell waste. Journal of agricultural and food chemistry.37 (3), P.P 575- 579.
- [5] **PLOUFFE B. (1997)**. Production de chitosanases modulaires munies d'un site d'attachement à la cellulose et étude de leur activité en bioréacteur. Mémoire de Maîtrise en Sciences (M. Sc.). Université de Sherbrooke, Canada.
- [6] **KIEFER. (1999)**. Le chitosane (en ligne). (Consulter le 16 Mars 2024).disponible à l'adresse :<<http://www.France.com/kiefer/Es.htm>>.
- [7] **SHAHIDI, F. AND ABUZAYTOUN, R. (2005)**. Chitin, chitosan, and co-products: chemistry, productions, applications, and health effects. Adv. Food Nutr. Res., tom 49. P.P93-135.
- [8] **KM .VARUM, A. DOMARD, O. SMIDSRØD, EDS.TRONDHEIM, PA. SANDFORD. (2003)**.Commercial sources of chitin, chitosan, and their utilization. Advances in chitin science. : NTNU6. 35P.
- [9] **STEWART, G. ET NOYES-HULL, G. (2010)**. Feasibility of producing value added products from snow crab processing waste in Cape Breton, Nova Scotia, The Gulf Aquarium and Marine Station Cooperative, Nova Scotia, submitted to Nova Scotia Department of Fisheries and Aquaculture. 38 p.
- [10] **GIA : CHITINE ET CHITOSAN. (2010)**. Un Rapport De Gestion Stratégique Global. Global Industry Analysts. MCP-2039.P.P 230-234.
- [11] **KURITA, K. (2006)**. Chitin and chitosan: functional biopolymers from marine crustaceans. Marine biotechnology. New York. P.P 203-226.

- [12]JEON, YJ. KAMIL, J. SHAHIDI, F. (2002). Chitosan as an edible invisible film for quality Preservation of herring and Atlantic cod. J Agric Food Chem. P.P5167-5178.
- [13]RAVI KUMAR, M.N.V. (2000). A review of chitin and chitosan applications. React. Funct. Pol. P.P1-27.
- [14]KARINE LE ROUX. (2012). Purification de la chitine par hydrolyse enzymatique à partir de coproduits de crevette *Penaeus vannamei*. Caractérisations des produits et optimisation du procédé. Université de Nantes. 23 p.
- [15]TSIGOS et al. (2000). Chitin deacetylases: new, versatile tools in biotechnology. Trends in biotechnology. Tom 18. P.P 305-312.
- [16]KHOR, E. ET LIM, L.Y. (2003). Implantable applications of chitin and chitosan. Biomaterials. Tom 24. P.P 2339-2349.
- [17]LAMARQUE, G. VITON, C. ET DOMARD, A. (2004). Comparative study of the first heterogeneous deacetylation of alpha- and beta-chitins in a multistep process. Bio macromolecules. Tom 5. P.P 992-100.
- [18]KUHN et al. (1990). Biochemistry of cell walls and membranes in fungi. Berlin: Heidelberg.
- [19]GARDNER, K.H. ET BLACKWELL, J. (1975). Refinement of the structure of beta-chitin. Biopolymers. Tom 14. P.P 1581-1595.
- [20]MINKE, R. ET BLACKWELL, J. (1978). The structure of alpha-chitin. Journal of molecular biology. P.P 167-181.
- [21]KUMAR et al. (2004). Chitosan chemistry and pharmaceutical perspectives. Chemical reviews. P.P 6017-6084.
- [22]KURITA, K. (2001). Controlled functionalization of the polysaccharide chitin. Progress in Polymer Science. Tom 26. P.P 1921-1971.
- [23]SUZUKI et al. (1990). Proceedings of the fifth International Conference on chitin and chitosan, USA. P.P 96- 105.
- [24]KITTUR et al (2002). Characterization of chitin, chitosan and their carboxymethyl derivatives by differential scanning calorimetry carbohydrate polymers. P.P 185-193.

[25]MAJETI, N.V. ET KUMAR, R. (2000). A review of chitin and chitosan applications. Reactive & fonctionnal polymers. P.P 1-27.

[26]RINAUDO, M. (2006). Chitin and chitosan: Properties and applications. Progress in polymer sciences. P.P 603-632.

[27]C.M.IGNAT. (2012). Compatibilité et co-structuration dans des systèmes contenant des Scléroprotéines et des polysaccharides. Université de PAU et des Pays de l'Adour UFR Sciences et Techniques, France.

[28]SHIGEMASA et al. (1994). Enzymatic degradation of chitins and partiallydeacetylated chitins. Int. J. Biol. Macromol. P.P 43-49.

[29]CHIH et al. (2002). Purification, characterization and cloning of a chitinase from Bacillus sp. NCTU2. Biotechnol.Appl. Biochem. Tom 35. P.P 213-219.

[30]YANG, Y. P. XU, X- H. CHEN, H. F. (2004). Treatment of chitin-producing wastewater by micro- electrolysis- contact oxidization. Journal of Zhejiang University Science. P.P 436-440.

[31](2003). Consulté le 2024, sur L'Inventaire national du patrimoine naturel (INPN) : <https://inpn.mnhn.fr> Le 25 août 2024

[32]34641071 PMC8512059.Récupéré sur National Library of Medicine: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8512059/>.

[33] (1996, 07 16). Pansement pour plaies chroniques, notamment escarres, en gel de chitine. france: WO1997003708A1.

[34] Dumont, M. (s.d.). Élaboration et caractérisation de fibres mixtes Alginate. Consulté le 2016LYSE1303ff, sur Université de Lyon, 2016. Français.: <https://theses.hal.science/tel-01543510/document>.

[35] (1996, 07 16). Pansement pour plaies chroniques, notamment escarres, en gel de chitine.france:WO1997003708A1.

Annexe

BMC

| Partenaire clés | Activité clés | Proposition de valeur | Relation clients | Segments de clientèle |
|--|--|--|--|---|
| <ul style="list-style-type: none"> - Fournisseurs de chitosane marin de haute qualité ^ - Instituts de recherche algériens pour développer des innovations sur le produit - Distributeurs pharmaceutiques pour atteindre les pharmacies et hôpitaux - Organismes de réglementation comme le ministère de la Santé pour assurer la conformité | <ul style="list-style-type: none"> - Recherche et développement pour améliorer constamment les propriétés des pansements - Fabrication de haute qualité dans des conditions stériles - Marketing ciblé auprès des professionnels de santé - Distribution efficace pour livrer rapidement les commandes - Contrôle qualité rigoureux à chaque étape du processus | <ul style="list-style-type: none"> - Pansements biodégradables, antimicrobiens et hypoallergéniques - Propriétés cicatrisantes améliorées pour une guérison plus rapide des plaies - Produits innovants développés spécifiquement pour le marché algérien | <ul style="list-style-type: none"> - Service clientèle réactif pour répondre aux questions et préoccupations - Service après-vente pour gérer les retours et réclamations - Numéro de téléphone et présence sur les réseaux sociaux pour une communication fluide | <ul style="list-style-type: none"> - Pharmacies à travers l'Algérie pour la vente au détail - Cliniques et hôpitaux publics et privés pour les gros acheteurs - Patients souffrant de plaies chroniques comme les escarres |
| | <p>Ressource clés</p> <ul style="list-style-type: none"> - Chitosane marin de haute qualité en quantité suffisante - Machines et équipements de pointe pour une fabrication de qualité - Équipe de recherche et de production qualifiée et expérimentée | | <p>Canaux</p> <ul style="list-style-type: none"> - Ventes directes aux pharmacies, cliniques et hôpitaux par un réseau de délégués médicaux - Ventes en ligne pour les particuliers et les petits acheteurs - Publicité ciblée dans les revues médicales et sur les réseaux sociaux professionnels | |

| | | | | |
|---|--|--|---|--|
| | | | - Présence dans les expositions et forums de santé pour générer du trafic | |
| <p align="center">Structure des coûts</p> <ul style="list-style-type: none"> - Coûts des matières premières et du matériel de production - Coûts de fonctionnement (électricité, eau, gaz) pour la fabrication - Budget R&D pour développer de nouveaux produits - Dépenses marketing et publicitaires pour générer des ventes - Coûts de distribution pour livrer rapidement les commandes | | <p align="center">Sources de revenus</p> <ul style="list-style-type: none"> - Ventes des pansements cicatrisants aux pharmacies, cliniques et hôpitaux - Contrats gouvernementaux pour fournir les hôpitaux publics - Possibilité de vendre directement aux patients via le site web | | |

Ce tableau (BMC) fourni traite des aspects clés de la production et de la distribution de pansements cicatrisants à base de chitosane marin en Algérie.

- Fournisseurs de Chitosane Marin
- Partenaires Clés

- **Chitosanlab.com** : Fournisseur basé en France avec des unités de production en Asie, capable de produire plus de 500 tonnes de chitosane par an. Ils acceptent des commandes à partir de 50 kg.

- Fournisseurs Locaux

- **Laboratoires et Instituts de Recherche :**

- **Université de Blida** : Travaux sur l'extraction et la caractérisation du chitosane marin.
- **Saidal et Beker-Dar El Beidha** : Utilisent le chitosane dans leurs produits pharmaceutiques.
- **Université de Tlemcen** : Recherches sur l'extraction de chitine et chitosane à partir de déchets marins.

- Applications Biomédicales

- **Recherche et Développement :**

- **Université de Blida** : Études sur les propriétés physico-chimiques et biologiques du chitosane.
- **Université de Guelma** : Recherche sur les propriétés antimicrobiennes du chitosane pour des pansements.

- Distributeurs Pharmaceutiques

- Principaux Distributeurs

1. **Unipex** : Spécialisé dans la distribution de matières premières pharmaceutiques.
2. **VECOPHARM** : Groupe pharmaceutique algérien actif dans la distribution et production.
3. **HYDRA PHARM** : Offre des services intégrés pour ses partenaires.
4. **MedicinaPlast** : Réseau de distribution étendu à travers l'Algérie.
5. **Groupe ACP PHARM** : Acteur majeur dans la distribution de produits pharmaceutiques.
6. **IBN SINA** : Distributeur établi à Bab El Oued.

- Réglementation et Contrôle de Qualité
- Organismes de Régulation

- **Ministère de la Santé** : Responsable de la politique de santé publique et de la réglementation des produits médicaux.
- **Agence Nationale des Produits Pharmaceutiques (ANPP)** : Évaluation et autorisation des médicaments avant leur mise sur le marché.

- Initiatives de Recherche et Développement
- Institutions Impliquées

1. **Université de Tlemcen** : Recherche sur les biomatériaux et dispositifs médicaux.
2. **École Nationale Polytechnique (ENP)** : Optimisation des propriétés des pansements à base de chitosane.
3. **Université de Blida** : Développement de nouveaux produits adaptés aux besoins du marché.

- Stratégies de Marketing
- Approches Ciblées

- **Délégués Médicaux** : Formation d'une équipe pour visiter médecins et pharmacies.
- **Publicité Ciblée** : Annonces dans revues médicales et sponsoring d'événements.
- **Éducation des Patients** : Matériel éducatif pour informer sur les avantages des pansements.

- Logistique et Distribution
- Stratégies Efficaces

1. **Partenariats Locaux** : Collaboration avec des distributeurs établis.
2. **Systemes de Commande** : Développement d'une plateforme de commande en ligne.
3. **Formation du Personnel** : Sensibilisation des professionnels de santé sur les produits.

- Contrôle Qualité
- Phases Clés

1. **Sélection des Matières Premières** : Contrôles physico-chimiques et microbiologiques.
2. **Contrôle en Cours de Fabrication** : Analyse de la qualité à différentes étapes.
3. **Suivi Post-commercialisation** : Surveillance des performances des produits après mise sur le marché.

- Fabrication en Algérie
- Établissements Clés

- **Nano Medical** : Pionnier dans la fabrication de dispositifs médicaux à base de chitosane.
- **Laboratoires Universitaires** : Recherche sur l'utilisation du chitosane dans les pansements.
- **SARL SAICA** : Acteur clé dans l'analyse et le contrôle qualité des produits médicaux.

RESUME

Résumé en français : Ce mémoire de fin d'études, présenté par Bouras Bedra, se concentre sur l'élaboration et la caractérisation de pansements innovants à base de chitosane marin. L'étude évalue les propriétés physico-chimiques et biologiques de ces pansements, mettant en lumière l'efficacité du chitosane dans le processus de cicatrisation. Le travail s'inscrit dans le domaine de la biotechnologie marine et vise à développer des solutions novatrices pour le traitement des plaies, soulignant le potentiel du chitosane comme matériau prometteur pour les applications médicales.

Summary in English: This thesis, presented by Bouras Bedra, focuses on the development and characterization of innovative dressings made from marine chitosan. The study evaluates the physicochemical and biological properties of these dressings, highlighting the effectiveness of chitosan in the wound healing process. The work is situated within the field of marine biotechnology and aims to develop innovative solutions for wound treatment, emphasizing the potential of chitosan as a promising material for medical applications.

ملخص باللغة العربية: تستعرض هذه الرسالة المقدمة من بوراس بدراس بدراسة تطوير وتصنيف ضمادات مبتكرة مصنوعة من الكيتوزان البحري. تقيم الدراسة الخصائص الفيزيائية والكيميائية والبيولوجية لهذه الضمادات، مع تسليط الضوء على فعالية الكيتوزان في عملية التئام الجروح. يندرج هذا العمل ضمن مجال التكنولوجيا الحيوية البحرية ويهدف إلى تطوير حلول مبتكرة لعلاج الجروح، مع التأكيد على إمكانيات الكيتوزان كمادة واعدة للتطبيقات الطبية.