

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

Ministère de l'Enseignement
supérieur et de la Recherche
scientifique

Université Mouloud
MAMMERY de Tizi-Ouzou

Faculté de Médecine

Département de Pharmacie

N° d'ordre : 002



ⵜⴰⴳⴷⴰⵢⵜ ⵜⴰⵎⴻⵔⴰⵏⵜ ⵜⴰⵎⴰⵏⴰⵢⵜ ⵜⴰⵖⴻⵔⴰⵏⵜ

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة مولود معمري

تيزي وزو

كلية الطب

قسم الصيدلة

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

Présenté sous forme d'article

Soutenu publiquement le 02/07/2023 en vue de l'obtention du diplôme de

Docteur en Pharmacie

Sous le Thème

**Conception d'un pansement biosourcé aux propriétés
antioxydante, antimicrobienne et anti-inflammatoire
pour une utilisation contre les escarres**

Réalisé par

M^{me} Maya KEHRI

M^{me} Sara Rym LAKHEL

Encadré par

D^r Koceïla DOUFENE

D^r Belaid MOKRANI

Membres du jury

P ^r Marzouk MAMOU	Professeur – HU	UMMTO – CHU de Tizi-Ouzou	Président du jury
D ^r Amina DAHMOUNE	MCA – HU	UMMTO – CHU de Tizi-Ouzou	Examinatrice
D ^r Meriem Sana KHELIF	DT	Octeopharm HEALTHCARE Industry	Examinatrice
P ^r Nouara HAMLIL	Professeur	UMMTO	Responsable du CATI
D ^r Saïd KHIAR	MA-HU	UMMTO – CHU de Tizi-Ouzou	Représentant de l'incubateur
D ^r Madjid ZERGOUG	Pharmacien	Pharmacie ZERGOUG	Membre expert de l'incubateur
D ^r Koceïla DOUFENE	MCB	UMMTO	Encadrant
D ^r Belaid MOKRANI	MA-HU	UMMTO – CHU de Tizi-Ouzou	Co-encadrant

Année universitaire 2022/2023

« Conception d'un pansement biosourcé aux propriétés antioxydante, antimicrobienne et anti-inflammatoire pour une utilisation contre les escarres »

Auteurs :

Maya KEHRI, Sara Rym LAKHEL, Ouiza SEBAOUI, Belaid MOKRANI, Koceïla DOUFENE*

Affiliation :

Université Mouloud MAMMERY de Tizi-Ouzou, Tizi-Ouzou, Algérie

* **Auteur correspondant :** koceila.doufene@ummtto.dz

Note :

Les travaux de cet article entrent dans le cadre de l'arrêté ministériel n°1275 du Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique. Une demande de Label « projet innovant » a été soumise le 17/06/2023, et un dépôt de Brevet a été effectué le 25/06/2023.

Résumé

La prise en charge des escarres de stades I et II nécessite, entre autres, des pansements qui protègent la zone lésée, agissent contre les infections, et maintiennent un environnement propice à la cicatrisation de la plaie. Dans ce contexte, notre travail s'est axé sur l'exploitation de matières premières naturelles locales (Algérie) et sur la mise en place de procédés verts pour la conception d'un pansement utilisé contre les escarres. D'un côté, le lin (*Linum usitatissimum* L., Linaceae) a été exploité pour ses fibres nécessaires au tissage du support bioactif et pour son mucilage extrait des graines (ML) servant de base aqueuse gélifiée. D'un autre côté, le Pistachier lentisque (*Pistacia lentiscus* L., Anacardiaceae) a été exploité pour l'huile essentielle de ses feuilles (HE) aux vertus réputées en médecine traditionnelle. Le pouvoir antiradicalaire de l'HE, déterminé par le test à la DPPH, a montré une activité comparable à celle de l'acide ascorbique à 1 g/l. L'activité antibactérienne de l'HE étudiée par méthode de diffusion sur disques a démontré une inhibition de la pousse de *Staphylococcus aureus* et de *Bacillus cereus*. L'HE a été dispersée dans le ML formant des émulsions à différentes concentrations, stables sur une durée excédant les 45 jours. L'émulsion HE/ML étalée sur le support tissé en fibres de lin, a montré de bonnes qualités d'adhésion au support et à la peau, soulignant tout le potentiel de ce pansement biosourcé.

Abstract

The management of stage I and II pressure ulcers requires dressings that protect the injured area, act against infections, and maintain an ideal environment for wound healing. In this context, our study focused on the valorization of local natural raw materials (Algeria) and the implementation of green processes for the design of a dressing against pressure ulcers. On one hand, flax (*Linum usitatissimum* L., Linaceae) was used for weaving a bio-functional fiber-based support, and its hydrogel, extracted from the seeds (FSH), served as a viscous aqueous base. On the other hand, the lentisk (*Pistacia lentiscus* L., Anacardiaceae) was used for the essential oil extracted from its leaves (EO) which is renowned for its virtues in traditional medicine. The free-radical scavenging activity of the EO, determined by the DPPH assay, was shown to be similar to that of 1g/l of ascorbic acid. The antibacterial activity of the EO, studied by disk diffusion assay, reported a growth inhibition of *Staphylococcus aureus* and *Bacillus cereus*. The EO was dispersed in the FSH to form various emulsions of different concentrations. The emulsions stayed stable up to 45 days. The EO-FSH emulsions, spread on the woven flax fiber-based support, exhibited good adhesion qualities on both the support and the skin, highlighting the potential of this bio-based dressing.

I. Introduction

Une escarre est une lésion localisée de la peau résultant de la compression des tissus cutanés et des tissus mous sous-jacents par les saillies osseuses ou par un dispositif médical de façon intense et/ou prolongée.¹ Les escarres peuvent être classées en quatre stades selon l'état et la profondeur de la lésion, allant du stade I (érythème persistant) au stade IV (perte tissulaire complète, avec exposition osseuse, tendineuse ou musculaire).²

Plusieurs échelles permettent de chiffrer le risque pour un patient de développer des escarres, parmi lesquelles l'échelle de Braden, recommandée consensuellement par l'Agence Nationale d'Accréditation et d'Evaluation en Santé (actuelle Haute Autorité de Santé, France).³ Elle se base sur six critères d'évaluation : la friction et le cisaillement, la diminution de la perception sensorielle, l'humidité, l'activité, la mobilité et la nutrition. Une étude transversale menée en Finlande de 2018 à 2019 (16 établissements de soin, 5902 patients) a rapporté une prévalence des escarres de 12,7 % et une incidence résultant d'une hospitalisation de 10 %.⁴ Les escarres touchent jusqu'à 3 millions d'individus par an aux Etats-Unis, avec une prévalence estimée de 5 à 15 % en milieu hospitalier.⁵

La formation des escarres d'un point de vue physiopathologique est multifactorielle.⁶ Des épisodes d'ischémie-reperfusion conduisent à un stress oxydatif important et à une réaction inflammatoire stérile.⁷ De plus, la charge mécanique exercée sur la peau conduit à une stase lymphatique et à une mort cellulaire programmée. Le processus de réparation tissulaire (cicatrisation) peut être influencé par divers facteurs, locaux (taux d'oxygénation de la plaie, infection, présence d'un corps étranger, insuffisance veineuse) ou systémiques (altération de l'état général, âge, sexe, stress).⁸

La prise en charge des escarres de stade I et II nécessite une diminution de la pression exercée, une surveillance clinique et l'application de pansements qui maintiennent une bonne hydratation de la plaie. Ajouté à cela, des agents antimicrobiens (ex. antibiotiques) sont nécessaires au contrôle de l'infection au stade II. Le traitement des stades III et IV fait, quant à lui, appel à la chirurgie et à des traitements pharmacologiques d'appoint.⁹

Un pansement idéal protège l'escarre des agressions extérieures telles qu'une prolifération microbienne et maintient une certaine humidité de la plaie tout en absorbant les exsudats. Il permet également les échanges gazeux et maintient la température de la plaie. Il doit être stérile, atoxique, hypoallergénique, confortable et accessible financièrement.^{10,11} Les pansements

disponibles actuellement peuvent être classés en traditionnels, modernes, bioactifs, et substituts tissulaires créés par ingénierie.¹⁰

De nos jours, le monde de l'innovation tend à s'éloigner des procédés de synthèse aux déchets industriels toxiques, et se recentre sur l'exploitation des matières premières biosourcées et sur la mise en place de procédés d'ingénierie éco-responsables répondant aux principes d'une chimie verte telle que décrite par Anastas.¹² Le domaine médico-pharmaceutique n'est pas en reste et voit cette approche s'appliquer au développement de matériels médicaux biosourcés et écoresponsables, tel que les pansements conçus de textiles naturels bioactifs aux propriétés anti-inflammatoire¹³, antibactérienne¹⁴ et/ou antifongique.¹⁵ Cette bio-activité est généralement conférée par le greffage de molécules actives sur les fibres textiles ou par un traitement en surface à base d'hydrogel tel que la bêta-cyclodextrine.¹⁶

Dans ce contexte, le lin (*Linum usitatissimum* L., Linaceae) se distingue en offrant deux produits fort intéressants : les fibres extraites de ses tiges, et le mucilage extrait de ses graines (ML). D'un côté, la fibre présente des caractéristiques mécaniques et thérapeutiques optimales pour l'élaboration d'un textile naturellement bioactif, dont une importante hydrophilie, une bonne flexibilité, une hypoallergénicité et des propriétés anti-inflammatoire et analgésique apportées par sa composition en cannabidiol.^{17,18} Les travaux de Gębarowski et al.¹⁹ et Skórkowska et al.²⁰ ont mis en évidence l'efficacité des fibres et pansements en lin dans le processus de cicatrisation de par leurs rôles dans la protection de la plaie, l'absorption de l'exsudat et leur l'activité antioxydante intrinsèque. D'un autre côté, le ML, composé d'hydrocolloïdes (polysaccharides et protéines),²¹ présente une atoxicité,²² une biocompatibilité et une biodégradabilité remarquables.²³ Ces caractéristiques, associées à la capacité du ML à stimuler les processus d'hémostase et de cicatrisation, en font un très bon candidat pour la mise au point de pansements hémostatiques et cicatrisants.²⁴⁻²⁶

Par ailleurs, le Pistachier lentisque (*Pistacia lentiscus* L., Anacardiaceae) offre des feuilles qui sont exploitées dans la médecine traditionnelle de plusieurs pays, dont l'Algérie, le Maroc et l'Italie, pour leur propriété cicatrisante.²⁷⁻²⁹ L'huile essentielle extraite à partir des feuilles de Pistachier lentisque (HE) possède également des propriétés antibactérienne, antiparasitaire, antioxydante et anti-inflammatoire.³⁰⁻³² Dans une étude comparative, Sehaki et al.³³ ont mis en évidence les caractéristiques de l'HE extraite dans la région de Tizi-Ouzou (station Ait Irane), ainsi que la variabilité de ses propriétés en fonction de l'altitude et de la période de récolte. Selon cette étude, l'activité antioxydante la plus importante est observée avec l'HE récoltée en haute altitude (montagne). D'autres études soulignent les propriétés antibactériennes de l'HE

récoltée au printemps grâce à ses taux importants d' α -pinène (13,1 %) et de β -caryophyllène (10,7 %).^{31,34,35} Dans cet article, nous décrivons la mise au point d'un pansement tissé à partir de fibres de lin, imbibé du ML au sein duquel est dispersée l'HE récoltée à deux périodes de l'année (en hiver et au printemps), pour une utilisation contre les escarres. L'objectif de ce travail était d'exploiter et de valoriser des matières premières naturelles locales (Algérie) et de mettre en place des procédés verts pour la conception d'un pansement utile dans la prise en charge des patients atteints d'escarres.



Figure 1. A gauche, plant de lin (*Linum usitatissimum* L.), herbacée annuelle de la famille des *Linaceae*.
A droite, rameau de pistachier lentisque (*Pistacia lentiscus* L.), arbuste dioïque à feuillage persistant de la famille des *Anacardiaceae*.

II. Matériel et méthodes

1. Matériel

1.1. Obtention et caractérisation de l'huile essentielle des feuilles de Pistachier lentisque

Matières premières

Feuilles de Pistachier lentisque (*Pistacia lentiscus* L.)

Réactifs et solvants

2,2 diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH ; D9132-1G, SIGMA-ALDRICH), acide L-ascorbique (95210-250G, SIGMA-ALDRICH), éthanol absolu (Riedel-de Haën, Allemagne)

Appareils et verrerie

Clevenger (WEPA Apothekenbedarf), balance (ACCULAB, Sartorius Group), chauffe-ballon 1 L (Model 655, NAHITA), ballon 1L (SCHOTT, Duran), balance analytique (ALT 220-5DAM, KERN), spectrophotomètre UV-Visible (UV-1900i, SHIMADZU)

Bec bunsen (Erdgas), boîtes de Petri stériles de 90 mm de diamètre, bouillons cœur-cerveau (BHIB ; Sarl Equiprolab, Algérie), milieu Mueller Hinton (MH ; DIMED, Algérie), gélose nutritive (GN ; DIMED, Algérie), pipettes pasteur, écouvillons stériles.

Souches bactériennes

Escherichia coli ATCC 25922, *Bacillus cereus* ATCC 14575, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Pseudomonas aeruginosa* (souche isolée d'un prélèvement clinique, Laboratoire de Microbiologie, CHU de Tizi-Ouzou).

Disques d'antibiotiques

Colistine chargée à 10 µg (CS10), vancomycine chargée à 30 µg (VA30) et gentamicine chargée à 10 µg (CN10).

1.2. Obtention du mucilage à partir des graines de lin

Matières premières

Graines de lin (*Linum usitatissimum*)

Appareils

Plaque chauffante (STUART SB-162 BioCote), balance (440-45N, KERN), disperseur-homogénéiseur (T18 digital ULTRA-TURRAX, IKA), tamis à mailles de 1,5 mm et de 0,5 mm, balance analytique (ABS 320-4N, KERN), viscosimètre à chute de bille

(THERMO, Electron Corporation), bille à viscosimètre (800-0182, kugelsatz), pycnomètre de 4,908 ml.

1.3. Emulsification

Réactifs, solvants et colorants

Polysorbate 80 (PS80 ; biochem chemopharma, France), huile essentielle modèle de Pistachier lentisque (HEM ; maison nectar, Algérie), noir soudan B.

Appareils et logiciels

Disperseur-homogénéiseur (T18 digital ULTRA-TURRAX®, IKA), microscope optique (B1 Series, Motic), logiciel de traitement d'image ImageJ (Wayne Rasband and contributors, NIH, USA).

1.4. Tissage des supports en fibre de lin

Matière première

Fil de lin non blanchi sur cône de 250 g, de titrage Nm 12/2 (Alysse Créations, France).

Appareils

Métier à tisser en bois de 15x12,5 cm à 18 encoches distantes de 3,5 mm, muni d'un peigne en bois, d'une navette et de 3 batônnetts.

2. Méthodes

2.1. Obtention de l'huile essentielle à partir des feuilles de Pistachier lentisque

2.1.1. Récolte des feuilles

Les feuilles de Pistachier lentisque (*Pistacia lentiscus*) ont été récoltées à la station d'Ait-Irane, commune d'Ait Bouaddou, wilaya de Tizi-Ouzou, Algérie (longitude 36°29'058.300 N, latitude 4°04'043.400 E, altitude 876 m) à deux périodes distinctes de l'année : en hiver (fin janvier-début février) puis au printemps (fin avril). Les deux récoltes ont été effectuées de façon identique et sur les mêmes arbustes : trois pieds femelles allant de 1,60 à 2 m de hauteur, aux quatre côtés de chaque arbuste, tel que décrit par Sehaki et al.³³

Les feuilles ont ensuite été séchées à température ambiante, à l'abri de la lumière et de l'humidité puis grossièrement broyées.

2.1.2. Extraction de l'huile essentielle

L'huile essentielle de Pistachier lentisque (HE) a été extraite par hydrodistillation à l'aide d'un appareil Clevenger. Environ 90 g de feuilles broyées ont été utilisées à chaque cycle d'une durée moyenne de deux heures.

2.1.3. Détermination de l'activité anti-radicalaire de l'huile essentielle

L'activité anti-radicalaire des HE d'hiver et de printemps a été déterminée en appliquant le test à la DPPH, selon le protocole suivant : une solution de DPPH à 60 µM a été préparée en solubilisant 2,41 mg de DPPH dans 100 ml d'éthanol absolu. Un aliquot de 100 µl d'HE a été traité avec 3,9 ml de la solution de DPPH. Après 30 mn à l'abri de la lumière, l'absorbance de l'échantillon a été mesurée à une longueur d'onde de 517 nm en prenant comme blanc réactif l'éthanol absolu. Deux essais ont été effectués, et les résultats sont présentés en moyenne ± écart-type. L'acide ascorbique à 1 g/l (5,7 mM) a été utilisé comme contrôle positif.

L'activité anti-radicalaire de l'HE se traduit par une diminution de l'absorbance de l'échantillon, rapportée à l'absorbance de la solution de DPPH, utilisée comme contrôle négatif (virage de la couleur de l'échantillon du violet au jaune). Elle est donnée par la formule suivante³¹ :

$$AA\% = \frac{A_{\text{contrôle}} - A_{\text{échantillon}}}{A_{\text{contrôle}}} \times 100$$

Avec :

$AA\%$ = Pourcentage de l'activité anti-radicalaire

$A_{\text{contrôle}}$ = Absorbance du contrôle négatif à 517nm

$A_{\text{échantillon}}$ = Absorbance de l'échantillon à 517nm

2.1.4. Etude de l'activité antimicrobienne

2.1.4.1. Préparation des milieux et des souches bactériennes

Les quatre souches bactériennes à tester ont été revivifiées dans un milieu BHIB pendant 24 h à 37 °C. Selon les recommandations du Comité de l'Antibiogramme de la société française de microbiologie et du Comité européen des tests de sensibilité aux antimicrobiens (CA – SFM/EUCAST),³⁶ les quatre souches revivifiées ont ensuite été repiquées sur GN selon la méthode des quatre quadrants et incubées 24 h à 37 °C. Les milieux MH ont été coulés dans les boîtes de Petri sur une hauteur de 4 mm, laissés refroidir à température ambiante et conservés à une température comprise entre 4 et 8 °C.

2.1.4.2. Réalisation des aromatoigrammes

Des colonies isolées et similaires de chacune des souches à tester ont été mises en suspension dans de l'eau physiologique stérile. Dans chacune des suspensions réalisées, un écouvillon stérile a été plongé et l'excès de liquide a été éliminé par passages sur les parois des tubes. Les inoculums ont ensuite été ensemencés sur les milieux MH en tournant les boîtes de Petri à 60° deux fois.

Des disques de papier filtre de 6 mm de diamètre ont été confectionnés puis stérilisés. Pour chaque souche à tester, ont été préparés des disques imprégnés de l'HE de printemps (on attribue à ses composants majoritaires (alpha-pinène (13.1%) et β -caryophyllène (10.7%) des propriétés antibactériennes^{31,34,35}) diluée à des facteurs de 2, 4 et 8 dans le DMSO et un disque imprégné de DMSO seul (contrôle négatif). Les disques ont ensuite été disposés dans chacun des milieux MH inoculés en ajoutant les contrôles positifs adéquats (disques d'antibiotiques CN10, CS10 et VA 30). Enfin, les boîtes ont été incubées à 37 °C pendant 24 h et les diamètres d'inhibition ont été mesurés à la règle selon le protocole modifié de Fontanay et al.³⁷

2.2. Obtention du mucilage à partir des graines de lin

2.2.1. Extraction du mucilage

Le mucilage (ML) a été extrait à partir des graines de lin dans de l'eau distillée selon un rapport de 1/10 chauffée à une température de 85 °C pendant une heure.²⁴ Le ML est filtré à l'aide des tamis de calibres décroissants, laissé refroidir, puis conservé dans des récipients en verre neutre à une température de 4 °C.

2.2.2. Caractérisation du mucilage

La masse volumique de ML est déterminée par pycnométrie. Un pycnomètre d'un volume et d'une masse connus a été rempli avec du ML à température ambiante. Le pycnomètre rempli est ensuite pesé. La masse volumique est déterminée suivant cette formule³⁸ :

$$\rho = \frac{m_2 - m_1}{V_1}$$

Avec :

ρ = masse volumique du ML en g/cm³
 m_2 = masse du pycnomètre rempli en g
 m_1 = masse du pycnomètre vide en g
 V_1 = volume du pycnomètre en ml

Trois essais ont été effectués, et les résultats sont présentés en moyenne \pm écart-type.

La viscosité du ML a été déterminée en utilisant un viscosimètre à chute de bille. L'expérience a été réalisée à l'aide d'une bille en métal d'un diamètre de 15,6 mm, d'une masse volumique de 8,1 g/cm³ et dont la constante K est de 0,09, adaptée à la mesure des viscosités allant de 30 à 700 mPa.s. Le temps de chute de la bille le long du cylindre du viscosimètre permet la détermination de la viscosité du mucilage selon la formule suivante³⁹ :

$$\eta = K \cdot (\rho_1 - \rho_2) \cdot t$$

Avec :

K = constante de la bille en mPa·cm³/g
 ρ_1 = masse volumique de la bille en g/cm³
 ρ_2 = masse volumique de la substance à étudier à la température de travail en g/cm³
t = temps de chute de la bille en secondes.

Trois essais ont été effectués, et les résultats sont présentés en moyenne \pm écart-type.

2.3. Emulsification

Des émulsions à différents teneurs en HE et en PS80 (0,1 % HE, 1 % HE, 1 % HE + 0,1 % PS80) ont été préparées selon le protocole suivant : un volume adéquat d'HE est incorporé au ML à température ambiante, sous une agitation de 4000 trs/mn pendant 2 mn à l'aide de l'agitateur-homogénéiseur. Les émulsions préparées sont ensuite conservées à 4 °C.

Le choix des concentrations utilisées s'est fait sur la base d'études précédentes de toxicité⁴⁰ et d'efficacité³⁴ démontrant l'innocuité de l'HE sur des fibroblastes AG-09429 à des concentrations allant jusqu'à 800 µg/ml, ce qui correspond à la teneur de 0,1 % au sein de nos préparations, tout en gardant une activité anti-inflammatoire conséquente (77 fois les concentrations inhibitrices médianes (IC50) de l'HE pour les COX-1 et COX-2). S'agissant des études de stabilité, des émulsions contenant l'HEM coloré à saturation au noir soudan B ont été préparées afin d'améliorer l'observation microscopique des gouttelettes. La stabilité des émulsions préparées a été évaluée par le suivi de l'évolution de la taille des gouttelettes d'HEM dispersées dans le ML durant six semaines. Les émulsions ont été observées au microscope optique aux G10×10 et G40×10 et les tailles des gouttelettes ont été déterminées à l'aide du logiciel ImageJ de J0 jusqu'à J+45. Les résultats finaux sont présentés sous forme d'histogrammes comparatifs de distribution de taille.

2.4. Tissage des supports en fibre de lin

Des supports de 10x10 cm ont été tissés avec du fil de lin Nm 2/12 sur métier à tisser en bois selon la méthode artisanale.

III. Résultats et discussion

1. Obtention de l'huile essentielle

1.1. Extraction

L'hydrodistillation des feuilles séchées de Pistachier lentisque a produit une HE jaune pâle à odeur caractéristique. Les rendements d'extraction des HE d'hiver et de printemps sont de 0,137 % et 0,122 %, respectivement, confirmant les résultats rapportés par Sehaki et al.³³ dans la même région ($0,125 \pm 0,005$ %). Ces résultats semblent cependant légèrement inférieurs à ceux de Yosr et al.⁴¹ (0,16 %) et de Bammou et al.²⁸ (0,16 %) dont les feuilles utilisées ont été récoltées à 350 m d'altitude en Tunisie et à 500 m d'altitude au Maroc, respectivement. Par ailleurs, une autre étude menée par Jaradat et al.³² a rapporté un rendement nettement supérieur (1,8 %).

1.2. Détermination de l'activité antiradicalaire

Les résultats du test à la DPPH pour la détermination de l'activité anti-radicalaire de l'HE sont mentionnés ci-dessous (Tableau 1) :

Tableau 1. Résultats de l'activité antiradicalaire de l'HE au test à la DPPH.

	Solution éthanolique de DPPH (contrôle négatif)	Acide ascorbique (contrôle positif)	HE d'hiver		HE de printemps	
			Essai 1	Essai 2	Essai 1	Essai 2
Absorbance	0,341	0,028	0,045	0,041	0,039	0,035
Activité anti-radicalaire (%)	—	91,7	86,8	87,9	88,5	89,7
			87,4 ± 0,8		89,1 ± 0,8	

Les HE d'hiver et de printemps ont montré des activités antiradicalaires similaires (87,4 % et 89,1 %, respectivement) et comparables à l'activité de l'acide ascorbique. Ce potentiel antioxydant élevé concorde avec les résultats précédemment décrits par Ailli et al.³¹

En outre, la capacité de l'HE d'hiver à neutraliser les radicaux libres serait attribuée à sa composition en sesquiterpènes (β -caryophyllène, caryophyllène oxide, α -cadinol) et monoterpènes (bornyl acétate).^{33,42}

1.3. Etude de l'activité antimicrobienne

L'activité antibactérienne de l'HE de printemps, diluée à des facteurs de 2, 4 et 8, est déterminée en trois essais pour les souches bactériennes *Escherichia coli* ATCC 25922, *Bacillus cereus* ATCC 14575, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, et *Pseudomonas aeruginosa* (souche isolée d'un prélèvement clinique) par méthode de diffusion sur disque en milieu gélosé. Les résultats sont exprimés en diamètre des zones d'inhibition (Tableau 2).

Tableau 2. Résultats des études de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de Pistachier lentisque.

Souche bactérienne	Gentamicine	Vancomycine	Colistine	HE diluée	HE diluée	HE diluée
				(f = 2)	(f = 4)	(f = 8)
Diamètre d'inhibition (mm)						
<i>Escherichia coli</i>	20,66±2,08	Non actif	/	Non actif	Non actif	Non actif
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	19,66±0,57	Non actif	13,66±1,52	Non actif	Non actif	Non actif
<i>Bacillus cereus</i>	26,33±3,51	22,66±0,57	/	13±2	10,33±0,57	8,66±0,57
<i>Staphylococcus aureus</i>	21,66±0,57	18,33±1,15	/	11,33±3,21	9,33±3,21	Non actif

L'HE de printemps diluée (f = 2) a montré une activité inhibitrice vis-à-vis de *Staphylococcus aureus* et de *Bacillus cereus*, avec des diamètres d'inhibition de 11,33±3,21 mm et 13±2 mm, respectivement, quand bien même ils restent inférieurs à ceux observés avec la CN10 (26,33±3,51 mm et 21,66±0,57 mm), et avec la VA30 (22,66±0,57 mm et 18,33±1,15 mm). Ceci dit, aucune inhibition n'a été observée vis-à-vis des souches *Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli*.

Ces résultats concordent avec ceux de Bammou et al.²⁸ dont l'étude a porté sur l'HE de printemps provenant de la région de Meknès (Maroc). De son côté, Bouyahya et al.³⁰ ont mis en évidence une activité antibactérienne significativement plus importante de l'HE provenant de la région de Ouezzane (Maroc) sur différentes espèces bactériennes (*Staphylococcus aureus* = 32±1,5 mm, *Bacillus subtilis* = 19±0,33 mm, *Pseudomonas*

aeruginosa = $17 \pm 1,5$ mm, *Escherichia coli* = 17 ± 2 mm, et *Proteus mirabilis* = $35 \pm 1,33$ mm) incluant celles que nous avons testées. Cette discordance peut être expliquée par la différence des protocoles mis au point. En effet, Bouyahya et al. ont disposé l'HE dans des puits creusés au sein du milieu gélosé, plutôt que d'en imprégner des disques.

En outre, la composition d'une HE joue un rôle important dans son activité. Burt et al.⁴³ rapportent un certain nombre d'études selon lesquelles l'activité antibactérienne des HE serait meilleure sur les bactéries à Gram positif que sur les bactéries à Gram négatif. Le caractère hydrophobe des composants des HE entrave leur diffusion à travers le lipopolysaccharide des bactéries à Gram négatif.

2. Obtention du mucilage

Le ML extrait à 85 °C est caractérisé par une couleur brune, une texture gélatineuse, et une odeur discrète. La perte à la dessiccation après une heure d'extraction est de 5,97 % en moyenne. Aucune prolifération bactérienne n'a été observée au microscope optique au G 10x40 après 15 jours de conservation à 4 °C. La masse volumique du ML déterminée par pycnométrie est de $0,995 \pm 0,004$ g/cm³, tandis que sa viscosité mesurée par chute de bille est de 48 ± 1 mPa.s (correspondant à un temps de chute de 76 ± 1 s). Ceci dit, certaines études^{44,45} rapportent un caractère rhéofluidifiant du ML observé à des concentrations supérieures à 0,2 %, soulignant une viscosité variable en fonction des contraintes appliquées.

3. Etude de la stabilité de l'émulsion

La mesure microscopique de la taille des gouttelettes d'HE dispersées dans le ML (0,1 % HE, 1 % HE, 1 % HE + 0,1 % PS80) a fourni les données présentées dans les histogrammes ci-dessous (Figure 2) :

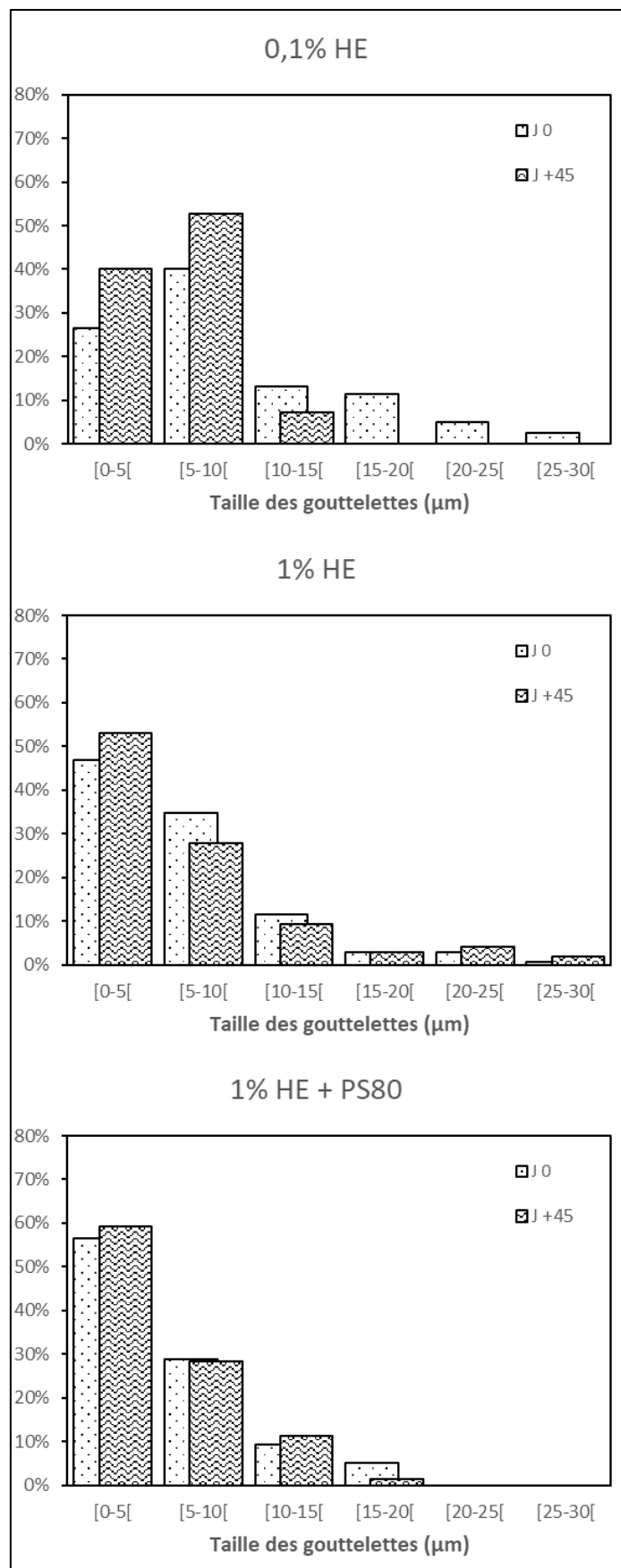


Figure 2. Histogrammes comparatifs des distributions de taille des gouttelettes d'huile essentielle dispersée.

La comparaison des tailles des gouttelettes dispersées, préparées dans les différentes conditions montre une diminution de la taille par augmentation de la proportion en HE (de 0,1 à 1 %) et par ajout de tensioactif (PS80). La comparaison des différentes conditions opératoires dans le temps (de J0 à J+45) a montré quant à elle une excellente stabilité, avec des tailles de gouttelettes inférieures à 30 μm après 45 jours d'étude de stabilité, même pour les émulsions dépourvues de PS80. La littérature rapporte dans ce sens une stabilisation des systèmes dispersés par les mucilages. A titre d'exemple, Nasrabadi et al.,⁴⁶ ont mis au point un complexe mucilage-protéines de lin et ont pu stabiliser une émulsion H/E avec un résultat supérieur à celui du PS80.

4. Confection des pansements

La confection du pansement final a consisté en l'étalement des émulsions formulées sur les supports en fibre de lin, à raison de 10 ml par support de 10x10 cm. Au contact de la peau, le pansement s'est montré souple et adhère bien du fait de la présence du ML. Le support en fibres de lin étant hydrophile et assez sec, il absorbe la fraction aqueuse du ML avec le temps. Cette fraction peut être remplacée en cas de plaie sèche par de l'eau physiologique stérile à intervalle régulier. A contrario, l'aspect hydrophile et absorbant du support est mis à profit en cas de plaies exsudatives pour absorber et piéger les exsudats de la plaie.

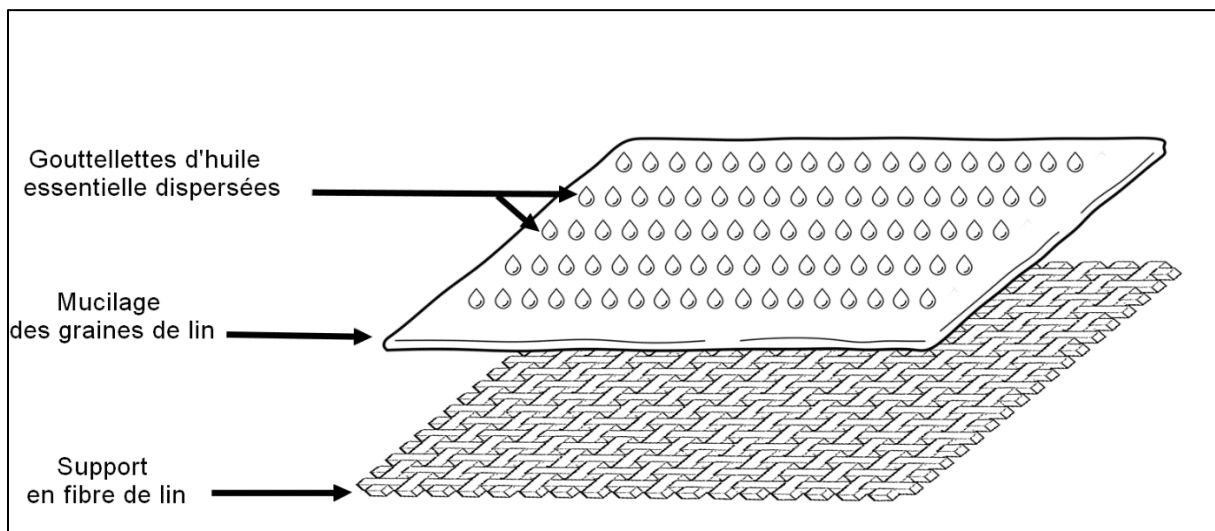


Figure 3. Vue éclatée des différents composants du pansement (Les gouttelettes d'HE ne sont pas à l'échelle du dispositif)

IV. Conclusion

Un pansement biosourcé, à base de fibres et de mucilage (ML) de lin, et d'huile essentielle de Pistachier lentisque (HE) a été développé contre les escarres. L'HE a été extraite à partir de feuilles récoltées à deux périodes de l'année (hiver et printemps) afin d'obtenir des propriétés thérapeutiques complémentaires. Les tests effectués sur les HE ont confirmé ce qui a été précédemment décrit dans la littérature, à savoir des activités antiradicalaires prononcées ($87,4 \pm 0,8\%$ et $89,1 \pm 0,8$ pour les HE d'hiver et de printemps respectivement), et une activité antibactérienne de l'HE de printemps vis-à-vis de *Staphylococcus aureus* ($11,33 \pm 3,21$ mm, $9,33 \pm 3,21$ mm pour les dilutions aux facteurs $f=2$ et $f=4$ respectivement). On attribue également à l'HE une bonne activité anti-inflammatoire qui reste cependant à tester.

Des émulsions HE/ML à des concentrations variables en HE ont été préparées, et ont montré une excellente stabilité sur une période de 45 jours.

Le support en fibres de lin, souple, bioactif et hydrophile, associé aux propriétés de l'émulsion HE/ML en font un pansement prometteur pour une utilisation contre les escarres. Des essais de caractérisation plus poussés ainsi que des études *In vivo* doivent néanmoins être réalisés.

Références bibliographiques

1. Edsberg, L. E. *et al.* Revised National Pressure Ulcer Advisory Panel Pressure Injury Staging System: Revised Pressure Injury Staging System. *J. Wound. Ostomy Continence Nurs.* **43**, 585–597 (2016).
2. *Prevention and treatment of pressure ulcers/injuries: clinical practice guideline: the international guideline.* (Epuap, European Pressure Ulcer Advisory Panel, 2019).
3. Agence Nationale d'Accréditation et d'Évaluation en Santé. PRÉVENTION ET TRAITEMENT DES ESCARRES DE L'ADULTE ET DU SUJET AGÉ. in (2001).
4. Tervo-Heikkinen, T. A. *et al.* Pressure injury prevalence and incidence in acute inpatient care and related risk factors: A cross-sectional national study. *Int. Wound J.* **19**, 919–931 (2022).
5. Mervis, J. S. & Phillips, T. J. Pressure ulcers: Pathophysiology, epidemiology, risk factors, and presentation. *J. Am. Acad. Dermatol.* **81**, 881–890 (2019).
6. Gawlitta, D., Oomens, C. W. J., Bader, D. L., Baaijens, F. P. T. & Bouten, C. V. C. Temporal differences in the influence of ischemic factors and deformation on the metabolism of engineered skeletal muscle. *J. Appl. Physiol.* **103**, 464–473 (2007).
7. Mbitikon-Kobo, F.-M. *et al.* Characterization of a CD44/CD122int Memory CD8 T Cell Subset Generated under Sterile Inflammatory Conditions. *J. Immunol.* **182**, 3846–3854 (2009).
8. Guo, S. & DiPietro, L. A. Factors Affecting Wound Healing. *J. Dent. Res.* **89**, 219–229 (2010).
9. Kruger, E. A., Pires, M., Ngann, Y., Sterling, M. & Rubayi, S. Comprehensive management of pressure ulcers in spinal cord injury: Current concepts and future trends. *J. Spinal Cord Med.* **36**, 572–585 (2013).

10. Dhivya, S., Padma, V. V. & Santhini, E. Wound dressings – a review. *BioMedicine* **5**, 22 (2015).
11. Jones, V., Grey, J. E. & Harding, K. G. Wound dressings. *BMJ* **332**, 777–780 (2006).
12. Anastas, P. T. & Warner, J. C. *Green chemistry: theory and practice*. (Oxford University Press, 1998).
13. El-Rafie, H. M., Abdel Salam, H. M. & El-Rafie, M. H. Imparting Eco-Friendly Antibacterial and Anti-Inflammatory Finishing by Microencapsulation Technique for Cotton Fabric. *Journal of Applied Polymer Science* **7**, 131–140 (2017).
14. Bouaziz, A. *et al.* Study on the Grafting of Chitosan-Essential Oil Microcapsules onto Cellulosic Fibers to Obtain Bio Functional Material. *Coatings* **11**, 637 (2021).
15. Hossain, M. A. *et al.* Econazole imprinted textiles with antifungal activity. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **101**, 137–144 (2016).
16. Martel, B., Campagne, C. & Behary Massika, N. Quand les textiles vous soignent. *médecine/sciences* **33**, 73–80 (2017).
17. Skórkowska-Telichowska, K. *et al.* Wound coverage by the linen dressing accelerates ulcer healing. *Postepy Dermatol. Alergol.* **38**, 827–841 (2021).
18. Styrczewska, M. *et al.* Flax Fiber Hydrophobic Extract Inhibits Human Skin Cells Inflammation and Causes Remodeling of Extracellular Matrix and Wound Closure Activation. *BioMed Res. Int.* **2015**, 1–15 (2015).
19. Gębarowski, T., Jęskowiak, I. & Wiatrak, B. Investigation of the Properties of Linen Fibers and Dressings. *Int. J. Mol. Sci.* **23**, 10480 (2022).
20. Skórkowska-Telichowska, K. *et al.* V79 Fibroblasts Are Protected Against Reactive Oxygen Species by Flax Fabric. *Appl. Biochem. Biotechnol.* **184**, 366–385 (2018).

21. Ding, H. H. *et al.* Soluble polysaccharides from flaxseed kernel as a new source of dietary fibres: Extraction and physicochemical characterization. *Food Res. Int.* **56**, 166–173 (2014).
22. Haseeb, M. T. *et al.* Acute toxicity study of a polysaccharide based hydrogel from linseed for potential use in drug delivery system. *Braz. J. Pharm. Sci.* **54**, (2018).
23. Inamdar, M., Abhang, P. & Momin, M. Isolation and evaluation of fenugreek, flaxseed mucilages and its use as a pharmaceutical binder. *Int. J. Pharm. Technol.* **4**, 4766–4777 (2012).
24. Synytsya, A. *et al.* Hydrogels based on low-methoxyl amidated citrus pectin and flaxseed gum formulated with tripeptide glycyl-l-histidyl-l-lysine improve the healing of experimental cutting wounds in rats. *Int. J. Biol. Macromol.* **165**, 3156–3168 (2020).
25. Haseeb, M. T. *et al.* Linseed hydrogel-mediated green synthesis of silver nanoparticles for antimicrobial and wound-dressing applications. *Int. J. Nanomedicine* **Volume 12**, 2845–2855 (2017).
26. Deng, Y. *et al.* Preparation and characterization of cellulose/flaxseed gum composite hydrogel and its hemostatic and wound healing functions evaluation. *Cellulose* **27**, 3971–3988 (2020).
27. Beldi, M., Merzougui, H. & Lazli, A. Etude ethnobotanique du Pistachier lentisque *Pistacia lentiscus* L. dans la wilaya d'El Tarf (Nord-est algérien) - Ethnobotanical study of *Pistacia lentiscus* L. in El Tarf region (Northeastern Algeria). *Ethnobot. Res. Appl.* **21**, (2021).
28. Bammou, M. *et al.* Valorisation du lentisque «*Pistacia lentiscus* L.»: Étude ethnobotanique, Screening phytochimique et pouvoir antibactérien. (2015).
29. Palmese, M. T., Uncini Manganelli, R. E. & Tomei, P. E. An ethno-pharmacobotanical survey in the Sarrabus district (south-east Sardinia). *Fitoterapia* **72**, 619–643 (2001).

30. Bouyahya, A. *et al.* Could volatile compounds from leaves and fruits of *Pistacia lentiscus* constitute a novel source of anticancer, antioxidant, antiparasitic and antibacterial drugs? *Ind. Crops Prod.* **128**, 62–69 (2019).
31. Ailli, A. *et al.* Phytochemistry and Biological Activities of Essential Oils from Six Aromatic Medicinal Plants with Cosmetic Properties. *Antibiotics* **12**, 721 (2023).
32. Jaradat, N. *et al.* Essential Oil Composition, Antimicrobial, Cytotoxic, and Cyclooxygenase Inhibitory Areas of Activity of *Pistacia lentiscus* from Palestine. *Arab. J. Sci. Eng.* **47**, 6869–6879 (2022).
33. Sehaki, C. *et al.* Profiling of Essential Oils from the Leaves of *Pistacia lentiscus* Collected in the Algerian Region of Tizi-Ouzou: Evidence of Chemical Variations Associated with Climatic Contrasts between Littoral and Mountain Samples. *Molecules* **27**, 4148 (2022).
34. Milia, E. *et al.* The Pharmaceutical Ability of *Pistacia lentiscus* L. Leaves Essential Oil Against Periodontal Bacteria and *Candida* sp. and Its Anti-Inflammatory Potential. *Antibiotics* **9**, 281 (2020).
35. Santos, E. L. *et al.* Enhanced antibacterial effect of antibiotics by the essential oil of *Aloysia gratissima* (Gillies & Hook.) Tronc. and its major constituent beta-caryophyllene. *Phytomedicine Plus* **1**, 100100 (2021).
36. Détermination de la sensibilité aux antibiotiques. in *CA-SFM / EUCAST : Société Française de Microbiologie* 8–16.
37. Fontanay, S., Mougenot, M.-E. & Duval, R. E. Évaluation des activités antibactériennes des huiles essentielles et/ou de leurs composants majoritaires. *Hegel* **2**, 109–118 (2015).
38. Innovation, Science et Développement économique Canada. Méthode d’essai spécialisée — détermination de la masse volumique. (2017).
39. Instruction Manual Falling Ball Viscometer C.

40. Catalani, S., Palma, F., Battistelli, S. & Benedetti, S. Oxidative stress and apoptosis induction in human thyroid carcinoma cells exposed to the essential oil from *Pistacia lentiscus* aerial parts. *PLOS ONE* **12**, e0172138 (2017).
41. Yosr, Z., Imen, B. H. Y., Rym, J., Chokri, M. & Mohamed, B. Sex-related differences in essential oil composition, phenol contents and antioxidant activity of aerial parts in *Pistacia lentiscus* L. during seasons. *Ind. Crops Prod.* **121**, 151–159 (2018).
42. Wang, C.-Y., Chen, Y.-W. & Hou, C.-Y. Antioxidant and antibacterial activity of seven predominant terpenoids. *Int. J. Food Prop.* **22**, 230–238 (2019).
43. Burt, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *Int. J. Food Microbiol.* **94**, 223–253 (2004).
44. Mazza, G. & Biliaderis, C. G. Functional Properties of Flax Seed Mucilage. *J. Food Sci.* **54**, 1302–1305 (1989).
45. Troshchynska, Y., Bleha, R., Synytsya, A. & Štětina, J. Chemical Composition and Rheological Properties of Seed Mucilages of Various Yellow- and Brown-Seeded Flax (*Linum usitatissimum* L.) Cultivars. *Polymers* **14**, 2040 (2022).
46. Nikbakht Nasrabadi, M., Goli, S. A. H., Sedaghat Doost, A., Dewettinck, K. & Van Der Meeren, P. Bioparticles of flaxseed protein and mucilage enhance the physical and oxidative stability of flaxseed oil emulsions as a potential natural alternative for synthetic surfactants. *Colloids Surf. B Biointerfaces* **184**, 110489 (2019).