République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi – Bordj Bou Arréridj

Faculté des Sciences et de la Technologie

Département de Génie de l'Environnement

Mémoire en Vue De L'obtention Du Diplôme de MASTER

En gestion des changements environnementaux en méditerranée

Thème

Pansements bioactifs et biodégradable pour le traitement des ulcérations et inflammation du Col de l'utérus (Start up)

Présenté par :

- Hebbiche khaoula
- Selahdja khaoula
- Kaabech insaf

Encadré par :

Nom de prof : - Messis Abdelaziz

- Ammar Naoui
- Boubaaya Rabah

2025/2026

Remerciements

Avant tout, nous rendons grâce à Dieu le Tout-Puissant, qui nous a accordé la force, la patience et la persévérance nécessaires pour mener à bien cet humble travail. Nous exprimons notre profonde gratitude et nos sincères remerciements à nos encadrants, Messieurs (Messise, le Doyen, Boubaaya et le Dr Laourdiane), pour le temps qu'il nous a consacré, ses conseils précieux et ses orientations judicieuses qui ont grandement contribué à la réussite de ce projet. Nos remerciements s'adressent également aux membres du jury qui nous ont fait l'honneur d'accepter d'évaluer ce travail. Nous les remercions par avance pour l'intérêt qu'ils porteront à notre étude et pour leurs remarques constructives qui ne manqueront pas de l'enrichir. Nous tenons aussi à témoigner notre reconnaissance à l'ensemble de nos enseignants qui ont veillé à notre formation et au développement de nos connaissances tout au long de notre parcours universitaire. Que le personnel du département et du laboratoire trouve ici l'expression de nos remerciements pour leur soutien technique et leur aide précieuse nous exprimons nos profonds remerciements à la direction et au personnel technique du Centre de Recherche en Biotechnologie (CRBT) de Constantine pour leur accueil, leur précieux soutien et pour nous avoir permis d'accéder à leurs plateaux techniques afin de réaliser nos analyses. Enfin, nous adressons nos plus vifs remerciements à nos familles et à nos amis pour leur soutien indéfectible, leur patience et leurs encouragements constants.

Dédicace

Je dédie ce modeste travail à mes chers parents, Pour leur amour inconditionnel, leurs sacrifices et leurs prières qui m'ont éclairé le chemin. Aucune dédicace ne saurait exprimer mon immense gratitude.

À mon cher époux, Pour son soutien indéfectible, sa patience et ses encouragements constants. Ce travail est aussi le fruit de ton accompagnement au quotidien.

À mes chers enfants, La prunelle de mes yeux. Que ce succès soit pour vous une source d'inspiration et un exemple de persévérance.

À mes frères et sœurs, En témoignage de notre complicité et de l'affection qui nous lie. Merci d'avoir toujours été à mes côtés.

À mes fidèles amis, Qui ont partagé avec moi les moments de doute et de joie tout au long de ce parcours académique.

Hebbiche khoula

الاهداء

وآخِرُ دَعواهُم أَنِ الحَمدُ لِلَّهِ رَبِّ العالَمين.

أصابت سهامنا هذه المرّة ولم تُخطئ، ولمعت أعيُنُنا من فرط الانتصار.

كُتبت في نهاية سطورنا أنّنا نلنا ما صبرنا لأجله، فالحمدُ لله حبًّا وشكرًا وامتنانًا

الحمد لله الذي بنعمته تتمّ الصالحات، والذي وفقني لبلوغ هذه اللحظة التي طالما حلمت بها، لحظة أرى فيها ثمرة تعبي واجتهادي تتجسّد واقعًا جميلًا

أهدي هذا التخرّج بكل فخر وامتنان إلى أبي الغالي، الذي كان سندي الحقيقي في كل خطوة، الذي لم يبخل عليّ يومًا بنصائحه ولا بدعمه، والذي علّمني معنى الصبر والإصرار. أبي، لك كل الشكر لأنك كنت دائمًا القوة التي تدفعني للأمام، ولأنك آمنت بي حتى في اللحظات التي شككت فيها بنفسي

وإلى أمي الحبيبة، يا من كانت دعواتك ترافقني في كل حين، يا من منحتني حبًّا لا ينتهي وصبرًا لا يُوصف، كنتِ النور الذي يضيء طريقي في أصعب الأيام. أمي، مهما قلت فلن أوفيك حقك، فأنت سر نجاحي وسبب قوتي، أطال الله في عمرك وجعلني دائمًا فخرًا لك

"،إلى من قيل فيهم: "سنشدّ عضدك بأخيك

إخوتي، لم أصل لولا دعمكم وعطاؤكم بلا مقابل، فأنتم قوتي وملاذي بعد الله، أدامكم الله ضلعًا ثابتًا لي.

ولا يفوتني أن أتقدم بجزيل الشكر والتقدير إلى مشرفي الاعزاء، الذي كان له الفضل الكبير في توجيهي وإرشادي، وعلى صبره وملاحظاته القيّمة التي ساهمت في إنجاز هذا العمل. كما أتوجه بالشكر إلى جميع أساتذتي الأفاضل، الذين أناروا طريقي بعلمهم، وغرسوا فيّ حب المعرفة والاجتهاد

وأخيرًا، ما بين الصبر والعوض، أشكر نفسي على الصبر، فقد كانت أهلًا للمصاعب، وكان فضل الله عليها عظيمًا، وعوضه يليق بعزّته وجلاله.

هذا التخرّج ليس مجرد شهادة، بل هو قصة تعب، وأمل... وهو ثمرة حبكم ودعمكم الذي لا يقدّر بثمن. أهديه لكم بكل فخر واعتزاز، فأنتم شركاء هذا النجاح في كل تفاصيله

الطالبة :كعباش انصاف

الاهداء

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

والصلاة والسلام على سيدنا محمد، خاتم الأنبياء والمرسلين، وعلى آله وصحبه أجمعين

﴿يَرْفَعِ اللَّهُ الَّذِينَ آمَنُوا مِنكُمْ وَالَّذِينَ أُوتُوا الْعِلْمَ دَرَجَاتٍ وَاللَّهُ بِمَا تَعْمَلُونَ خَبِيرٌ﴾ - سورة المجادلة، الآية 11

الحمد لله الذي كان سندي في كل خطوة، ودليلي في أوقات العثرة والإنجاز.

الحمد لله الذي علمني أن البدايات الصادقة تُثمر نهايات مشرّفة، والحمد لله على تمام الرحلة التي صارت قصة عزيمة وإصرار.

الحمد لله الذي بنعمته تتم الصالحات، وبفضله تيسّرت الخطوات، فله الحمد أولاً وآخراً، ظاهراً وباطناً.

[﴿لَئِن شَكَرْتُمْ لَأَزِيدَنَّكُمْ﴾ [إبراهيم: 7

اليوم أقف شامخة أمام حلم صار حقيقة وأهدي هذا التفوّق، وأبارك لنفسي التي آمنت بأن الحلم يستحق السعي، وأعلن امتناني لعزيمتي التي لم تنكسر أمام الصعاب.

(غاليتي أمي)

اليوم، وأنا أرتدي رداء التخرج وأحمل ثمرة سنوات من الجهد والمثابرة، لا يسعني إلا أن أهدي هذا النجاح لكِ أنتِ أولاً وآخراً.
لقد كنتِ دائماً نوري وملاذي، تشجعينني وتضحين بلا كلل من أجلي. كل خطوة ناجحة في حياتي تحمل بصمتكِ وعطاءكِ الصامت الذي لا ينتهي.

(أبي الحبيب)

كنتَ دائماً مثلي الأعلى، ومعلماً وصديقاً، وبحنانك وحكمتك صنعتَ مني الشخص الذي أنا عليه اليوم.
ومهما كتبت من كلمات، تبقى عظمة حبك وتضحياتك أكبر من أي تعبير، أهديك نجاحي وفخري اليوم وكل يوم... فأنت البداية التي لا تنتهي.

شكراً لكل كلمة نصح، لكل دعم صامت، ولكل تضحية لم تطلب لها شكراً... أنت المنتصر اليوم.

(إلى إخوتي)

أنتم السند الذي لا ينكسر، والرفقة التي تُخفّف عني ثقل الأيام، كنتم دائماً مصدر البهجة في لحظات التعب،
هذا الإنجاز هو لكم كما هو لي، فأنتم شركاء الحلم، وشهود الرحلة، وأجمل ما في حياتي.

(إلى مشرفي ومسيري هذا العمل)

على دعمكم القيّم وصبركم وإرشادكم المستمر الذي كان له الفضل الكبير في إنجاح هذا المشروع.

إليكم جميعاً، أهدي هذا العمل بكل الحب والامتنان والوفاء، ليكون شاهداً على أن النجاح لا يكتمل إلا بكم ومعكم.

وفي الأخير:

﴿وَمَا تَوْفِيقِي إِلَّا بِاللَّهِ عَلَيْهِ تَوَكَّلْتُ وَإِلَيْهِ أُنِيبُ﴾ - سورة هود، الآية 88

الخريجة: سلاحجة خولة

Liste des Abréviations

Abréviation	Signification
KI	Iodure de potassium
H2SO4	Acide sulfurique
HgCl2	Chlorure mercurique
pH	Potentiel Hydrogène
NaOH	Hydroxyde de sodium
HCl	Acide chlorhydrique
FeCl3	Chlorure de fer (III)
DIU	Dispositif Intra-Utérin
LPS	Lipopolysaccharide
CIVD	Coagulation Intravasculaire Disséminée
VIH	Virus de l'Immunodéficience Humaine
ADN	Acide Désoxyribonucléique
ARN	Acide Ribonucléique
DPPH	2.2-diphényl-1-picrylhydrazyl
ABTS	Acide 2.2'-azino-bis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique)
FRAP	Ferric Reducing Antioxidant Power
BSA	Bovine Serum Albumin (Sérum-albumine bovine
MHA	Mueller-Hinton Agar
TCA	Acide trichloracétique
K2S2O8	Persulfate de potassium
K3Fe(CN) 6	Ferricyanure de potassium
CuSO4	Sulfate de cuivre
H3BO3	Acide borique
AOAC	Association of Official Analytical Chemists
UFC	Unité Formant Colonie
EG	Équivalent Glucose
BMC	Business Model Canvas
SWOT	Strengths, Weaknesses, Opportunities, Threats
IFU	Impôt Forfaitaire Unique
GYN-BIO	Gynécologie - Biologique

Liste des figures :

Titre	Page
Figure 1 : Mécanisme d'action des anticoagulants.....	23
Figure 2: : Pin d'Alep : un arbre avec ses différents organes.....	30
Figure 3: Aire de répartition géographique du pin d'Alep à l'échelle du pourtour du bassin méditerranée	31
Figure 4 : Résine de pin et L'huile d'olive	35
Figure 5 : Préparation de l'échantillon de résine de Pin d'Alep : broyage, tamisage et obtention de la poudre fine.....	36
Figure 6 **:** Macération méthanolique de la résine de pin pendant 36 heures.....	37
Figure 7 : Étapes d'extraction des lipides totaux de la résine de pin par la méthode Soxhlet.....	38
Figure 8 Les différentes étapes du dosage de l'azote total par la méthode de Kjeldahl (Minéralisation, Distillation et Titrage).....	40
Figure 9 : Détermination de l'humidité et de la matière sèche	40
Figure 10 : tests des activités antioxydant et anti-inflammatoire sur microplaques.....	42
Figure 11 : l'extrait méthanolique de résine de pin	45
Figure 12 : Teneur en matières minérales	52
Figure 13 : Zones d'inhibition de l'extrait de résine de pin et des témoins face aux souches bactériennes testées	53
Figure 14 Mesure expérimentale du pH de l'extrait aqueux du pansement bioactif.....	54
Figure 15 **:** Différentes étapes du procédé de formulation du produit (GYN BIO) : de la préparation des phases à la coulée dans les moules.....	58
Figure 16 : Aspect macroscopique et caractéristiques morphologiques du pansement bioactif ovale (GYN BIO) après démoulage et avant conditionnement fina**l**..... .	59
Figure17 : Présentation du prototype final et du packaging commercialisable de la gamme (GYN BIO).....	60

Liste des tableaux :

Titre Page

Tableau 1 : récapitulatif des mécanismes d'action des agents anti-infectieux…….. 21

Tableau 2 : récapitulatif des caractéristiques et de la composition des produits dérivés du pin…… 32

Tableau 3 : Résultats du criblage phytochimique de la poudre de résine de pin, de la macération de gomme de pin dans l'huile d'olive et de l'huile d'olive…….. 47

Tableau 4: Teneur en sucres totaux de l'extrait de résine de pin ……..…… 50

Tableau 5 : Teneurs en azote total et en protéines de la résine de pin …….. 50

Tableau 6 : Teneurs en humidité et en matière sèche de la résine de pin..... 51

Tableau 7 : Diamètres des zones d'inhibition (cm) de la résine de pin..... 53

Sommaire

Titre **Page**

Introduction Générale

1. Introduction : 13

Partie I : Étude bibliographique 15

Chapitre I

Les agents anti-infectieux

1. Définition : 17

2. Les infections : 17

3. Types d'agents pathogènes : 18

4. Comment les micro-organismes causent-ils des maladies ? 19

5. Les agents anti-infectieux chimiques : 19

5.1 Définition des agents anti-infectieux : 19

5.2 Classification des agents anti-infectieux : 20

5.3 Mécanisme d'action des agents anti-infectieux : 21

6. Anticoagulants : 22

7. antihémorragiques (hémostase) : 24

8. Mécanisme d'action des agents hémostatiques locaux : 24

9. Les agents anti-infectieux naturels : 25

9.1 Définition : 25

9.2 Les type d'agents anti-infectieux : 25

10. Mécanismes d'action des antimicrobiens naturels : 26

11. Hémorragies génitales chez les femmes : 26

Chapitre II :

Synthèse sur la Matériel végétale : systématique et potentialités bioactives.

Partie I

1. Définition du genre Pinus : 30

2. Aire de répartition naturelle : 31

3. Espèces de Pinus : 31

4. Les caractéristiques du pin : 32

5. Produits dérivés du pin et leurs propriétés thérapeutiques : 32

Partie II

Partie pratique Matériel et Méthodes

2.2.2. Présentation du projet : 35

2.2.3 Matériel biologique utilisé : 35

2.2.4 Préparation des échantillons : 35

2.2.5 Macération méthanolique : 36

2.2.6 Criblage phytochimique : 37

2.2.7 Extraction des lipides totaux (Méthode de Soxhlet 38

2.2.8 Dosage des sucres totaux (Méthode de Dubois) :.....38
2.2.9 Dosage de l'azote total et des protéines (Méthode de Kjeldahl):.....39
2.2.10 Détermination de l'humidité et de la matière sèche :.....39
2.2.11 Détermination de la matière minérale (Teneur en cendres) :.....40
2.2.12 Activité antibactérienne diffusion en gélose (Méthode des puits) :.....41
2.2.13 Activité antioxydant :.....41
2.2.14 Activité antioxydant :.....41
2.2.15 pH (dans le sol/ sédiments - adaptable) Mesurer le pH du pansement (extrait aqueux) :.....42

Partie III

Résultats et Discussion

1. Résultats du criblage phytochimique :.....46
1.1 Tableau des résultats :.....47
Discussion des résultats :.....54

Partie VI :
Formulation du Pansement Bioactif et Biodégradable

4.1. Contexte et Objectif de la Formulation.....57
4.2. Matériaux et choix des composants.....57
4.3. Protocole Opératoire Général (Mode Opératoire).....57
4.4. Résultats de la formulation et aspect macroscopique.....57
4.5. Illustration expérimentale du produit fin.....58
4.6. Présentation du prototype final et conditionnement (le packaging).....59
4.7. Présentation du prototype final et conditionnement (le packaging).....60
Conclusion générale.....62
Annexes.....64
Références.....67
Résumé :.....70
Abstract:.....71
projet startup :.....73

Introduction Générale

Depuis très longtemps, les plantes médicinales jouent un rôle essentiel dans la préservation de la santé humaine et dans la survie des populations. Les plantes ne constituent pas des « recettes magiques » à effet unique, mais des systèmes complexes renfermant des composés actifs capables d'agir sur différents mécanismes de régulation du corps. Grâce à l'expérience, à l'observation et à l'expérimentation, nos ancêtres ont identifié de nombreuses plantes aux propriétés thérapeutiques. Dans chaque village, il existait souvent une personne connaissant l'usage de ces plantes pour traiter divers maux, sous forme d'infusions, de lotions ou d'onguents [1].

Aujourd'hui, avec l'avancée des connaissances scientifiques, l'intégration du savoir traditionnel et de la recherche moderne est devenue indispensable pour comprendre et développer l'usage thérapeutique de ces ressources naturelles [1].

Dans ce cadre général, les plaies chroniques représentent l'un des défis cliniques les plus importants au niveau mondial, y compris les lésions et ulcérations cervicales chez la femme, qui deviennent particulièrement problématiques lorsqu'elles sont compliquées par une inflammation, une infection ou une immunité affaiblie. Ces lésions

en particulier au niveau du col de l'utérus — peuvent entraîner douleur, saignements, infections récurrentes et retard de la ré-épithélialisation, des situations fréquentes dans les régions où les services de santé gynécologique sont limités [2].

Le traitement de ces plaies constitue un lourd fardeau pour les systèmes de santé en termes de temps, de coûts et de qualité de vie, tout en exerçant une pression constante sur le personnel médical. Malgré l'existence de plus de 170 produits topiques destinés au soin des plaies, les études cliniques rigoureuses restent limitées. Aux États-Unis, le coût annuel du traitement des plaies chroniques est estimé à 6–15 milliards de dollars, tandis qu'au Danemark il atteint environ 100 millions d'euros [3].

C'est dans ce contexte que se développe l'intérêt pour des solutions thérapeutiques efficaces, sûres et abordables. Parmi elles, les recherches finlandaises débutées en 2002 ont mis en évidence les propriétés de la résine d'épicéa de Norvège *(Picea abies),* démontrant son efficacité dans le traitement des plaies aiguës et chroniques, infectées ou non. L'utilisation médicale moderne de cette résine est aujourd'hui considérée comme l'une des approches les plus innovantes dans ce domaine [3].

La résine d'épicéa est un mélange complexe d'acides résiniques et de lignanes, dotés de propriétés antimicrobiennes, cicatrisantes et régénératrices. Ces caractéristiques en font un candidat intéressant pour le traitement des plaies gynécologiques sensibles, notamment les lésions du col de l'utérus, où le tissu épithélial nécessite une stimulation forte mais non irritante pour favoriser la régénération et limiter les infections [3].

Parallèlement, des études in vitro et animales ont montré l'effet bénéfique des polyphénols issus des plantes, présents en forte concentration dans l'huile d'olive vierge extra. Ces composés accélèrent la cicatrisation grâce à leurs propriétés anti-inflammatoires, antioxydants et antimicrobiennes, tout en stimulant l'angiogenèse, essentielle pour le développement du tissu de granulation et la ré-épithélialisation. Ces résultats soulignent le potentiel thérapeutique des composés phénoliques de l'huile d'olive, utilisés seuls ou en combinaison avec d'autres approches, notamment dans le traitement des lésions du col de l'utérus [4].

Partie I : Étude Bibliographique

Chapitre I
Les agents anti-infectieux

1.1 Définition :

Depuis le milieu du XIX^{e} siècle, les bases de la microbiologie médicale se sont posées progressivement. En 1840, Friedrich Henle propose les premiers critères établissant le lien entre micro-organismes et maladies humaines. Quelques décennies plus tard, Robert Koch et Louis Pasteur confirment cette théorie grâce à des expériences rigoureuses démontrant l'implication directe des microbes dans des maladies majeures telles que le charbon, la rage, la peste, le choléra et la tuberculose. Au fil du temps, d'autres chercheurs renforcent cette vision en identifiant un nombre croissant de micro-organismes responsables d'infections humaines [5].

L'ère de la chimiothérapie débute en 1910 avec Paul Ehrlich et son premier agent antibactérien, tandis que John Enders réussit en 1946 à cultiver des virus dans des cellules vivantes, ouvrant la voie à la production de vaccins modernes. L'évolution rapide des techniques d'analyse génomique transforme ensuite le domaine : les tests moléculaires deviennent plus rapides, plus accessibles et plus précis, permettant une détection efficace des agents infectieux. Aujourd'hui, la microbiologie médicale est un champ extrêmement vaste et complexe.

Des milliers d'espèces microbiennes vivent en nous et autour de nous, et plusieurs centaines sont capables de provoquer des maladies graves. Pour organiser et comprendre cet ensemble immense d'informations, la maîtrise des principes fondamentaux de la microbiologie médicale est indispensable [5].

Les microbes sont généralement classés en groupes : virus, bactéries, champignons et parasites. Ils ne sont pas tous pathogènes, mais ceux qui le sont disposent de mécanismes spécifiques leur permettant d'envahir leurs hôtes, s'y installer et y causer des dommages [6].

L'étude de ces mécanismes – en particulier les facteurs de virulence et les îlots de pathogénicité – est essentielle pour développer des stratégies thérapeutiques et préventives efficaces. Ces éléments jouent un rôle central dans la capacité des micro-organismes à déclencher des infections et à contourner les défenses de l'hôte [6].

1.2 Les infections :

A Colonisation réussie d'un hôte par un micro-organisme. Les infections peuvent entraîner une maladie, qui provoque des signes et des symptômes résultant d'une altération de la structure ou du fonctionnement normal de l'hôte. Les micro-organismes susceptibles de causer une maladie sont appelés pathogènes [7].

Pour comprendre ces informations et les organiser de manière utile, il est important de connaître certains aspects fondamentaux de la microbiologie médicale. Pour commencer, les

micro-organismes peuvent être subdivisés en cinq grands groupes : les virus, les bactéries, les archéobactéries, les champignons et les parasites, chacun ayant son propre niveau de complexité. Les archéobactéries ne semblent pas causer de maladies, mais les arthropodes peuvent entretenir une relation pathogène avec l'homme [5].

Les infections peuvent être causées par une grande variété d'agents pathogènes, principalement des bactéries et des virus.

Les hôtes peuvent combattre les infections grâce à leur système immunitaire. Les hôtes mammifères réagissent aux infections par une réponse innée, impliquant souvent une inflammation, suivie d'une réponse adaptative.

1.3 Types d'agents pathogènes :

Les infections sont causées par des agents infectieux (pathogènes), notamment :

1.3.1. Les Bactéries :

Les bactéries sont des êtres microscopiques unicellulaires (le plus souvent). Elles n'appartiennent ni au règne des animaux ni à celui des végétaux mais à un troisième règne : celui des protistes et plus spécialement celui des protistes inférieurs ou procaryotes. Le monde bactérien est très vaste et les bactéries peuplent notre environnement. On en retrouve partout : dans le sol. Dans les eaux douces. Dans les eaux marines, dans l'air. À la surface de notre peau, dans notre gorge etc. Les bactéries assurent à la surface du globe, sur le sol et dans les eaux d'innombrables fonctions. Elles exercent des actions bénéfiques (bactéries fertilisantes du sol) mais certaines d'entre elles peuvent provoquer des infections chez les plantes. Les animaux et également chez I 'homme. (Par exemple *Mycobacterium tuberculosis, Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Clostridium botulinum et Salmonella spp.*) [8].

1.3.2. Les virus et agents subviraux :

Les virus sont des agents pathogènes beaucoup plus petits que les bactéries, avec une taille comprise entre 15 et 200 mμ, dont ils diffèrent par de nombreux caractères. Ils ne sont constitués que d'un seul acide nucléique, A.R.N. ou A.D.N., entouré d'une enveloppe d'origine protéique appelée capside. Contrairement aux bactéries, les virus ne peuvent pas se reproduire in vitro et sont généralement isolés sur des cultures de tissus. Leur acide nucléique est porteur d'une information génétique codée qui leur permet de se multiplier uniquement à l'intérieur des cellules vivantes sensibles. Après leur pénétration dans la cellule hôte, ils y introduisent leur matériel génétique, entraînant la synthèse de nouveaux virions qui quittent ensuite la cellule « mère » pour coloniser d'autres cellules. Ainsi, en raison de leur taille extrêmement réduite, l'observation des virus nécessite l'utilisation d'un microscope électronique [8].

1.3.3. Les champignons :

Les champignons sont des saprophytes habituels de l'organisme. Cependant on assiste depuis quelques années à l'accroissement de leur rôle pathogène [8].

1.3.4. Les microorganismes :

Les parasites sont des êtres plus évolués relativement adaptés pour vivre aux dépens d'être organisés. Ils sont représentés par des êtres unicellulaires ou protozoaires et par d'autres pluricellulaires ou helminthes [8].

1.4. Comment les microorganismes causent-ils des maladies ?

L'infection débute lorsqu'un organisme pénètre dans le corps, s'y développe et s'y multiplie. On parle alors de colonisation. La plupart des êtres humains ne sont pas facilement infectés. Les personnes dont le système immunitaire est affaibli ou compromis présentent une susceptibilité accrue aux infections chroniques ou persistantes. Les personnes immunodéprimées sont particulièrement vulnérables aux infections opportunistes.

L'entrée dans l'organisme hôte, au niveau de l'interface hôte-pathogène, se fait généralement par les muqueuses d'orifices tels que la cavité buccale, le nez, les yeux, les organes génitaux, l'anus, ou par des plaies ouvertes. Si certains organismes peuvent se développer au site d'entrée initial, beaucoup migrent et provoquent une infection systémique touchant différents organes. Certains pathogènes se développent à l'intérieur des cellules hôtes (infection intracellulaire), tandis que d'autres se développent librement dans les fluides corporels.

Les variables impliquées dans l'issue de l'inoculation d'un hôte par un pathogène et dans le résultat final comprennent : la voie d'entrée du pathogène et l'accès aux régions hôtes qu'il acquiert la virulence intrinsèque de l'organisme en question la quantité ou la charge de l'inoculant initial l'état immunitaire de l'hôte colonisé [9].

Les infections microbiennes comptent parmi les principaux facteurs qui entravent le processus de guérison des maladies, en particulier la cicatrisation des plaies [9].

. En effet, les bactéries et les parasites attaquent la surface de la plaie, provoquant des inflammations et retardant la guérison. Ainsi, l'intégration de substances possédant des propriétés anti-infectieuses est devenue une approche essentielle en biomédecine.

1.5. Les agents anti-infectieux chimiques :

1.5.1. Définition des agents anti-infectieux :

Les agents anti-infectieux sont définis comme un ensemble de médicaments utilisés pour lutter contre les micro-organismes pathogènes, tels que les bactéries, les virus, les champignons et les

parasites, en les éliminant ou en inhibant leur croissance et leur multiplication. L'action de ces médicaments repose sur le ciblage de structures ou de processus vitaux essentiels à la survie du micro-organisme pathogène, tout en visant à assurer la plus grande sélectivité thérapeutique possible afin de réduire les effets nocifs sur les cellules de l'hôte (l'être humain) [10]**.**

1.5.2. Classification des agents anti-infectieux :

Le traitement des infections dépend du type d'agent pathogène en cause. Les médicaments couramment utilisés comprennent :

1.5.2.1 Antibiotiques :

Les antibiotiques sont classés en plusieurs grandes familles *(bêtalactamines, aminosides, cyclines, macrolides, quinolones, rifamycines,* etc.), elles-mêmes divisées en groupes. Chaque groupe est caractérisé par un spectre d'activité correspondant aux germes sur lesquels l'antibiotique est actif. Chaque antibiotique au sein d'un même groupe peut différer par des propriétés pharmacocinétiques ou un profil de résistance différent [11].

1.5.2.2 Antiviraux :

Les antiviraux sont des médicaments anti-infectieux utilisés dans la prévention ou le traitement de certaines maladies virales : infections à VIH-sida : hépatites virales chroniques B et C ; infections à Herpes virus : herpès cutanéo-muqueux et génital, varicelle, zona, cytomégalovirus ; infections respiratoires à virus respiratoire syncytial et infection grippale [11].

1.5.2.3 Antifongiques :

Les mycoses sont des maladies infectieuses provoquées par des champignons microscopiques, présentant une localisation cutanée (dermatophyties, Pityriasis versicolor), cutanéo-muqueuse (candidoses essentiellement) ou system Cryptococcus, Histoplasmose, etc.) [11].

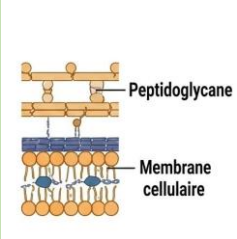
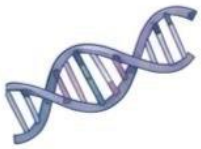
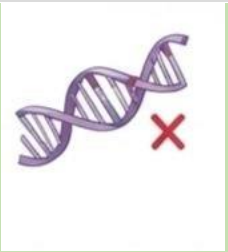
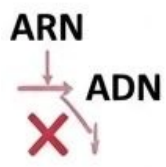
1.5.2.4 Anthelminthiques :

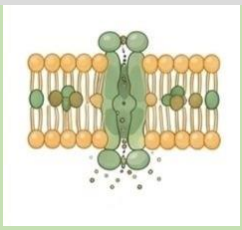
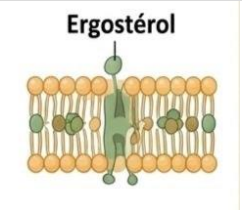
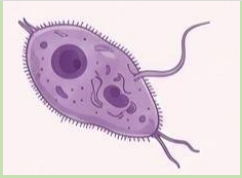
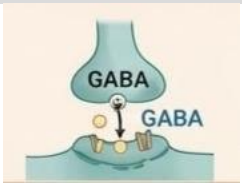
Les parasites et les antiparasitaires pour les vers : Les parasites sont des organismes vivants divisés en cinq classes principales : les protozoaires, les trématodes (vers du foie), les nématodes (vers ronds), les plathelminthes (vers plats) et les ectoparasites. Ils peuvent infecter les muqueuses, les tissus, le sang ou la peau. Quant aux antiparasitaires pour les vers (Anthelminthiques), ce sont des médicaments utilisés pour traiter les infections causées par les vers parasites, qu'ils soient ronds ou plats, en tuant les parasites ou en inhibant leur croissance et leur reproduction au sein de l'organisme hôte [12]**.**

il est essentiel d'examiner leur mécanisme d'action après avoir présenté la classification, afin de comprendre comment chacun cible les microorganismes.

1.5.3 Mécanisme d'action des agents anti-infectieux :

Tableau 1 : récapitulatif des mécanismes d'action des agents anti-infectieux [12].

Type d'agents anti-infectieux	Mécanisme d'actions de base	Exemples	Toxicité -Effets secondaires principaux
Antibiotiques	 Inhibition de la synthèse de la paroi cellulaire.		Réaction allergiques, diarrhée, colite associée à C. difficile.
	 Inhibition de réplication de l'ADN.		Tendinite, lésions du cartilage, coloration des liquides corporels (orange), toxicité hépatique.
Antiviraux	 Inhibition de la réplication de l'ADN viral.		Éruption cutanée, réactions locales au site d'injection, problèmes hépatiques.
	 Inhibition de la transcriptase inverse (VIH).		Anémie, fatigue, (certains antiviraux). Atteintes hépatiques ou rénales.

Antifongiques	 Altération de la membrane cellulaire fongique.		Néphrotoxique aiguë, hypokaliémie, frissons.
	 Inhibition de la synthèse de la paroi cellulaire fongique.		Fièvre, frissons, troubles gastro-intestinaux, phlébite.
Antiparasitaires	 Altération de l'ADN des protozoaires		Vertiges, somnolence.
	 Paralysie neuro musculaire.		Vertiges, démangeaisons, hypotension, effet potentiel sur le foie.

Les infections peuvent perturber l'équilibre de la coagulation dans l'organisme [12].

L'inflammation intense peut augmenter la tendance du sang à former des caillots, ce qui nécessite l'utilisation d'anticoagulants pour prévenir ou traiter les thromboses lorsque cela est nécessaire [12]. À l'inverse, certaines infections aiguës peuvent entraîner des troubles sévères du système de coagulation pouvant conduire à des hémorragies, comme c'est le cas dans la coagulation intravasculaire disséminée (CIVD). Dans ces situations, des agents antihémorragiques sont utilisés pour limiter les pertes sanguines et corriger le déséquilibre [12].

1.6 Anticoagulants :

1.6.1 Définition :

Les anticoagulants sont des médicaments utilisés dans la prévention et le traitement des thromboses artérielles et veineuses. Afin de comprendre leur mécanisme d'action, il est

nécessaire de connaître les principales étapes de la coagulation sanguine, qui constitue le troisième temps de l'hémostase. L'hémostase regroupe l'ensemble des phénomènes physiologiques mis en œuvre lors d'une lésion vasculaire afin de stopper l'hémorragie par la formation d'un thrombus. Elle débute par l'hémostase primaire, caractérisée par l'agrégation des plaquettes sanguines qui forment un clou plaquettaire ou thrombus plaquettaire au niveau de la plaie. La deuxième étape correspond à la coagulation du sang, marquée par la formation d'un gel insoluble de fibrine. Cette phase commence par la thromboplastinoformation, qui peut emprunter deux voies distinctes : la voie endogène, faisant intervenir uniquement les facteurs présents dans le sang circulant et conduisant à la formation d'une thromboplastine plasmatique endogène, et la voie exogène, qui met en jeu la thromboplastine tissulaire libérée par les tissus lésés. Ainsi, la coagulation permet la stabilisation du thrombus et contribue efficacement à l'arrêt du saignement [13].

1.6.2 Mécanisme d'action des anticoagulants :

- Soit en empêchant la formation de la prothrombine, on dit qu'ils sont anti prothrombine.
- Soit en empêchant la transformation de la prothrombine en thrombine et donc l'action de la thrombine sur le fibrinogène, on dit qu'ils sont antithrombine (comme l'héparine) [13].

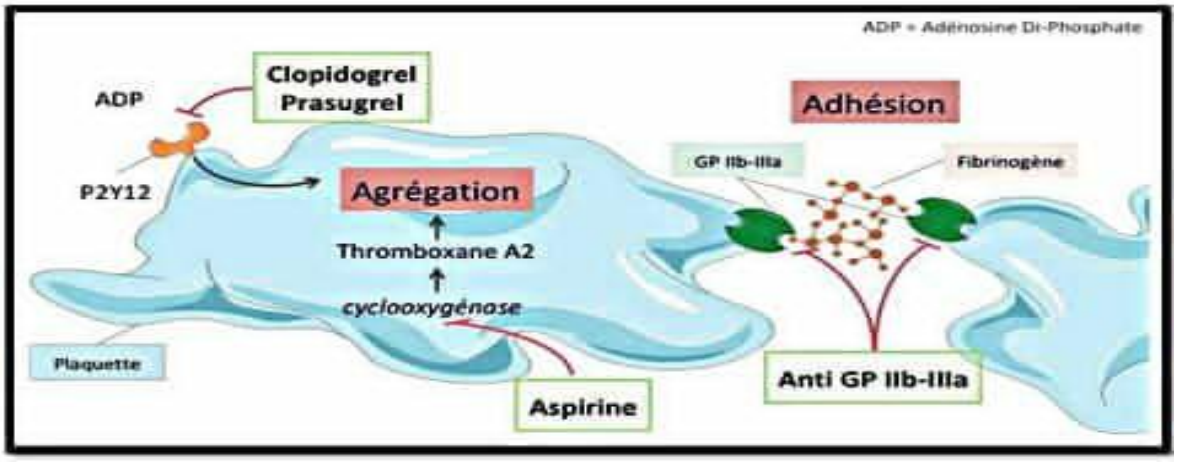


Figure. 1. Mécanisme d'action des anticoagulants [14].

1.6.3 Types d'anticoagulants :

1.6.3.1 Héparine :

C'est un médicament à action immédiate mais de courte durée, administré principalement par voie intraveineuse.

1.6.3.2 Anti vitamines K :

Ils agissent tardivement mais pendant longtemps, et s'administrent par voie orale [13].

1.6.3.3 Effets indésirables :

- Hémorragies, insuffisance rénale,
- Effets gastro-intestinaux
- Effets hépatiques : anomalies de la fonction hépatiques
- Thrombopénie [15].

1.7 Antihémorragiques (Hémostase) :

1.7.1 Définition :

L'hémostase sanguine, ou hémostase, est un processus physiologique complexe qui implique tous les mécanismes biochimiques et cellulaires nécessaires pour maintenir le sang à l'état liquide à l'intérieur des vaisseaux sanguins, incluant ainsi le processus de coagulation. L'hémostasie constitue un système équilibré, et toute perturbation dans une partie de ce système peut entraîner soit des saignements excessifs à la suite d'une simple lésion d'un vaisseau, soit une coagulation excessive avec formation d'un caillot dans un petit vaisseau d'organes importants tels que le cerveau ou le cœur, entraînant ainsi des accidents vasculaires cérébraux ou des crises cardiaques [16] .

1.7.2 Médicaments hémostatiques

Ces médicaments arrêtent les saignements par des mécanismes autres que l'inhibition de la fibrinolyse. Ils peuvent notamment être utilisés chez les patients sous anticoagulants ou antiagrégants plaquettaires présentant des saignements externes, car dans ce cas, l'arrêt spontané du saignement serait long.

1.8 Mécanisme d'action des agents hémostatiques locaux :

Les agents hémostatiques locaux agissent de deux manières :

1.8.1 Hémostatiques actifs :

Ils favorisent l'activation des plaquettes et l'activation de l'étape finale de la coagulation.

1.8.2 Hémostatiques passifs ou mécaniques :

Ils agissent en augmentant le volume (ils gonflent) en absorbant le sang, ce qui crée une pression sur le site du saignement. Ils interagissent également avec les plaquettes, formant une base qui favorise l'agrégation plaquettaire. Les agents hémostatiques actifs incluent la thrombine et les produits dans lesquels la thrombine est associée à des agents hémostatiques passifs ainsi qu'au scellant de fibrine, tandis que les agents hémostatiques passifs comprennent les préparations de collagène, gélatine, cellulose et polysaccharides. Les agents actifs peuvent être

utilisés en association avec les agents passifs. Il existe une troisième catégorie d'agents hémostatiques qui comprend les adhésifs et scellant tissulaires composés de scellant de fibrine, d'hydrogels d'éthylène glycol, de colle à l'albumine avec glutaraldéhyde et de cyanoacrylate, qui, lorsqu'ils sont appliqués sur le site du saignement, favorisent l'hémostase par adhésion tissulaire. Les scellant et adhésifs tissulaires sont particulièrement adaptés dans les cas de saignement artériel et des sutures vasculaires. Agents hémostatiques actifs Le mécanisme de base de ces agents consiste à fournir une structure physique autour du site du saignement permettant l'agrégation des plaquettes et la formation du caillot. La thrombine est utilisée pour stimuler l'agrégation plaquettaire et convertir le fibrinogène en fibrine au site du saignement. La thrombine peut être appliquée sous forme de poudre, spray ou solution, et elle est indiquée dans les cas de saignement localisé réfractaire ainsi que lors de procédures neurologiques, orthopédiques, cardiaques et vasculaires [18].

1.9 Les agents anti-infectieux naturels :

1.9.1 Définition :

Les composés anti-infectieux d'origine naturelle — extraits des plantes, des microorganismes et des animaux — englobent une large variété de molécules telles que les phénoliques, les terpènes, les bactériocines, les peptides, les enzymes/protéines, les polymères naturels, les acides gras (lipides), les acides organiques, ainsi que des mélanges riches en composés bioactifs comme les huiles essentielles et les extraits végétaux [19]**.**

1.9.2 Les types d'agents anti-infectieux :

Les antimicrobiens naturels sont des composés présents dans la nature et extraits par des méthodes simples. Leurs principales sources sont : les animaux, les microorganismes et les plantes.

1.9.2.1 Antimicrobiens d'origine animale :

Exemples : lysozyme, lactoferrine, lactoperxydase, chitosaine, peptides antimicrobiens. La majorité des composés d'origine animale sont des enzymes, des protéines ou des peptides. Le système lactoperoxydase (LPS) est naturellement présent dans le lait, la salive et les larmes, et possède une forte activité antimicrobienne.

1.9.2.2 Antimicrobiens d'origine microbienne :

Exemples: nisine, natamycine, bactériocines, diplococcine, acidophiline. La plupart sont des peptides cationiques qui augmentent la perméabilité de la membrane cellulaire. La nisine est utilisée industriellement dans le fromage, les ovoproduits liquides et les sauces. La réutérine

(produite par *Lactobacillus reuteri*) possède une activité large contre les agents pathogènes. Les bactéries à exclusion compétitive et les bactériophages ont été étudiés et certains sont déjà utilisés commercialement.

1.9.2.3 Antimicrobiens d'origine végétale :

Les plantes sont une source majeure de composés antimicrobiens comme les herbes et les épices. Les résidus de l'industrie agricole peuvent être valorisés pour extraire des composés actifs. Composés principaux : phénols, terpènes, eugénol, thymol, acides organiques. Les phénols constituent le groupe le plus efficace selon les études, suivis des quinones et des alcaloïdes. Certains composés nécessitent une évaluation de toxicité avant une utilisation alimentaire.

1.9.2.4 Huiles essentielles comme agents antimicrobiens :

Elles sont extraites des feuilles, fleurs, graines, écorces, bulbes et racines. Elles sont efficaces contre les bactéries pathogènes et d'altération. Huiles efficaces dans les aliments: origan, thym, girofle, coriandre. Les huiles essentielles sont des mélanges complexes (20 à 60 composés) avec 2–3 constituants majeurs déterminant l'activité.

1.9.2.5 Acides organiques :

Présents naturellement dans les fruits (comme les acides citrique et malique). Ils jouent un rôle dans la protection du végétal contre les microorganismes. L'extraction naturelle est coûteuse → ils sont donc produits industriellement ou par fermentation microbienne.

Exemples: Production d'acide acétique par procédés chimiques, Production d'acide citrique avec *Aspergillus niger*, Production d'acide lactique par fermentation [19]**.**

1.10. Mécanismes d'action des antimicrobiens naturels :

Les antimicrobiens naturels et bio-basés présentent une grande diversité structurale, rendant difficile l'établissement d'un mécanisme d'action unique. Malgré les nombreuses hypothèses proposées, les mécanismes précis demeurent encore partiellement connus.

1.11. Hémorragies génitales chez les femmes :

Les hémorragies génitales sont les pertes de sang provenant de l'appareil génital féminin, extériorisées par l'appareil vulvaire et qui ne sont pas des règles normales. On distingue plusieurs formes d'hémorragies génitales :

1.11.1 Hémorragies génitales basses : Ce sont les saignements en provenance de la partie basse de l'appareil génital. On distingue les hémorragies vulvaires, les hémorragies vaginales et les hémorragies cervicales.

1.11.2 Hémorragies génitales hautes : Ce sont les saignements en provenance de la cavité utérine, extériorisées par le col. Il est habituel de classer ces saignements en fonction de leur survenue par rapport aux règles.

1.11.3 Ménorragies : Ce sont les saignements contemporains des règles.

1.11.4 Métrorragies : Par opposition aux ménorragies, les métrorragies sont les hémorragies génitales hautes survenant en dehors des règles.

Au terme de l'interrogatoire et de l'examen clinique, on peut retrouver des causes évidentes :

- DIU en cours d'expulsion ou endométrite associée.
- Cancer du col utérin.
- Infection génitale haute.
- Utérus fibromateux (important de bien mentionner la topographie des fibromes).
- Les ruptures du Col utérin [20]**.**

Chapitre 2

Synthèse sur le Matériel végétale la systématique et les potentialités bioactives.

Partie 1

2.1.1 Définition du genre *Pinus* :

Le nom latin *Pinus* fait référence au Pin parasol répandu dans le sud de la France. L'origine du terme est liée au mot celte Pen signifiant « tête ». Quant à *Abies et Picea*, ce sont d'anciens noms latins encore utilisés en taxonomie végétale. Le terme *Sappinus ou Sapinus,* à l'origine du mot français Sapin, désignait anciennement une partie du tronc du pin. Tous ces arbres appartiennent à la famille des Conifères et fournissent de nombreux produits thérapeutiques. En ce qui concerne les utilisations médicinales, il n'y a aucun avantage pratique à distinguer entre les différentes espèces de pin. Elles sont bien trop nombreuses, surtout avec les espèces sauvages et celles qui sont largement cultivées [21].

L'arbre le plus vieux connu est un *Pinus longaeva* âgé de 4900 ans et haut de 5 mètres. ·Les arbres les plus grands connus sont des Séquoias à feuilles d'if *(Sequoia sempervirens)* pouvant atteindre 110 et 115 mètres de hauteur, une hauteur parfois atteinte par quelques spécimens de Douglas vert (*Pseudotsuga menziesii*). ·Enfin, l'arbre le plus large répertorié est un Cyprès de Montézuma (*Taxodium mucronatum*) d'une circonférence de 36 mètres. Les conifères sont reconnus pour leur résistance au froid, mais il s'agit en fait d'une résistance à la sécheresse, car un sol gelé prive les arbres d'eau. Ils sont aussi connus pour leur tolérance aux sols acides ou très acides, et aux sols très pauvres ou très sableux. De nombreuses espèces de conifères vivent en association bénéfique avec des mycorhizes [22]**.**

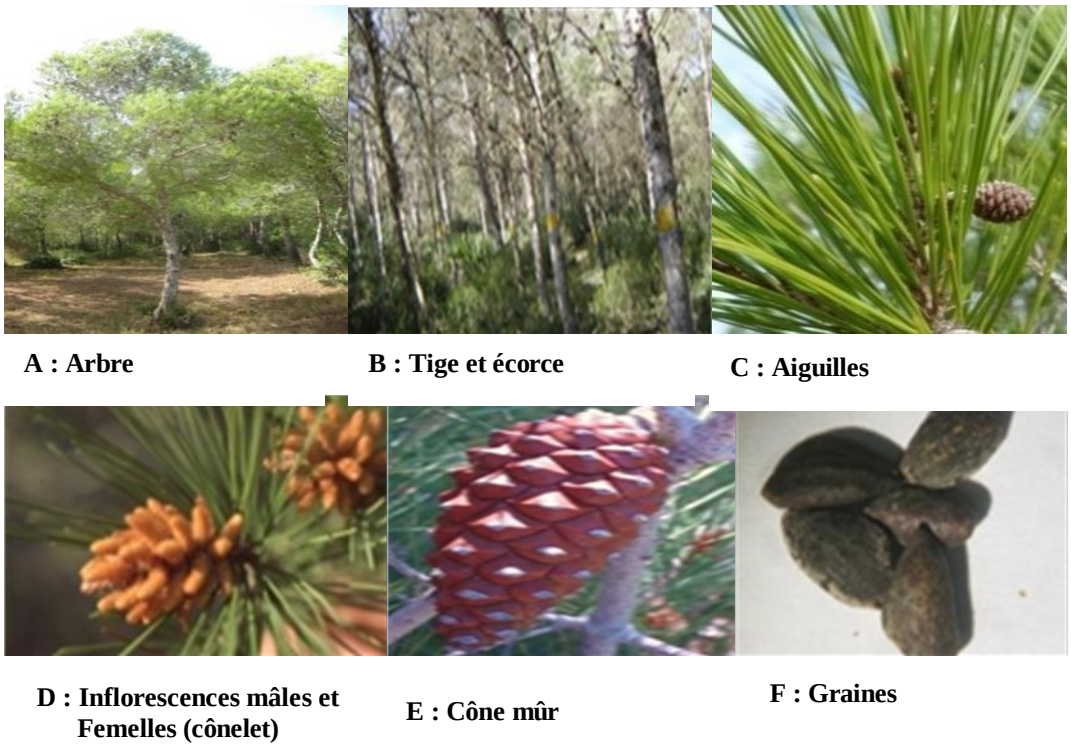


Figure 2 : Pin d'Alep : un arbre avec ses différents organes [3 5] .

2.1..2 Aire de répartition naturelle :

L'aire de répartition du pin d'Alep est circumméditerranéenne mais présente des discontinuités parfois marquées en certaines zones (figure 3).



Figure 3 : Aire de répartition géographique du pin d'Alep à l'échelle du pourtour du bassin méditerranéen [23]**.**

Le pin d'Alep est fréquent dans la partie occidentale (Ouest) et centrale de part et d'autre de la Méditerranée ; mais sa présence est limitée dans la partie orientale (Moyen Orient). Ce morcellement est à attribuer principalement aux transgressions marines qui ont présidé à la formation de la Méditerranée et également aux glaciations du Quaternaire favorisant son installation ou au contraire son élimination en plusieurs points de son aire d'extension primitive [24].

A l'échelle de son aire de répartition géographique, tout autour du pourtour du bassin méditerranéen, le pin d'Alep couvre d'après [23].

une superficie qui dépasse les 3,5 millions d'hectares. Le tiers de cette superficie se trouve en Algérie et en Tunisie, ces deux pays constituent de ce fait son centre de gravité.

2.1.3 Espèces de Pinus :

- Pin parasol (*Pinus pinea*)
- Pin d'Alep (*Pinus halepensis*)
- Pin maritime (*Pinus pinaster*)
- Pin sylvestre (*Pinus sylvestris*)
- Pin noir d'Autriche (*Pinus nigra*) [25]**.**

2.1.4 Les caractéristiques du pin :

Le pin (genre Pinus, famille des Pinacées) est un arbre résineux toujours vert, à feuilles en aiguilles et riche en substances résineuses [26].

Il se développe principalement dans les régions tempérées et méditerranéennes, où il constitue un élément dominant des forêts de pinèdes [26].

Le bois de pin, léger mais résistant, est largement utilisé dans la construction et la production de pâte à papier.

Les différentes parties de l'arbre — écorce, aiguilles, résine et cônes — renferment des composés aromatiques et des huiles essentielles, principalement des terpènes, responsables de l'odeur caractéristique et des propriétés antiseptiques et antimicrobiennes [26].

Les résines et huiles de térébenthine issues du pin jouent un rôle économique majeur et sont utilisées dans les industries pharmaceutique et cosmétique [26].

2.1.5 Produits dérivés du pin et leurs propriétés thérapeutiques :

Tableau 2 : récapitulatif des caractéristiques et de la composition des produits dérivés du pin [21].

Produit	Caractéristiques /Description	Composition principale	Rôle/Usage médicinal
Résine	Substance épaisse, collante, sécrétée par le tronc après incision. Solide à l'air, d'odeur balsamique.	Acides résiniques et huiles essentielles contenant des pinènes.	Employée comme antiseptique, balsamique, et pour la préparation de baumes et emplâtres.
Essence de térébenthine	Liquide clair et volatil, Obtenu par distillation de la résine.	**α**-pinène, **β**-pinène, limonène	Utilisée comme expectorante, antiseptique pulmonaire, et rubéfiante en usage externe.
Goudron de pin	Produit noir, épais, obtenu par la carbonisation du bois ou de la résine.	Créosote, phénols, substances aromatiques volatiles.	Usage dermatologique : eczéma, psoriasis ; propriétés antiseptiques et cicatrisantes.
Colophane (résidu solide)	Résidu solide de la distillation de la résine, d'aspect translucide et cassant.	Mélange d'acides abiétiques polymérisés.	Utilisée dans les emplâtres et préparations pharmaceutiques adoucissantes.

Il ressort du tableau que la résine constitue le principal composé du pin, présentant un intérêt thérapeutique majeur et de larges applications dans le domaine de la santé.

Partie 2:
Partie pratique

Matériel et Méthodes

2.2.1 Cadre de l'étude :

Les travaux expérimentaux, les analyses physico-chimiques, ainsi que l'évaluation des activités biologiques (*in vitro*) de cette étude ont été réalisés au sein des laboratoires du **Centre de Recherche en Biotechnologie (CRBT) de Constantine.**

2.2.2 Présentation du projet :

Ce travail vise à développer des pansements biologiques d'origine naturelle à base de composants végétaux et de biomatériaux, afin d'obtenir un système semi-solide (pansement) présentant des propriétés favorisant l'hydratation et la protection des tissus lésés, tout en améliorant les conditions locales propices à la réparation et à la régénération tissulaire.

2.2.3 Matériel biologique utilisé :

- Le matériel biologique utilisé dans ce travail est représenté par la résine brute de Pin *(Pinus sp.)*. Cet échantillon a été collecté, nettoyé de ses impuretés macroscopiques, puis conservé dans des conditions optimales à l'abri de la lumière et de l'humidité jusqu'à son utilisation pour les différentes analyses expérimentales.
- L'huile d'olive *(Olea europaea L.)* : Incorporée en tant que matière grasse naturelle dotée de puissantes propriétés hydratantes, émollientes et régénératrices. Elle joue un rôle technologique et thérapeutique majeur au sein de la formulation en améliorant l'élasticité, la texture et la souplesse de la membrane (pansement), tout en favorisant la protection et l'hydratation des tissus cutanéo-muqueux lésés au niveau du col de l'utérus.

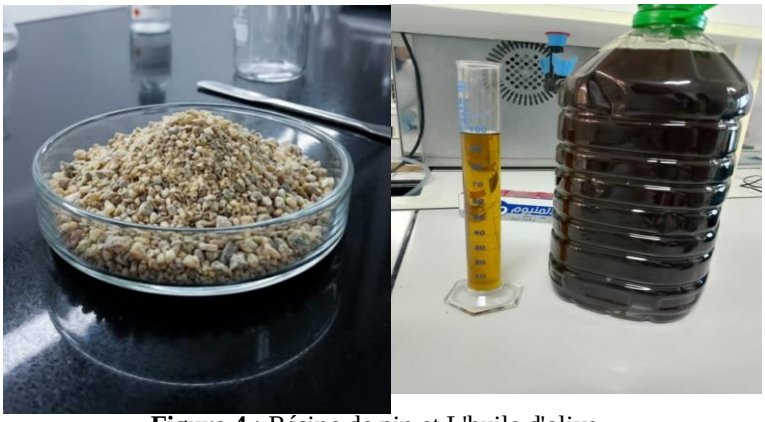


Figure 4 : Résine de pin et L'huile d'olive

2.2.4 Préparation des échantillons :

La résine du Pin d'Alep a été achetée chez un herboriste au niveau de la ville d'Aïn Oulmene. La résine utilisée a été récoltée à Sétif (en2025), séchée à l'air libre à l'abri de la lumière et stockée dans des conditions appropriées.

2.2.4.1 Lavage et séchage :

La résine de Pin d'Alep a été soigneusement nettoyée afin d'éliminer les impuretés, les particules de poussière et les débris étrangers susceptibles d'altérer la qualité des analyses. Après lavage, la résine a été séchée à l'air libre à température ambiante, à l'abri de la lumière directe du soleil, jusqu'à l'obtention d'un matériau sec et stable, prêt pour les étapes de broyage et de tamisage.

2.2.4.2 Broyage :

Les petits morceaux de résine de pin ont été broyés à l'aide d'un broyeur électrique, puis tamisés afin d'obtenir une poudre fine. (Broyeur électrique)

2.2.4.3 Tamisage :

La poudre de résine a été tamisée à travers un tamis de 200 micromètres de diamètre afin d'obtenir une poudre très fine, puis conservée soigneusement dans des boîtes hermétiquement fermées, à Température ambiante et à l'abri de la lumière jusqu'au jour de son utilisation.

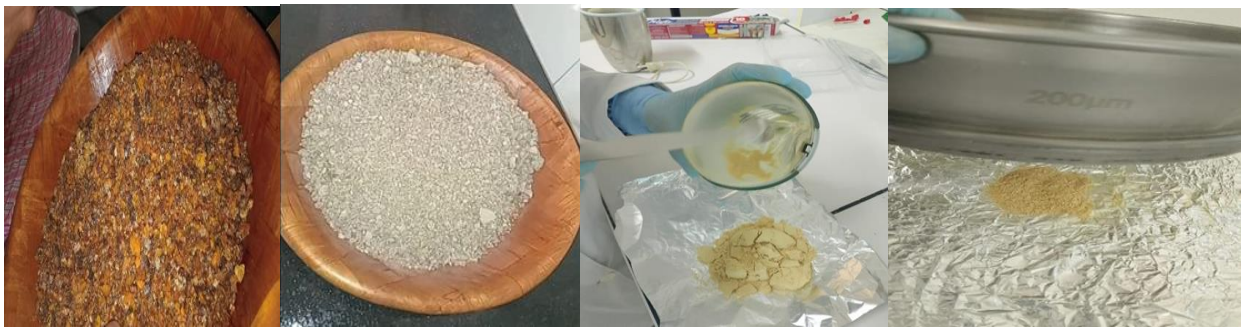


Figure 5 : Préparation de l'échantillon de résine de Pin d'Alep : broyage, tamisage et obtention de la poudre fine.

2.2.5 Extraction par macération méthanolique

L'extraction solide-liquide de la résine a été menée au méthanol selon le protocole suivant :

- **Prise d'essai :** Pesée précise de **46,23g** de résine brute de pin.
- **Macération :** L'échantillon est introduit dans un flacon hermétique en verre avec une quantité suffisante de méthanol jusqu'au recouvrement complet. Le mélange est maintenu sous agitation à température ambiante pendant 36 heures.
- **Filtration :** Le mélange est filtré sur papier filtre Whatman N°1.
- **Concentration :** Le solvant est éliminé à l'aide d'un évaporateur rotatif sous pression réduite à une température constante de 40°C pour l'obtention de l'extrait brut.

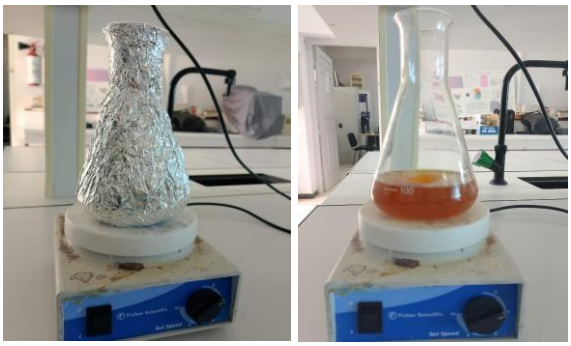


Figure 6 : Macération méthanolique de la résine de pin pendant 36 heures

2.2.6 Criblage phytochimique :

2.2.6.1 Recherche des phénols :

Quelques gouttes d'une solution de chlorure ferrique FeCl3 à 10% sont ajoutées à 1 ml de chaque extrait liquide. L'apparition d'une coloration bleu-noir indique la présence des phénols [27].

2.2.6.2 Recherche des flavonoïdes :

1ml d'hydroxyde de sodium à 10% est ajouté à 1ml d'extrait alcoolique. La présence de flavonoïdes est indiquée par l'apparition d'une couleur jaune à orange.

2.2.6.3 Recherche des tanins :

2 ml de chaque extrait sont dilués avec de l'eau distillée dans des tubes à essai séparés, puis 2 à 3 gouttes de chlorure ferrique à 5% (FeCl3) sont ajoutées. L'apparition d'une coloration vert-noir ou bleu indique la présence des tanins [28].

2.2.6.4 Recherche des quinones:

1ml d'acide sulfurique concentré est ajouté à 1ml d'extrait alcoolique. L'apparition d'une coloration rouge indique la présence des quinones [29].

2.2.6.5 Recherche des terpènes :

2 ml d'acide trichloracétique sont ajoutés à 1ml d'extrait alcoolique. La présence des terpènes est confirmée par la formation d'un précipité rouge [30].

2.2.6.6 Recherche des alcaloïdes (test de Mayer) :

Quelques gouttes du réactif de Mayer (1,35g de chlorure de mercure $HgCl_2$ + 3,95g d'iodure de potassium KI dans 100ml d'eau distillée) avec 2ml d'acide chlorhydrique concentrés ont ajoutées à 1 ml de chaque extrait liquide. L'apparition d'un précipité blanc ou d'une coloration verte

indique la présence des alcaloïdes [31].

2.2.6.7 Recherche des saponines :5 ml d'eau sont ajoutés à 1 ml d'extrait alcoolique, puis le tube est agité pendant 2 minutes. La formation de mousse indique la présence des saponines, et la stabilité de la mousse après 15 minutes confirme le test [32].

2.2.6.8 Recherche des acides résiniques :

La détection des acides résiniques consiste à ajouter quelques gouttes de NaOH à l'extrait végétal, puis à acidifier le milieu avec du HCl dilué. La formation d'une turbidité ou d'un précipité blanc indique la présence des acides résiniques, tandis qu'une absence de changement indique un résultat négatif.

2.2.7 Extraction des lipides totaux (Méthode de Soxhlet)

Le dosage de la matière grasse brute de la résine a été réalisé par extraction continue à l'aide de l'appareil de Soxhlet, selon la méthode officielle AOAC 920.39 / CE n° 152/2009 :

Une masse précise de résine de pin (M = 50,24g) est placée dans une cartouche en cellulose.

La cartouche est insérée dans le corps de l'extracteur Soxhlet.

L'extraction est menée en utilisant l'hexane comme solvant organique à reflux continu pendant 4 heures.

Le solvant est ensuite éliminé par distillation, et le ballon contenant la matière grasse séchée à l'étuve à 103 C° est pesé après refroidissement dans un dessiccateur.

Le rendement en matière grasse brute est exprimé en pourcentage selon la formule :

Teneur en matière grasse (%) = [(M2 - M1) / M] × 100

Où **M1** est la masse du ballon vide (273,27g) et **M2** est la masse du ballon après séchage (279,63g).



Figure7 : Étapes d'extraction des lipides totaux de la résine de pin par la méthode de Soxhlet.

2.2.8 Dosage des sucres totaux (Méthode de Dubois)

Les glucides totaux de la résine ont été quantifiés par spectrophotométrie UV-Vis selon la méthode au phénol-acide sulfurique (Dubois et al., 1956) :

- **Hydrolyse acide :** À **0,5g** de résine de pin sont ajoutés 20mL d'acide sulfurique **(H2SO4, 0,5M).** Le mélange est placé à l'étuve à 105°C pendant 3 heures.
- **Dilution :** La solution est ajustée à 500 mL avec de l'eau distillée dans une fiole jaugée, puis filtrée.
- **Réaction colorimétrique :** Dans des tubes à essai en triplicata, 1mL de la solution est mélangé avec 1ml de phénol à **5%** et **5mL** d'acide sulfurique concentré (**H2SO4, 98%).**
- **Incubation :** Les tubes sont maintenus à l'étuve pendant 15 minutes à **105°C**, puis laissés à l'obscurité pendant 30 minutes.
- **Lecture :** La densité optique (DO) est mesurée au spectrophotomètre à une longueur d'onde de **490nm**.

2.2.9 Dosage de l'azote total et des protéines (Méthode de Kjeldahl)

Le dosage de l'azote organique total de la résine a été effectué selon la méthode de Kjeldahl (AOAC méthode 978.04) en trois étapes successives :

Minéralisation : Une prise d'essai de **0,5g** de résine de pin est introduite dans un tube en présence de **0,5g** de sulfate de cuivre **(CuSO4)** et de **12mL** d'acide sulfurique concentré **(H2SO4).** Les tubes sont chauffés à **420°C** pendant 1 à 2 heures jusqu'à clarification. Un essai à blanc est préparé parallèlement.

Distillation : Après refroidissement, le milieu est alcalinisé par 40mL d'hydroxyde de sodium (NaOH) et 50 mL d'eau distillée. L'ammoniac (NH3) libéré est entraîné par la vapeur et collecté dans 5 mL d'acide borique (H3BO3) contenant l'indicateur coloré de Tashiro.

Titrage : L'ammoniac piégé est titré par une solution d'acide sulfurique standardisé.

Le pourcentage d'azote total (N%) est calculé par la relation suivante :

$$\mathbf{N\%} = \frac{\boldsymbol{V1 - Vbalnc \times N \times 14}}{\mathbf{M\ écho} * \mathbf{10}}$$

La teneur en protéines brutes est déduite selon la formule :

Protéines (%) = N% 6,25



Figure 8 : Les différentes étapes du dosage de l'azote total par la méthode de Kjeldahl (Minéralisation, Distillation et Titrage).

2.2.10 Détermination de l'humidité et de la matière sèche

La teneur en humidité (H%) et en matière sèche (MS%) de la résine de pin a été déterminée par méthode gravimétrique par dessiccation à l'étuve selon les normes ISO 6496 / AOAC 934.01.

L'échantillon a été soumis à une température de 103°C pendant une durée de 2 heures jusqu'à l'obtention d'une masse constante.



Figure 9 : Détermination de l'humidité et de la matière sèche

2.2.11 Détermination de la matière minérale (Teneur en cendres)

La teneur en cendres, représentant les résidus inorganiques après destruction de la matière organique, a été déterminée selon le protocole suivant :

- Pesée du creuset vide propre et sec **(m0 = 82,65g).**

- Pesée du creuset contenant une prise d'essai de 1g de résine avant calcination **(m1 = 83,65g)**.
- Incinération complète de l'échantillon dans un four à moufle réglé à **550°C**.
- Refroidissement dans un dessiccateur et pesée finale du creuset contenant les cendres **(m2 = 82,67g)**. La teneur en cendres (%) est calculée via la formule suivante :
  % cendres = m cendre/m échantillon *100

2.2.12 Activité antibactérienne diffusion en gélose (Méthode des puits)

L'activité antibactérienne de l'extrait méthanolique de la résine de pin a été évaluée par diffusion en milieu gélosé Mueller-Hinton (MHA) :

Inoculum : L'opacité de la suspension bactérienne de 24 heures est ajustée sur l'échelle de McFarland 0,5 (=1,5 10^8UFC/ml).

Ensemencement : La surface de la gélose MHA est écouvillonnée de manière homogène.

Application : Des puits de 6mm de diamètre sont creusés. Un volume de 50 ul de l'extrait brut et de ses dilutions (1/2, 1/4) y est déposé.

Le méthanol pur sert de témoin négatif et la cloxicilline de témoin positif.

Incubation : Après pré-diffusion d'une heure, les boîtes sont incubées à 37°C pendant 48 heures. Les diamètres des zones d'inhibition sont mesurés en millimètres.

2.2.13 Activité antioxydant

Préparation de la gamme des dilutions

Une solution mère est préparée en dissolvant **4mg** d'extrait brut de résine de pin dans **1000uL** de méthanol. Des dilutions sérielles successives au demi **(1/2**) ont été effectuées par transfert de **500uL** de solution dans **500 uL** de méthanol, permettant d'obtenir une gamme décroissante de concentrations testées en triplicat sur microplaque 96 puits.

2.2.13.1 Test du radical DPPH

Selon la méthode de Blois (1958), **160 uL** de solution méthanolique de DPPH **(4mg /100mL)** sont mélangés avec **40uL** d'extrait de résine. Après incubation de **20** minutes à l'abri de la lumière, la baisse d'absorbance est mesurée à 517nm.

2.2.13.2 Test du radical ABTS

Selon la méthode d'Oyaizu (1986), le cation radicalaire **ABTS +** est généré en mélangeant de l'ABTS **(7\mM)** avec du persulfate de potassium **(K2S2O8, 2,45mM)** à l'obscurité pendant 12 à 16 heures. L'absorbance est ajustée à 0,700 à 734nm. Le test consiste à faire réagir **160uL** de cette solution avec **40uL** d'extrait pendant **10 minutes** avant la lecture à **734nm**.

2.2.13.3 Pouvoir réducteur (FRAP) L'évaluation de la capacité à réduire le fer ferrique **(Fe^3+)** en fer ferreux **(Fe^2+)** s'est déroulée selon Oyaizu (1986) : 10uL d'extrait + 40uL de tampon phosphate (pH 6,6) + 50uL de ferricyanure de potassium **[K3Fe(CN)6 à 1\%].** Après incubation à 50°C pendant 20 minutes, 50uL d'acide trichloracétique [TCA à 10%] sont ajoutés, suivis de 40uL} d'eau et 10uL de chlorure ferrique [FeCl3 à 0,1%]. L'absorbance est mesurée à 700nm.

2.2.14 Activité antioxydant L'évaluation repose sur l'inhibition de la dénaturation de la sérum-albumine bovine (BSA) selon la méthode de Kandikattu et al. (2013), modifiée par l'ingénieur HAMDI Mahdi (CRBT) :

Solutions : Un tampon Tris HCl (0,05M , pH 6,6) est préparé par dissolution de 1,2144g de Tris-base dans 200 mL d'eau bi distillée.

La BSA à 0,5% est préparée dans ce tampon.

Procédure : 100uL d'extrait de résine (préparé à partir d'une solution mère à 16000 ppm) sont mélangés à 100uL de BSA 0,5%. Le mélange est incubé au bain-marie à 72C° pendant 20 minutes.

La turbidité est mesurée après refroidissement à 660nm.

Le Diclofenac sodique (2000ppm) sert de standard

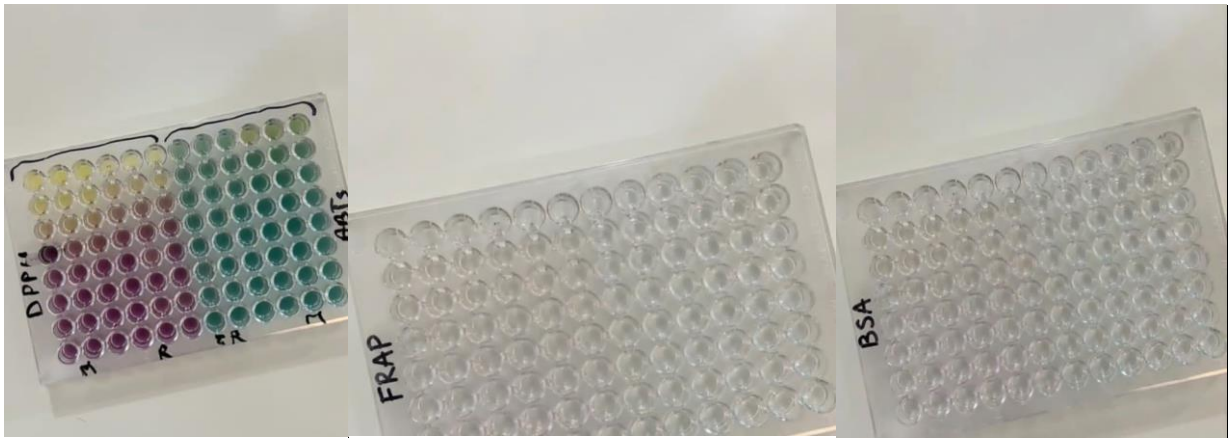


Figure 10: tests des activités antioxydant et anti-inflammatoire sur microplaques.

2.2.15 pH (dans le sol/ sédiments - adaptable) Mesurer le pH du pansement (extrait aqueux)

Préparation de l'échantillon

- Peser 10 g d'échantillon.
- Ajouter 100 mL d'eau distillée (rapport1/10)

- Agiter pendant 30 minutes
- Laisser décanter ou filtrer si nécessaire

Étalonnage du pH-mètre

- Rincer l'électrode à l'eau distillée.
- Étalonner avec des solutions tampons (généralement pH 4,00 ; 7,00 et 10,00).

Mesure

- Plonger l'électrode dans l'échantillon
- Agiter doucement.
- Attendre la stabilisation de la valeur.
- Lire et noter le pH.

Expression du résultat PH de pansement t=

Interprétation

- PH < 7 : milieu acide
- PH = 7 : milieu neutre
- PH > 7 : milieu basique (alcalin)

Partie 3 :
Résultats et Discussion

Rendement de l'extraction par macération méthanolique :

Le processus de macération solide-liquide à l'aide du méthanol a été appliqué sur une masse initiale de **46,23g** de résine de pin brute. Après filtration et évaporation complète du solvant, la masse du flacon contenant l'extrait sec est passée de **200,30g** (flacon vide) à **227,98g**, ce qui correspond à une masse d'extrait sec de **27,68g**.

Le rendement d'extraction global est calculé ainsi :

Calcul du rendement d'extraction

Teneur du rendement d'extraction

$$(\%) = \left[\frac{M2-M1}{M}\right] \times 100$$

M : prise d'essai résine = 46,23g

M1 : M flacon vide = 200,30g

M2: M flacon matière grasse après Séchage = 227,98g

R macérations = 59,87%

Ce rendement élevé de près de 60 % démontre l'excellente affinité et la grande solubilité des constituants majeurs de la résine de pin (notamment l'acide abiétique et ses dérivés) dans les solvants polaires comme le méthanol.



Figure 11 : l'extrait méthanolique de résine de pin.

1. Résultats du criblage phytochimique :

Metabolite Secondaire	Extrait1	Extrait 2	Extrait 3	Résultat positif attendu
Quinones	 +++	 +++	 +++	Apparition d'une coloration rouge.
Phénols	 +++	 -	 -	Apparition d'une coloration bleu-noir.
Flavonoïdes	 ++	 +++	 ++	Apparition d'une coloration jaune à orangée.
Tanins	 +++	 -	 -	Apparition d'une coloration vert-noir ou bleue.

Saponines	 +	 -	 -	Agiter le tube et observer la formation d'une mousse.
Acid résinique	 +++	 +	 +++	Formation d'un précipité blanc.
Tèrpenes	 +++	 -	 -	Apparition d'un précipité rouge.
Alcaloïdes	 ++	 -	 -	Apparition d'un précipité blanc ou d'une coloration verte.

Tableau 3 : Résultats du criblage phytochimique de la poudre de résine de pin, de la macération de gomme de pin dans l'huile d'olive et de l'huile d'olive.

Extrait 1 : Poudre de la résine de pin extraite au méthanol.

Extrait 2 : Extrait méthanolique du macéra de la résine de pin dans l'huile d'olive.

Extrait 3 : Mélange d'huile d'olive et de la résine de pin.

(+++) Forte présence, (++) présence modérée, (-) absence.

1.2. Discussion des résultats :

1.2.1 Quinones :

Les quinones ont été mises en évidence dans l'ensemble des échantillons analysés. Ce résultat indique que ces composés possèdent une bonne aptitude à être extraits aussi bien par le méthanol que par l'huile d'olive. Leur présence continue témoigne également de leur stabilité au cours des étapes de macération et de conservation.

1.2.2 Phénols :

La présence des phénols a été observée uniquement dans l'échantillon 1, tandis qu'ils étaient absents dans les échantillons 2 et 3. Ce résultat indique que le méthanol a permis une extraction efficace de ces composés à partir de la poudre de résine grâce à leur caractère polaire. En revanche, lors de la macération dans l'huile d'olive, l'extraction des phénols a été faible ou leur concentration est devenue inférieure au seuil de détection des tests utilisés, ce qui explique leur absence dans les échantillons 2 et 3.

1.2.3 Flavonoïdes :

Les flavonoïdes ont été détectés dans les trois échantillons. Cela montre que ces composés sont présents dans la résine de pin et qu'ils peuvent être extraits aussi bien par le méthanol que par l'huile d'olive, bien que probablement à des degrés différents. Leur présence persistante dans les échantillons 2 et 3 suggère également une bonne stabilité chimique au cours de la macération huileuse.

1.2.4 Tanins :

Les tanins n'ont été détectés que dans l'échantillon 1 et étaient absents dans les échantillons 2 et 3. Cette observation peut être expliquée par leur forte polarité, qui favorise leur solubilité dans les solvants alcooliques tels que le méthanol, tandis que leur extraction dans l'huile d'olive, de nature apolaire, demeure très limitée.

1.2.5 Saponines :

Les saponines ont été détectées uniquement dans l'échantillon 1. Étant des composés fortement polaires, elles sont efficacement extraites par le méthanol. En revanche, leur extraction dans l'huile d'olive est très faible, ce qui justifie leur absence dans les échantillons 2 et 3.

1.2.6 Acides résiniques :

Les acides résiniques ont été mis en évidence dans les trois échantillons. Ce résultat est attendu puisqu'ils représentent les principaux constituants de la résine de pin. Leur bonne solubilité dans les solvants organiques ainsi que dans les huiles végétales explique leur présence aussi bien dans l'extrait méthanolique que dans le macérât huileux.

1.2. 7 Terpènes :

Les terpènes ont été détectés uniquement dans l'échantillon 1, bien que les résines de pin soient généralement riches en ces composés. Cette observation peut être attribuée à une diminution de leur concentration dans les échantillons 2 et 3, soit à la suite de leur transfert vers le milieu huileux, soit en raison de leur volatilisation partielle lors du stockage ou de la préparation des échantillons, rendant leur détection plus difficile.

1.2.8 Alcaloïdes :

L'échantillon 1 a présenté une réaction positive pour les alcaloïdes, alors que les échantillons 2 et 3 se sont révélés négatifs. Cette différence s'explique par la meilleure solubilité des alcaloïdes dans les solvants polaires tels que le méthanol, tandis que l'huile d'olive ne constitue pas un milieu favorable à leur extraction.

2. Rendement en matière grasse brute (Extraction par Soxhlet)

L'extraction continue par le Soxhlet en utilisant l'hexane comme solvant a été réalisée sur une prise d'essai de 50,24g de résine brute. Les données de pesées ont donné une masse de ballon vide de 273,27g et une masse finale après séchage de 279,63g, soit une masse de fraction lipidique/apolaire de 6,36 g.

Le rendement en matière grasse brute est défini par :

Calcul : Teneur en matière grasse (%) = [(M2 - M1) / M] × 100

M : prise d'essai Résine=50,24g

M1 : M ballon vide=273,27g.

M2 : M ballon + matière grasse après séchage=279,63

Teneur en matière grasse (%) =12,65%.

La fraction extraite à l'hexane (12,65 %) représente la portion hautement hydrophobe et volatile (acides gras libres, cires et fractions terpéniques apolaires) de l'oléorésine. La différence notable entre le rendement méthanolique (60 %) et le rendement à l'hexane (12,65 %) s'explique par la nature chimique de la résine, qui contient une forte proportion de composés de polarité intermédiaire à élever, préférentiellement solubilisés par le méthanol.

2.2 Dosage des sucres totaux de la résine de pin

Le dosage des sucres totaux a été réalisé selon la méthode colorimétrique au phénol-acide sulfurique (Dubois et al., 1956). Cette méthode quantitative est basée sur la déshydratation des oses en milieu acide concentré pour former des dérivés furfuriques, qui réagissent ensuite avec le phénol pour donner une coloration jaune-orangé mesurable à 490nm.

La quantification de la teneur en sucres dans notre échantillon de résine a été déterminée en se référant à la courbe d'étalonnage standard du glucose, représentée par l'équation linéaire suivante :

$Y = 4,6228x \quad (R^2 = 0,945)$

Tableau 4: Teneur en sucres totaux de l'extrait de résine de pin

Échantillon	Absorbance moyenne (à 490nm)	Concentration dans le tube (mg/ml)	Teneur en sucres totaux (mg EG/g)
Résine de pin	**0,275**	**0,0595**	**59,5**

Les résultats analytiques montrent que la résine de pin a enregistré une teneur en sucres totaux estimée à 59,5 mg EG/g.

La résine de pin est un exsudat végétal complexe, principalement constitué d'une fraction volatile (mono terpènes de l'huile essentielle) et d'une fraction non volatile (acides résiniques hydrophobes tels que l'acide abiétique). La présence de composés glucidiques solubles, bien que minoritaire par rapport aux constituants lipophiles majoritaires, s'explique sur le plan physiologique par les traces de sève (brute ou élaborée) qui sont physiologiquement entraînées lors du processus d'exsudation et de secrétion par les canaux résinifères de l'arbre. De plus, la littérature scientifique indique que certains métabolites secondaires présents dans les résines de conifères peuvent être liés à des molécules de sucres sous forme de hétérosides (glycosides terpéniques), contribuant ainsi à cette fraction glucidique détectée. Cette concentration modérée en sucres totaux peut jouer un rôle crucial dans les propriétés physico-chimiques de la résine. Elle peut influencer positivement sa solubilité, son hydrophobicité, ainsi que sa stabilité lors de son incorporation ultérieure dans des formulations biotechnologiques ou des systèmes de libération de principes actifs.

2.3 Teneur en azote total et en protéines brutes

Les valeurs obtenues par la méthode macro-Kjeldahl pour la quantification de l'azote et l'estimation des protéines de la résine brute sont consignées dans le (Tableau 5).

Tableau 5 : Teneurs en azote total et en protéines de la résine de pin. Tableau II.2 : Teneurs en azote total et en protéines de la résine de pin.

Échantillon	Teneur en Azote Total (N\%)	Teneur en Protéines Brutes (%)
Résine de pin	**0,021%**	**0,1312%**

Les résultats indiquent des taux extrêmement bas en azote total (0,021 %) et par conséquent en protéines brutes (0,1312 %). Ces données biochimiques confirment que la résine de pin n'est pas un tissu de réserve ou d'accumulation protéique, mais un produit de sécrétion métabolique secondaire. La présence de traces de protéines pourrait être attribuée à des débris cellulaires microscopiques ou à des enzymes résiduelles impliquées dans les voies de biosynthèse des terpènes lors de l'écoulement de l'exsudat.

2.4 Teneur en humidité et en matière sèche

Les résultats de la détermination de la teneur en humidité (H%) et en matière sèche (MS\%) par méthode gravimétrique sont consignés dans le (tableau 5).

Tableau 6 : Teneurs en humidité et en matière sèche de la résine de pin.

Échantillon	Humidité	Matière Sèche	Matières grasses (brut)	Matières grasses (sur sec)
Résine	**7,00 %**	**93,00 %**	**12,66 %**	**13,61 %·**

L'analyse des résultats du tableau 5 (document Teneur en humidité **(7,00 %)** et en matière sèche **(93,00 %)** : Ce taux d'humidité, bien que faible, reflète l'état brut et naturel de l'exsudat oléorésineux. Une valeur de 7,00 % est idéale car elle maintient une flexibilité initiale de la matière tout en limitant la quantité d'eau libre disponible. Sur le plan biotechnologique, cela renforce la stabilité de notre pansement "GYN BIO" en inhibant la prolifération bactérienne ou fongique accidentelle et en prévenant les réactions d'hydrolyse prématurées au stockage **Matières grasses (12,66 % brut et 13,61 % sur sec) :** Cette fraction lipidique et terpénique représente le cœur actif et structurel de la formulation. Sa présence à hauteur de 13,61 % (sur sec) confère au pansement final un caractère hydrophobe essentiel. D'une part, cela évite la dissolution instantanée ou le délavage rapide du pansement au contact des sécrétions utéro-vaginales humides. D'autre part, ces lipides naturels agissent en synergie avec l'huile d'olive ajoutée pour assurer la plasticité, la souplesse et la cohésion de la membrane fine, permettant une libération prolongée et ciblée des principes actifs sur les muqueuses lésées.

2.5 Teneur en matières minérales (Cendres)

Les résultats de la calcination à **550°C** pour la détermination de la teneur en cendres de la résine de pin

Calcul de la masse des cendres M cendres = 82,67 - 82,65 = 0,02g

Calcul de la masse de l'échantillon M échantillon = m1 – mo 83,65 - 82,65 = 1g

Teneur en cendres : 0,02/1*100=2%

La teneur en matières minérales est de 2 %.

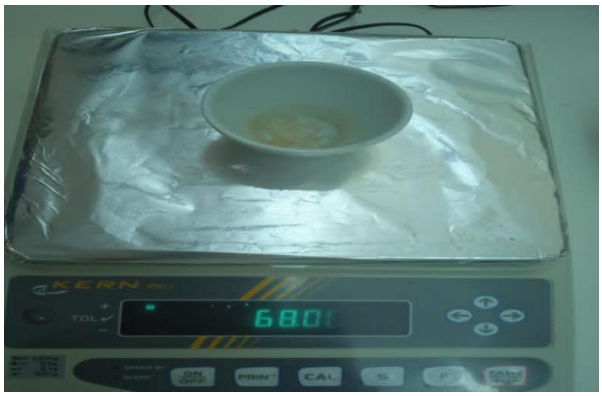


Figure 12: Teneur en matières minérales

Discussion la teneur en matières minérales :

Cette faible teneur en matières minérales (2 %) témoigne de la haute pureté de l'oléorésine de pin brute récoltée, indiquant l'absence quasi-totale de contaminations externes ou d'impuretés environnementales (telles que la terre ou les débris de cortex).

2.6 Évaluation de l'activité antioxydant

L'évaluation du potentiel antioxydant de l'extrait brut de la résine de pin a été réalisée en combinant trois méthodes complémentaires : le piégeage des radicaux libres DPPH et ABTS, ainsi que le pouvoir réducteur du fer (FRAP).

2.6.1 Test de piégeage des radicaux libres (DPPH et ABTS)

Les tests DPPH et ABTS ont montré que la résine de pin possède une activité antioxydant significative, grâce à sa capacité à neutraliser les radicaux libres par don d'électrons ou d'atomes d'hydrogène. Cette activité est confirmée par la diminution de l'absorbance et la décoloration des solutions, traduisant un bon pouvoir de piégeage des radicaux libres.

2.6.2 Test du pouvoir réducteur (FRAP)

Ce test a permis de quantifier la capacité de la résine de pin à donner un électron pour réduire le fer ferrique **(Fe3+)** en fer ferreux **(Fe2+).** Cette réaction conduit à la formation d'un complexe coloré dont l'absorbance, mesurée à 700 nm, augmente proportionnellement avec l'activité réductrice de l'échantillon. Conclusion partielle : Les tests sont un succès, confirmant de manière significative la présence d'une activité antioxydant bien réelle chez l'extrait de résine de pin.

2.7 Évaluation de l'Activité Anti-inflammatoire In-vitro

L'activité anti-inflammatoire in-vitro de la résine de pin a été mise en évidence à travers l'étude de l'inhibition de la dénaturation thermique de la sérum-albumine bovine (BSA). Les résultats révèlent une activité anti-inflammatoire visible et exploitable. L'analyse de la microplaque met en évidence deux faits majeurs : La colonne 4, correspondant au standard/contrôle de référence (Diclofenac sodique), fonctionne parfaitement, ce qui valide la rigueur des conditions opératoires du protocole. La colonne 5, dédiée à l'évaluation, montre une belle gradation de couleur, traduisant graphiquement un effet dose-réponse très net. Le taux d'inhibition de la dénaturation protéique évolue en fonction de la concentration de la substance active.

2.8 Évaluation de l'Activité Antibactérienne

L'activité antibactérienne de l'extrait méthanolique de la résine de pin a été déterminée par la méthode de diffusion en gélose par puits face à deux souches bactériennes de référence : **Staphylococcus aureus (Gram-positif)** et **Escherichia coli (Gram-négatif)**.

Après une période d'incubation à 37°C pendant 48 heures, les diamètres des zones d'inhibition (exprimés en centimètres) ont été mesurés. Les résultats de la résine de pin sont consignés dans le tableau ci-dessous :

Tableau 7 : Diamètres des zones d'inhibition (cm) de la résine de pin

	Résine de pin		
	Solution mère	Dulition 1 /2	Dulition 1/4
E .coli	/	1 cm	1cm
	1, 3cm	1,2 cm	2 cm
SA	1cm	1,6 cm	2 cm
	1,3cm	1,7 cm	2 cm

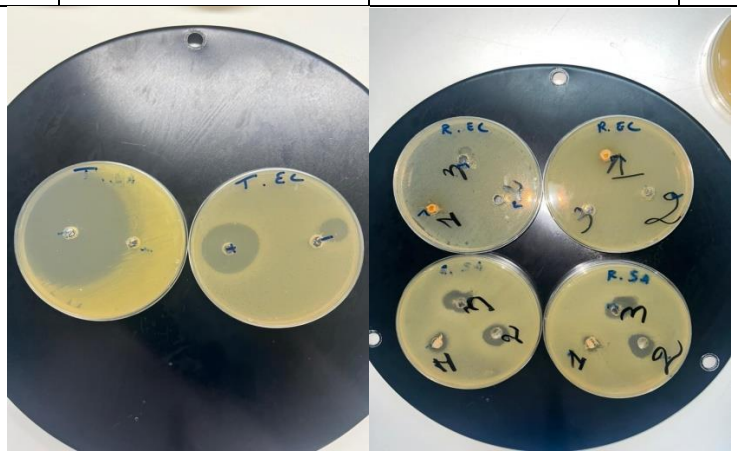


Figure 13: Zones d'inhibition de l'extrait de résine de pin et des témoins face aux souches bactériennes testées.

Discussion des propriétés antimicrobiennes :

Les essais antimicrobiens montrent que la résine de pin possède une forte activité contre Staphylococcus aureus (Gram+), avec un diamètre d'inhibition atteignant 2,0 cm à la dilution 1/4, tandis qu'elle présente une activité limitée contre Escherichia coli (Gram−), en raison de la membrane externe protectrice de cette bactérie. L'amélioration de l'activité aux dilutions est attribuée à la diminution de la viscosité de l'extrait, qui favorise la diffusion des composés actifs dans la gélose et augmente leur efficacité antibactérienne.

2.9 Détermination du pH du pansement (Extrait aqueux)

La mesure de la valeur du pH de l'extrait aqueux de notre pansement bioactif, réalisée à une température contrôlée de **25,3°C** au moyen d'un pH-mètre de paillasse calibré (**figure 14)** a révélé la valeur exacte suivante :

PH de pansement = 4,30



Figure 14: Mesure expérimentale du pH de l'extrait aqueux du pansement bioactif.

Discussion des résulta PH :

L'obtention d'un pH de 4,30 pour notre pansement bioactif constitue un résultat technologique majeur pour notre projet Start-up, validant ainsi sa parfaite biocompatibilité avec le milieu utéro-vaginal :

Respect de l'homéostasie et de l'acidité physiologique :

Le pH vaginal et cervical sain oscille physiologiquement entre 3,8 et 4,5. Une valeur de 4,30 démontre que notre dispositif médical "GYN BIO" s'intègre harmonieusement dans ce microenvironnement sans perturber l'équilibre acido-basique naturel. **Protection de la flore résidente (Maintien de l'écosystème) :** Ce milieu acide (4,30) est idéal pour stimuler la viabilité et la prolifération des bactéries bénéfiques de la flore protectrice (Lactobacillus ou

Bacilles de Döderlein). En parallèle, il crée des conditions hostiles qui inhibent la croissance des micro-organismes pathogènes opportunistes (tels que Staphylococcus aureus ou Candida albicans) responsables des infections et des vaginites.

Innocuité et tolérance tissulaire : L'application de ce pansement à base de résine de pin et d'huile d'olive à ce pH optimal garantit une totale absence d'irritation chimique ou de brûlure sur la muqueuse déjà enflammée ou ulcérée du col de l'utérus, accélérant ainsi le processus de reépithélialisation et de cicatrisation saine.

Conclusion Partielle:

En conclusion, l'ensemble des investigations biologiques menées sur l'extrait de résine de pin a permis de confirmer scientifiquement son remarquable potentiel thérapeutique et pharmacologique.

D'une part, la convergence des résultats des tests DPPH, ABTS et FRAP a mis en évidence une puissante activité antioxydante multifonctionnelle, capable de neutraliser efficacement les radicaux libres.

D'autre part, l'évaluation in-vitro a révélé des propriétés anti-inflammatoires prometteuses à travers un effet dose-réponse net sur l'inhibition de la dénaturation des protéines.

Enfin, le criblage antibactérien a démontré une action inhibitrice remarquable et sélective, particulièrement puissante contre la souche Gram-positif Staphylococcus aureus.

Ces propriétés bioactives majeures (antioxydante, anti-inflammatoire et antimicrobienne) validées lors de cette étude justifient pleinement et soutiennent rationnellement l'utilisation de cet extrait naturel comme agent actif dans la formulation et le développement de notre produit (ovules bioactives).

Partie 4 :
Formulation du Pansement Bioactif et Biodégradable

4.1. Contexte et Objectif de la Formulation

L'objectif de cette étape est de concevoir et d'optimiser la formulation d'un pansement bioactif et biodégradable (Projet GYN BIO), combinant les propriétés thérapeutiques validées de la résine de pin et de l'huile d'olive. La formulation vise à obtenir une matrice polymérique stable, biocompatible, et capable de libérer de manière contrôlée les principes actifs, tout en assurant une dégradation naturelle et sûre.

4.2 Matériaux et choix des composants

4.2.1 Principes actifs majeurs

La résine de pin : Agent bioactif principal, introduit pour ses propriétés antimicrobiennes, antioxydants et cicatrisantes validées.

L'huile d'olive : Coactif lipophile, agissant comme un vecteur naturel pour la résine, tout en apportant des propriétés émollientes et nourrissantes pour les tissus.

4.2.2 Excipients et agents de formulation:

Les Bio polymères matrices :

L'association de la (polymère protéique) et de la (polymère cellulosique) constitue la trame structurelle du pansement. Ils assurent la gélification, la solidité mécanique et la capacité d'absorption des exsudats.

L'Agent Plastifiant :

Est intégrée pour conférer de la flexibilité, de la souplesse et de l'élasticité au film polymérique, évitant ainsi qu'il ne devienne cassant après séchage.

L'Agent Émulsifiant:

Est essentielle pour stabiliser l'émulsion entre la phase aqueuse (bi polymères) et la phase huileuse (huile d'olive et résine), garantissant une distribution homogène des actifs.

L'Agent de Consistance : (introduite en faible quantité) hydrophobe, renforce la barrière protectrice du pansement et ajuste sa texture.

L'Agent Conservateur / Antioxydant : fait office de conservateur naturel pour protéger la phase lipidique contre l'auto-oxydation (rancissement) et prolonger la durée de conservation du pansement.

4.3 Protocole Opératoire Général (Mode Opératoire)

La préparation du système matriciel bioactif s'est déroulée en trois étapes principales, basées sur l'incorporation de la phase active lipophile au sein d'un hydrogel polymérique :

4.3.1 Préparation de la matrice hydrogel (Phase aqueuse)

Dans un bécher sous agitation magnétique constante et à température contrôlée (45°C), la matrice polymérique biodégradable (mélange de biopolymères structurants) a été dissoute

dans de l'eau distillée jusqu'à l'obtention d'un gel homogène. Un agent plastifiant naturel a ensuite été incorporé à cette phase pour optimiser la souplesse, l'élasticité et la flexibilité du futur film.

4.3.2 Préparation de la phase lipophile bioactive

En parallèle, la phase hydrophobe a été préparée à chaud (60°C) pour assurer la fusion des composants. L'huile d'olive et la résine de pin (principes actifs majeurs) ont été intimement mélangées. À ce milieu, un agent de consistance naturel a été ajouté pour ajuster la texture, ainsi qu'un agent conservateur/antioxydant lipidique afin de protéger les acides gras et les composés terpéniques contre l'auto-oxydation.

4.3.3 Émulsification, Coulée et Séchage

Une fois les deux phases prêtes, la phase lipophile bioactive a été introduite progressivement dans la matrice hydrogel sous agitation mécanique vigoureuse. L'homogénéisation et la stabilité de ce système biphasique ont été assurées par l'ajout d'un agent émulsifiant biosourcé.

Après élimination des bulles d'air, le mélange final a été coulé de manière uniforme dans des moules calibrés (Moulage), puis soumis à un processus de séchage contrôlé (évaporation du solvant) jusqu'à l'obtention des membranes souples constituant le produit fini (GYN BIO), prêtes pour le conditionnement final.

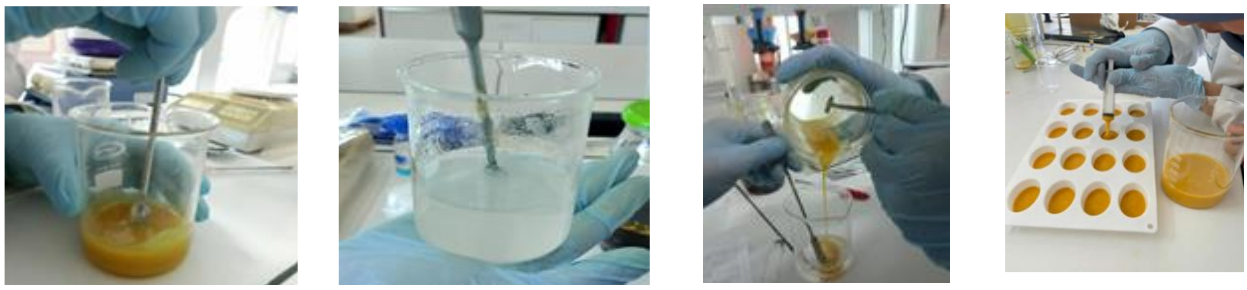


Figure 15: Différentes étapes du procédé de formulation du produit (GYN BIO) : de la préparation des phases à la coulée dans les moules.

4.4 Résultats de la formulation et aspect macroscopique

Après finalisation du processus de séchage et d'évaporation contrôlée du solvant, le pansement bioactive a été démoulé avec succès. Le système final se caractérise par des propriétés morphologiques et physiques optimales, répondant parfaitement:

4.4.1 Caractéristiques morphologiques et aspect visuel

Géométrie et Forme : Les membranes se présentent sous une forme ovale (ovoïde) bien définie, régulière et mince, épousant parfaitement le design géométrique des moules calibrés utilisés lors de la coulée.

Flexibilité et Texture : Le produit fini affiche une excellente souplesse structurelle (membranes hautement flexibles, malléables et douces au toucher), ce qui garantit une adaptation morphologique aisée lors de l'application cutanée ou topique.

Homogénéité et Couleur : Visuellement, les membranes présentent une coloration naturelle beige-dorée homogène, caractéristique de la résine de pin et de l'huile d'olive. La surface est lisse, uniforme, exempte de bulles d'air ou de microfissures visibles.

Stabilité de l'Émulsion : Aucun phénomène de synérèse ou d'exsudation d'huile (séparation de phase lipidique) n'a été observé à la surface de la matrice polymérique, ce qui confirme la parfaite efficacité du processus d'émulsification et la stabilité physique à long terme de la formulation (GYN BIO).

4.5 Illustration expérimentale du produit fin

.

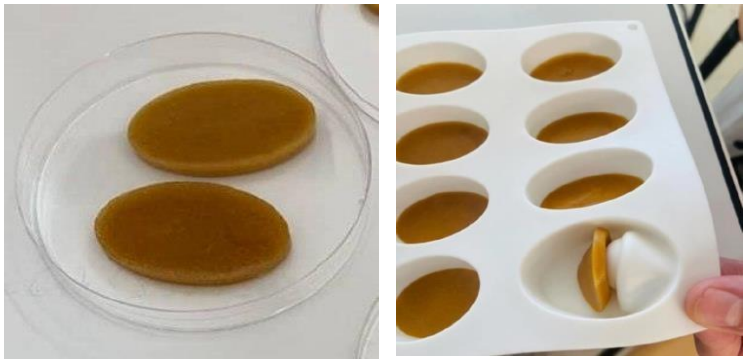


Figure16 : Aspect macroscopique et caractéristiques morphologiques du pansement bioactif ovale (GYN BIO) après démoulage et avant conditionnement final.

4.6 Présentation du prototype final et conditionnement (le packaging)

Le conditionnement final du produit (GYN BIO) a été conçu pour répondre aux normes strictes des dispositifs médicaux et de soin, assurant à la fois la protection, la stérilité et la stabilité à long terme de la formulation.

4.6.1 Caractéristiques du Conditionnement Final

Protection Individuelle (Pouch): Chaque pansement bioactif ovale est scellé individuellement dans un sachet hermétique (Pouch) étanche. Ce conditionnement protège la

formulation contre l'humidité, la contamination microbienne extérieure et l'oxydation de la phase lipidique (huile d'olive et résine de pin). **Boîtier de Protection :** Les sachets individuels sont disposés de manière ergonomique dans un boîtier rigide, transparent et hygiénique, qui facilite le stockage et l'utilisation quotidienne.

Étiquetage et Identité Visuelle : Le packaging arbore une identité visuelle claire mettant en avant la naturalité et la spécificité du produit : "GYN BIO - Soins Naturels pour l'Équilibre Intime", avec mention explicite des actifs phares (Résine de pin et Huile d'olive).

4.7 Illustration du prototype commercialisable :



Figure17 : Présentation du prototype final et du packaging commercialisable de la gamme (GYN BIO).

Conclusion générale

La santé de la femme constitue un domaine essentiel nécessitant des solutions thérapeutiques innovantes, efficaces et sûres. C'est dans cette perspective que s'inscrit notre projet de développement de pansements biologiques naturels à base d'extrait d'huile d'olive et de résine de pin destinés au traitement des lésions et ulcérations du col de l'utérus. L'étude réalisée a mis en évidence le potentiel thérapeutique prometteur de ces composants naturels, notamment grâce à leurs propriétés cicatrisantes, anti-inflammatoires et antimicrobiennes, favorisant ainsi la régénération des tissus et la prévention des infections.

Ce projet se distingue par son caractère innovant, associant la recherche scientifique à la valorisation des ressources naturelles locales afin de concevoir un produit de santé à forte valeur ajoutée. Il s'inscrit également dans les tendances actuelles de la biomédecine et du développement durable, qui encouragent l'utilisation de solutions naturelles respectueuses de la santé et de l'environnement.

Sur le plan économique, cette initiative représente une opportunité de création d'une startup innovante capable de répondre à un besoin réel du marché de la santé féminine. Elle contribue également à la promotion de l'entrepreneuriat, à la création d'emplois et à la valorisation des richesses naturelles nationales, avec des perspectives d'expansion vers les marchés nationaux et internationaux.

Toutefois, la concrétisation de ce projet nécessite la poursuite des travaux de recherche et développement, ainsi que la réalisation d'essais précliniques et cliniques permettant de confirmer l'efficacité et l'innocuité du produit conformément aux normes sanitaires en vigueur.

Et enfin, ce projet constitue un modèle prometteur de startup fondée sur l'innovation et la valorisation des ressources naturelles. Il illustre l'importance du rapprochement entre la recherche scientifique et l'entrepreneuriat dans le développement de solutions de santé durables, capables d'améliorer la qualité de vie des patientes tout en contribuant au développement économique et social.

Annexes

Matériel utilisé au laboratoire :

Réactifs chimiques

Criblage phytochimique :

- Méthanol
- Chlorure de fer (III) — $FeCl_3$ (10% et 5%)
- Hydroxyde de sodium — NaOH (10%)
- Acide sulfurique concentré — H_2SO_4 (98%)
- Acide trichloracétique
- Chlorure mercurique — $HgCl_2$
- Iodure de potassium — KI
- Acide chlorhydrique concentré — HCl
- Eau distillée

Extraction Soxhlet :

- Hexane (solvant d'extraction)
- Dosage des sucres (Dubois) :
- Acide sulfurique — H_2SO_4 (0,5M et 98%)
- Phénol (5%)

Dosage Kjeldahl :

- Sulfate de cuivre — $CuSO_4$
- Acide sulfurique concentré — H_2SO_4
- Hydroxyde de sodium — NaOH (40 mL)
- Acide borique — H_3BO_3
- Indicateur de Tashiro
- Solution d'acide sulfurique standardisée (titrage)

Tests antioxydants :

- DPPH (4 mg/100 mL méthanol)
- ABTS (7 mM)
- Persulfate de potassium — $K_2S_2O_8$ (2,45 mM)
- Ferricyanure de potassium — $K_3Fe(CN)_6$ (1%)
- Acide trichloracétique — TCA (10%)
- Chlorure ferrique — $FeCl_3$ (0,1%)
- Tampon phosphate (pH 6,6)

- Méthanol

Test anti-inflammatoire (BSA) :

- Sérum-albumine bovine — BSA (0,5%)
- Tampon Tris-HCl (0,05M, pH 6,6)
- Tris-base (1,2144 g / 200 mL)
- Diclofénac sodique (standard, 2000 ppm)

Activité antibactérienne :

- Gélose Mueller-Hinton (MHA)
- Méthanol pur (témoin négatif)
- Cloxicilline (témoin positif)
- Échelle de McFarland 0,5

Mesure du pH :

- Solutions tampons pH 4,00 / 7,00 / 10,00
- Eau distillée

Appareils et équipements :

1. Broyeur électrique
2. Tamis 200 µm
3. Appareil de Soxhlet
4. Évaporateur rotatif
5. Spectrophotomètre UV-Vis
6. Microplaques 96 puits
7. PH-mètre de paillasse Mesure
8. Four à moufle
9. Étuve
10. Appareil de Kjeldahl
11. Bain-marie
12. Agitateur magnétique
13. Balance analytique
14. Centrifugeuse / Filtration

Souches bactériennes

1. Staphylococcus aureus (Gram positif)
2. Escherichia coli (Gram négatif)

Matériel biologique

1. Résine brute de Pin d'Alep (*Pinus halepensis*)
2. Huile d'olive (*Olea europaea L.*)

Références

Références :

[1] A. Chevallier, Larousse des plantes médicinales : Identification, préparation, soins, Éd. Larousse, 2017.

[2] C. Gompel, Dépistage du cancer du col utérin, Maloine/1re éd, 2005.

[3] J. J. e. S. A. Jokinen, « Refined spruce resin to treat chronic wounds: rebirth of an old folkloristic therapy,» *Advances in Wound Care,* vol. 5, n° %15, pp. 198-207, 2016.

[4] F. G. A. B. S. A. e. A. N. Kotti, «Potential effects of phenolic compounds present in olive oil on wound healing,» *Foods,* vol. 10, n° %17, 2021.

[5] P. R. R. K. S. e. P. M. A. Murray, Medical Microbiology, Elsevier/9th ed, 2021.

[6] G. Chen, «Virulence factors and pathogenicity islands: Deciphering microbial pathogenesis,» *Microbiology: Current Research,* vol. 8, n° %11, p. 190, 2024.

[7] OpenStax, «Microbiology,» chez *Microbial mechanisms of pathogenicity (Chapitre 15)*, OpenStax, Rice University, 2020.

[8] M. Khiati, Guide des maladies infectieuses et parasitaires, Alger: Office des Publications Universitaires (OPU), 2004.

[9] Y. B. É. D. Y. e. D. L. Mouton, Antibiotiques, antiviraux, anti infectieux, John Libbey Eurotext, 2000.

[10] N. Lauwerier, EDN anti-infectieux : Les fondamentaux en infectiologie classés par rangs de connaissances et les protocoles de choix du bon anti-infectieux, Vuibert/7e éd, 2020.

[11] M. W. G. e. G. R. (. -. É. s. d. p. Talbert, Le guide pharmaco clinique, Le Moniteur des pharmacies, 2020.

[12] P. e. L. C. (. -. É. s. d. p. Beaulieu, Précis de pharmacologie : Du fondamental à la clinique, Montréal: Les Presses de l'Université de Montréal/2e éd, 2009.

[13] Y. Touitou, «Pharmacologie et thérapeutiques,» chez *UE 2.11 – Le médicament, ses formes, ses usages et ses risques. Les familles thérapeutiques. La réglementation et le circuit de distribution*, Paris, Elsevier Masson, 2013, p. pp. 128–130.

[14] M. Bignon, «Audit de pratique concernant le renouvellement des antiagrégants plaquettaires en prévention primaire chez le patient de plus de 75 ans,» 2021.

[15] L. L. H.-D. R. e. K. B. C. (. -. É. s. d. p. Brunton, Goodman & Gilman's: The Pharmacological Basis of Therapeutics, McGraw-Hill Education/13th ed, 2018.

[16] M. Harif, «Hémostase: De la physiologie à la pathologie,» Faculté de Médecine et de Pharmacie, Casablanca, Maroc, 2007.

[17] F. F. C. e. G. T. Horellou, «Hémostase : physiologie et principaux tests d'exploration,» *EMC – Traité de médecine,* vol. 7, n° %12, p. 1–4, 2012.

[18] M. e. M. E. Carvalho, «Mécanisme d'action des agents tissulaires hémostatiques et adhésifs topiques,» *Journal médical du Minas Gerais,* vol. 23, n° %14, p. 488–493.

[19] X. N. H. e. W. C. (. -. É. s. d. p. Fan, Natural and bio based antimicrobials for food applications(ACS Symposium Series (Vol. 1287)), American Chemical Society, 2018.

[20] J. &. D. H. B. &. G. M. &. E. S. M. &. S. C. Bénard, Gynécologie-Obstétrique : Tout-en-un ECN, Paris: Éditions Estem, 2015.

[21] P.-V. Fournier, Dictionnaire des plantes médicinales et vénéneuses de France, Paris: Omnibus, 2010.

[22] R. Doucet, Les mauvaises herbes agricoles, La Science agricole / A. Berger, 2013.

[23] I. Nahal, «Annales de l'École Nationale des Eaux et Forêts de Nancy,» *Le Pin d'Alep (Pinus halepensis Mill.) : Étude taxonomique, phytogéographique, écologique et sylvicole,* vol. 19,

n° %14, p. 208 p, 1962.

[24] B. &. D. J. Biju-Duval, «La genèse de la Méditerranée,» *La Recherche,* vol. 71, pp. 811-822, (1976).

[25] C. Thorogood, Guide des fleurs sauvages de Méditerranée occidentale, Delachaux et Niestlé, 2021.

[26] R. &. L. J. &. M. J. Merger, Précis d'obstétrique, Masson/(6e éd.), 2001.

[27] Ciulci, Methodology for the Analysis of Vegetable Drugs, UNIDO, Éd., Romania, 1994, pp. 26-67.

[28] R. J. A. Sangeetha, «Phytochemical Screening of Punica granatum Linn. Peel Extracts,» *Journal of Academic and Industrial Research,* vol. 4, p. 160–162, 2015.

[29] E. A. A. G. Y. A. F. Qnais E.Y., «Antidiarrheal Activity of the Aqueous Extract of Punica granatum (Pomegranate) Peels,» *Pharmaceutical Biology,* vol. 45, n° %19, p. 715–720, 2007.

[30] a. d. K. C. R. b. a. Nagaraju kancherla., «Preliminary Analysis of Phytoconstituents and Evaluation of Anthelminthic Property of Cayratia auriculata (In Vitro),» vol. 14, n° %14, p. 350–356, 2019.

[31] A.-R. K. A.-M. Z. W. Hossain MA, «Study of total phenol, flavonoids contents and phytochemical screening of various leaves crude extracts of locally grown Thymus vulgaris,» *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine,* n° %13, p. 705–710, 2013.

[32] R. A. Chonoko U.G., «Phytochemical screening and antibacterial activity of Cucurbita pepo against Staphylococcus aureus and Salmonella typhi,» *Bayero Journal of Pure and Applied Sciences,* n° %14, p. 145–147, 2011.

[33] J. Bruneton, Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales, Éditions ETEC M&DOC Inter, Lavoisier, (s.d.).

[34] V. Bodiagina, Précis d'obstétrique, Moscou: Éditions Mir, 1978.

[35] A. &. E. H.-A. K. &. E. K. A. &. M. R. El Hamrouni, «Parcours et troupeaux dans l'aire du pin d'Alep,» chez *Le pin d'Alep en Tunisie: Écologie, gestion et usages*, M. L. (. Khouja, Éd., INRGREF, 2019, p. pp. 247–292.

Résumé

Ce projet, réalisé dans le cadre du décret ministériel 1275 pour la création d'une start-up nommée (GYN BIO), vise à formuler et concevoir des pansements bioactifs biodégradables, naturels et thérapeutiques, destinés au traitement des plaies et des infections col-utérines chez les femmes. Le produit repose sur deux principes actifs majeurs : la résine naturelle de Pin d'Alep (*Pinus halepensis Mill*.), récoltée dans la région de Sétif, et l'huile d'olive vierge comme agent émollient et cicatrisant.

L'extraction de la résine par le méthanol a révélé un rendement important de 60%. Le criblage phytochimique a mis en évidence la richesse de cet extrait en métabolites secondaires, notamment les quinones, les flavonoïdes et les acides résiniques. L'analyse biochimique a montré un taux d'humidité de 7%, une matière sèche de 93%, une teneur en lipides de 12,65%, des sucres totaux à hauteur de 59,5 mg/g et une très faible quantité de protéines (0,13%).

Sur le plan biologique, la résine a manifesté une excellente activité antioxydant et anti-inflammatoire via les tests DPPH, ABTS, FRAP et l'inhibition de la dénaturation thermique des protéines .De plus, une forte activité antibactérienne a été enregistrée contre Staphylococcus aureus, tandis qu'une sensibilité modérée a été observée chez Escherichia coli. La mesure du pH du produit final a donné une valeur idéale de 4,30, ce qui est parfaitement compatible avec l'écosystème microbien et le pH physiologique de la cavité vaginale et du col de l'utérus (3,8 - 4,5). La formulation finale a été façonnée sous forme de pansements bioactifs biodégradables, emballés individuellement pour garantir leur stabilité et leur commercialisation.

Mots-clés : GYN BIO, Pin d'Alep, Résine, Pansements bioactifs biodégradables, Phytochimique, Activité antibactérienne, pH physiologique

Abstract

This project, carried out within the framework of Ministerial Decree No. 1275 for the creation of a start-up named GYN BIO, aims to formulate and develop natural, biodegradable, bioactive, and therapeutic dressings intended for the treatment of wounds and cervical infections in women. The product is based on two major active ingredients: the natural resin of Aleppo pine (Pinus halepensis Mill.), collected from the Setif region, and virgin olive oil used as an emollient and wound-healing agent.

Methanolic extraction of the resin yielded a high extraction efficiency of 60%. Phytochemical screening revealed that the extract is rich in secondary metabolites, particularly quinones, flavonoids, and resin acids. Biochemical analysis showed a moisture content of 7%, a dry matter content of 93%, a lipid content of 12.65%, total sugars of 59.5 mg/g, and a very low protein content (0.13%).

Biologically, the resin exhibited excellent antioxidant and anti-inflammatory activities, as demonstrated by the DPPH, ABTS, FRAP, and protein thermal denaturation inhibition assays. In addition, strong antibacterial activity was observed against Staphylococcus aureus, whereas moderate sensitivity was recorded against Escherichia coli. The pH of the final product was 4.30, an ideal value that is fully compatible with the vaginal microbiota and the physiological pH of the vaginal cavity and cervix (3.8–4.5). The final formulation was successfully produced as biodegradable bioactive dressings, individually packaged to ensure their stability and facilitate future commercialization.

Keywords: Aleppo pine resin (Pinus halepensis Mill.); virgin olive oil; biodegradable bioactive dressing; cervical infections; antioxidant activity; antibacterial activity; anti-inflammatory activity; GYN BIO.

الملخص

يندرج هذا المشروع في إطار القرار الوزاري رقم 1275 الخاص بإنشاء مؤسسة ناشئة تحمل اسم(GYN BIO) ، ويهدف إلى تركيب وتصميم ضمادات حيوية نشطة وقابلة للتحلل، طبيعية وعلاجية، مخصصة لعلاج التقرحات والالتهابات التي تصيب عنق الرحم عند النساء . يعتمد هذا المنتج الطبيعي على مادتين فعاليتين أساسيتين: الراتنج الطبيعي المستخلص من شجر الصنوبر الحلبي والذي تم جمعه من منطقة سطيف، وزيت الزيتون البكر الذي يعمل كعامل مرطب ومساعد على التئام الجروح والأنسجة.

وقد أظهرت عملية استخلاص الراتنج باستخدام الميثانول عائداً مهماً بلغت نسبته 60% . كما كشف الفحص الفيتوكيميائي عن غنى هذا المستخلص بالمستقلبات الثانوية، ولا سيما الكينونات، الفلافونويدات، والأحماض الراتنجية . وبيّن التحليل البيوكيميائي أن المنتج يحتوي على نسبة رطوبة تقدر بـ 7%، ومادة جافة بنسبة 93%، ومحتوى من الدهون يصل إلى 12.65%، وسكريات كلية بمقدار 59.5 ملغ/غ، بالإضافة إلى كمية ضئيلة جداً من البروتينات (0.13. (%

أما على الصعيد البيولوجي، فقد أبدى الراتنج نشاطاً ممتازاً كمضاد للأكسدة ومضاد للالتهابات من خلال اختبارات (DPPH, ABTS, FRAP) واختبار تثبيط التحلل الحراري للبروتينات . علاوة على ذلك، تم تسجيل فعالية قوية مضادة للبكتيريا ضد سلالة المكورات العنقودية الذهبية (Staphylococcus aureus)، في حين لوحظت حساسية متوسطة لدى بكتيريا الإشريكية القولونية . (Escherichia coli) وسجل قياس درجة الحموضة (pH) للمنتج النهائي قيمة مثالية بلغت 4.30، وهي قيمة تتوافق تماماً مع النظام البيئي الميكروبي والـ pH الفسيولوجي الطبيعي للمهبل وعنق الرحم (والذي يتراوح عادة بين 3.8 و 4.5) . وفي الختام، شُكلت التركيبة النهائية في هيئة ضمادات حيوية نشطة وقابلة للتحلل، وغُلفت بشكل فردي لضمان استقرارها وحمايتها تمهيداً لتسويقها.

الكلمات المفتاحية: جين بيو(GYN BIO) ، الصنوبر الحلبي، راتنج، ضمادات حيوية نشطة وقابلة للتحلل، فحص فيتوكيميائي، نشاط مضاد للبكتيريا، الـ pH الفسيولوجي.

Projet startup :

جامعة البشير الابراهيمي
مركز تطوير المقاولاتية لـ جامعة البشير الابراهيمي برج بوعريريج

الكلية/ المعهد: العلوم والتكنولوجيا
القسم: هندسة المحيط
المستوى و التخصص: سنة ثانية ماستر
مهني

مقدمة في إطار الحصول على شهادة مؤسسة اقتصادية (مصغرة) في إطار القرار الوزاري 1275 المعدل والمتمم بالقرار الوزاري 008 المؤرخ في 23 فيفري 2025

السنة الجامعية: 2025 / 2026

الفهرس

أولا: فريق العمل والإشراف
1- فريق العمل
2- فريق الإشراف
ثانيا: تعريف المشروع
1. تحديد النشاط
2. قطاع النشاط
3. رمز النشاط
ثالثا: وصف فكرة المشروع
1. ما هي منتجاتي / خدماتي
2. من سيشتري منتجاتي/ خدماتي
3. أين سيقام مشروعي وكيف ستصل منتجاتي/خدماتي للزبائن
4. كيف سيتشغل مشروعي
5. مبررات اختيار فكرة مشروعي
رابعا: دراسة السوق
1. **طبيعة وحجم المنافسة:** من هم المنافسون المباشرون وغير المباشرون؟
2. حجم السوق المستهدف والمحتمل
3. **تحليل SWOT:** نقاط القوة والضعف والفرص والتهديدات لمشروعي
4. نموذج العمل التجاري BMC لمشروعي
خامسا: الدراسة التقنية
1. احتياجات المشروع من الموارد البشرية: (ما هي الاحتياجات من الموظفين؟)
2. موقع إقامة مشروعي ومبررات اختياره: أين سيكون موقع مشروعي؟
سادسا: تقدير تكاليف وإيرادات مشروعي
1 - تقدير تكاليف مشروعي
1.1 تقدير المبلغ الإجمالي للاستثمار في مشروعي
2.1 تقدير مشتريات مشروعي من المواد الأولية في مشروعي
3.1 تقدير تكاليف اليد العاملة في مشروعي
1. 4 تقدير التكاليف المشتركة لمشروعي
1. 5 تقدير تكاليف اهتلاك الاستثمارات لمشروعي
2- تقدير إيرادات مشروعي
1.2 تقدير حجم المبيعات السنوية لمشروعي
2. 2 حساب النتيجة السنوية لمشروعي

أولا: فريق العمل والإشراف

1-فريق العمل

فريق المشروع	التخصص	الكلية/ المعهد	الخبرة/ الكفاءة في مجال المشروع
الطالب: حبيش خولة	هندسة المحيط	العلوم والتكنولوجيا	
الطالب: كعباش	هندسة المحيط	العلوم والتكنولوجيا	

انصاف			
الطالب: سلاحجة خولة	هندسة المحيط	العلوم والتكنولوجيا	

2-فريق الإشراف

المشرف	التخصص	الكلية
المشرف الرئيسي: مسيس عبد العزيز		
المشرف الرئيسي الثاني: بوبعاية رابح		
المشرف المساعد: نوي عمار		

ثانيا: تعريف المشروع: يكون النشاط وفقا للمدونات التي تحدد قائمة الأنشطة لكل هيئة تسجيل (المركز الوطني للسجل التجاري، الفلاحة، الصناعة التقليدية والحرف)؛

تحديد النشاط	**قطاع النشاط**	**رمز النشاط (وفق مدونة الأنشطة للمركز الوطني للسجل التجاري** Cnrs)
تصنيع وتغليف وتسويق منتجات طبيعية للعناية الشخصية والنسائية	الصناعة التحويلية للمنتجات الطبيعية	

- ❖ في حالة نشاط مقنن، أو نشاط يحتاج إلى اعتمادات او تراخيص خاصة، يجب ذكرها وذكر الجهة المانحة لها

يتم الالتزام بجميع القوانين والتنظيمات المعمول بها في الجزائر المتعلقة بتصنيع وتسويق المنتجات الطبيعية، مع الحصول على التراخيص المطلوبة مستقبلاً عند التوسع في النشاط.

ثالثا: وصف فكرة المشروع:

ينغي ان يكون صاحب / أصحاب المشروع على دراية بكل تفاصيل المشروع وقادرين على تقديم وصف ملخص ودقيق عنه، من خلال الإجابة بدقة على العناصر التالية:

ما هي منتجاتي أو خدماتي: (حدد بدقة منتجاتك. خدماتك):

تقوم مؤسسة GYN-BIO بإنتاج وتسويق ضمادات طبيعية للعناية النسائية تعتمد على مكونات طبيعية مختارة(رانتج الصنوبر وزيت الزيتون)

مميزاته:

مكونات طبيعية من أصل نباتي.

منتج محلي الصنع.

تغليف فردي يحافظ على جودة المنتج.

عنوان المشروع : **ضمادات طبيعية قابلة للتحلل لعلاج الجروح المتعلقة بعنق الرحم**

من سيشتري منتجاتي/ خدماتي (حدد زبائنك بدقة):

النساء البالغات

الأمهات بعد الولادة

المهتمات بالمنتجات الطبيعية

محلات المنتجات الطبيعية

أين سيقام مشروعي وكيف تصل منتجاتي / خدماتي للزبائن :(بين مكان إقامة مشروعك وطرق التواصل مع زبائنك)

ورشة إنتاج صغيرة بولاية برج بوعريريج وتكون داخل ورشة صغيرة مخصصة للإنتاج والتغليف

تصل المنتجات للزبائن عبر:

البيع المباشر

صفحات التواصل الاجتماعي

خدمات التوصيل

محلات المنتجات الطبيعية

كيف سيشتغل مشروعي (بين من سيقوم بتشغيل المشروع ومن سيساهم في ذلك**):**

شراء المواد الأولية
التحضير والإنتاج
التغليف والتخزين
التسويق والتوزيع
ومع تطور المشروع سيتم توظيف عمال إضافيين للإنتاج والتسويق

مبررات اختيار فكرة مشروعي (اشرح لماذا تم اختيار هذه الفكرة بالذات):

توفر المواد الأولية محلياً
الطلب المتزايد على المنتجات الطبيعية
دعم الإنتاج المحلي
إمكانية تطوير منتجات جديدة مشتقة من رانتج الصنوبر

رابعا: دراسة السوق

1. **طبيعة وشدة المنافسة:** من هم المنافسون المباشرون وغير المباشرون؟

المنافسون	طبيعة المنافسة		شدة المنافسة		
	مباشرة	غير مباشرة	قوية	متوسطة	ضعيفة
الشركات المنتجة للمنتجات الطبيعية النسائية المحلية	×			×	

منتجات المستوردة للعناية الشخصية		×	×		
وصفات تقليدية منزلية	×				×

أذكر استراتيجيات مؤسستك في التعامل مع منافسيها:

الاعتماد على المكونات الطبيعية

تقديم منتج محلي بسعر تنافسي.

بناء علاقة ثقة مع الزبائن من خلال الجودة والمتابعة.

2. **حجم السوق المستهدف والمحتمل:**

- **حجم السوق المستهدف:** يمثل مجموعة الافراد أو المؤسسات والتي تقدم لها او تعرض عليها – منتجاتك/خدامتك. (يطلب تحديد الشريحة المستهدفة، تعدادها، مكان تواجدها، .....).
  - النساء في ولاية برج بوعريريج والولايات المجاورة.
- الأمهات بعد الولادة.
- النساء المهتمات بالمنتجات الطبيعية.
- زبونات محلات الأعشاب والمنتجات الطبيعية.
- يتواجد هذا السوق أساسا في:
- ولايات الشرق الجزائري
- **حجم السوق المحتمل**: السوق المحتمل هو مجموعة الافراد او المؤسسات التي تطلب أو يحتمل ان تطلب منتجاتك او خدماتك لإشباع حاجا تهم ورغباتهم. (من يشتري منتجاتنا/ خدماتنا؟ من وما الذي يحفزه على ذلك؟ أين يتواجدون؟ كم أعدادهم؟).

جميع النساء الراغبات في استعمال منتجات طبيعية للعناية الشخصية.

محلات بيع المنتجات الطبيعية.

موزعي المنتجات الطبيعية عبر الولايات.

المتاجر الإلكترونية المتخصصة.

الذي يحفز على هذا:

زيادة الوعي بأهمية المنتجات الطبيعية.

انتشار التجارة الإلكترونية وخدمات التوصيل.

3. **تحليل SWOT:** نقاط القوة والضعف والفرص والتهديدات لمشروعي:

- **نقاط القوة:** كل العناصر (داخل المؤسسة) التي تشكل مصدر قوة لمشروعي (قد تكون: مهارات خاصة، موارد بشرية، موارد مادية، .....)
- **نقاط الضعف**: كل العناصر (داخل المؤسسة) التي تشكل نقطة ضعف أو تقف عائقا امام مشروعي حاليا أو مستقبليا
- **الفرص**: كل العناصر الخارجية التي لها أثر إيجابي على تنفيذ مشروعي أو تطوره في المستقبل
- **التهديدات**: كل العناصر الخارجية التي لها أثر سلبي على تنفيذ مشروعي أو تطوره في المستقبل

جدول تحليل SWOT

SWOT	عوامل تساعد في تحقيق الأهداف	عوامل تعطل تحقيق الأهداف
عوامل داخلية	**نقاط القوة** Strengths **1** منتج طبيعي **2** توفر المواد الأولية **3** تكلفة انتاج منخفضة ومناسبة	**نقاط الضعف** Weaknesses **1** مؤسسة جديدة **2** محدودية الموارد المالية **3** الحاجة الى بناء الثقة لدى الزبائن
عوامل خارجية	**الفرص** Opportunities **1** تزايد الطلب على المنتجات الطبيعية **2** التوسع عبر التجارة الإلكترونية **3** إمكانية التوسع وطنيا	**التهديدات** Threats **1** المنافسة من المنتجات المستوردة **2** تغير القوانين الخاصة بالمنتجات الصحية **3** ارتفاع أسعار المواد الاولية

4. نموذج العمل التجاري BMC لمشروعي:

<table>
<tr>
<td rowspan="2">العملاء
.النساء بعد الولادة
النساء الباحثات عن منتجات تقليدية نباتية.
محلات الأعشاب والمنتجات الطبيعية
القابلات ومراكز العناية النسوية.
متاجر البيع الإلكتروني.
.نساء من مختلف الأعمار
مهتمات بالحلول الطبيعية والتقليدية</td>
<td>العلاقة مع العملاء
.تقديم شرح لطريقة الاستعمال
.المتابعة مع الزبائن عبر الإنترنت
.خدمة الرد على الاستفسارات
.بناء الثقة عبر المحتوى التوعوي
ضمان توفر المنتج بشكل دائم واستجابة سريعة للطلبيات المستعجلة.</td>
<td rowspan="2">القيمة المقترحة
منتج طبيعي يعتمد على مكون
.ات نباتية محلية
بديل تقليدي للمنتجات
.الكيميائية
.منتوج محلي بجودة عالية
.سهولة الاستعمال والتخزين
سعر مناسب مقارنة بالمنتجا
.ت المستوردة</td>
<td>الأنشطة الرئيسية
.تصنيع الضمادات
.التعقيم والتغليف
.مراقبة الجودة
.التسويق الإلكتروني
.إدارة الطلبات والتوصيل
.تطوير منتجات جديدة</td>
<td rowspan="2">الشركاء الرئيسيون
موردي علك الصنوبر والزيوت الطبيعية.
.موردي مواد التغليف
.مخابر مراقبة الجودة
.شركات التوصيل
.مصممي الهوية البصرية
.محلات البيع والتوزيع
مستشارين في المجال الصحي أو التجميلي.</td>
</tr>
<tr>
<td>قنوات توزيع
.محلات الأعشاب
.محلات المنتجات الطبيعية
.الأسواق المحلية
.المتاجر الإلكترونية</td>
<td>الموارد الرئيسية
.مواد أولية طبيعية
.معدات التحضير والتعقيم
.معدات التعبئة والتغليف
.مكان الإنتاج والتخزين
عمال تعبئة وتغليف
مختص في التسويق
.العلامة التجارية
.هوية المنتج الطبيعية</td>
</tr>
</table>

الإيرادات	التكاليف
بيع المنتج. .البيع بالجملة للمحلات .البيع بالتجزئة عبر الإنترنت عروض وعلب خاصة بالعناية النسوية التوزيع الوطني .	:التكاليف الثابتة كراء الورشة. شراء المعدات. الكهرباء والماء. التغليف والطباعة. .الإنترنت والتسويق :التكاليف المتغيرة .المواد الأولية. النقل والتوصيل. العمالة. الإعلانات. الصيانة والتنظيف :التكاليف القانونية السجل التجاري. الضرائب والرسوم. التحاليل المخبرية. إجراءات .المطابقة الصحية

خامسا: الدراسة التقنية

1. **احتياجات المشروع من الموارد البشرية:** حدد بدقة احتياجات مشروعك من الموارد البشرية

طبيعة المستخدمين	العدد	الكفاءات / الشهادات
المسير	3	تسيير وإدارة المشروع
الإطارات (مهندسين، رؤساء المصالح، المكلفين بالتسويق، رؤساء الورشات...إلخ.)	0	لا يوجد في البداية
عمال التحكم (المكلفين بالمخزن، السكريتاريا...إلخ.)	1	مراقبة الجودة والتغليف
عمال التنفيذ (السائق، الحارس، عامل النظافة...إلخ.)	1	الإنتاج والتوضيب

2. **اختيار موقع إقامة المشروع: أين سيكون موقع المشروع ومبررات اختياره؟** (قدم المبررات اللازمة لاختيار موقع المشروع)

تم اختيار إقامة مشروع **GYN-BIO** بولاية برج بوعريريج نظراً لما توفره الولاية من مقومات مناسبة لإنجاح النشاط، حيث تتميز بكثافة سكانية معتبرة تمثل سوقاً واعدة للمنتجات الطبيعية. كما أن موقعها الاستراتيجي يسهل عملية التوزيع نحو مختلف ولايات الشرق الجزائري.

يسمح الموقع المختار بسهولة الحصول على المواد الأولية الضرورية للإنتاج، إضافة إلى توفر وسائل النقل والخدمات الأساسية مثل الكهرباء والمياه والاتصالات.

كما يساهم اختيار الموقع في تقليل تكاليف النقل والتوزيع، ويوفر إمكانية التوسع المستقبلي للمؤسسة وزيادة طاقتها الإنتاجية مع نمو الطلب على منتجاتها.

سادسا: تقدير تكاليف وإيرادات المشروع

1 - تقدير تكاليف المشروع

1.1 تقدير المبلغ الإجمالي للاستثمار: (تكلفة المشروع)

البيان	المبلغ (دج)
آلات ومعدات الإنتاج	3 000 000 ,00

تهيئة المحل	550 000 ,00
الأصول البيولوجية (الحيوانات- الأشجار...)	/
العتاد المتنقل	/
العتاد المكتبي	400 000 ,00
عتاد الإعلام الآلي	400 000 ,00
عتاد السمعي البصري	/
عتاد الاتصالات	200 000 ,00
تركيب التجهيزات	150 000 ,00
المصاريف العامة المتعلقة بالإنشاء	100 000 ,00
رأس المال العامل (المادة الأولية)	2 000 000 ,00
المبلغ الإجمالي للاستثمار (تكلفة المشروع)	6800 000 ,00

2.1 تقدير مشتريات المشروع من المواد الأولية

قائمة المواد الاولية		السنة 1	السنة 2	السنة 3
المادة الاولية 1: رانتج الصنوبر	الكمية المشترات	80كغ	95,24 كغ	113,40كغ
	سعر الوحدة	1000,00دج	105000,00دج	11005,00دج
	تكلفة شراء المادة الاولية	800 000دج	1000000,00دج	1250000,00دج
المادة الاولية 2: زيت الزيتون	الكمية المشترات	160,00لتر	180,50 لتر	226,80 لتر
	سعر الوحدة	5000,00دج	5250,00 دج	5512,50 دج
	مبلغ المادة الاولية 2	800000,00دج	1000000,00دج	1250000,00دج
المادة الاولية 3: مواد أخرى (مواد ثانوية، مواد التعقيم ...)	الكمية المشترات	/	/	/
	سعر الوحدة	/	/	/
	تكلفة شراء المادة الاولية	400000,00دج	500 000,00 دج	625 000,00 دج
إجمالي مبالغ المشتريات من المواد الاولية		2000000,00دج	2500000,00دج	9125000,00دج

3.1 – تقدير تكاليف اليد العاملة

تسمية المنصب	عدد العمال			قيمة الاجر		
	السنة 1	السنة 2	السنة 3	السنة 1	السنة 2	السنة 3
المسير / أو المسيرون	3	3	3	180000,00	198 000,00	217800,00

الإطارات (مهندسين، رؤساء المصالح، المكلفين بالتسويق، رؤساء الورشات...إلخ.)	0	2	2	/	100 000,00	110000,00
عمال التحكم (المكلفين بالمخزن، السكريتاريا...إلخ.)	1	2	3	45 000,00	99 000,00	163350,00
عمال التنفيذ (السائق، الحارس، عامل النظافة...إلخ.)	1	4	7	40 000,00	176 000,00	338800,00

- ينبغي ان لا يقل الاجر الشهري الصافي عن الحد الأدنى المضمون

1. 4 تقدير التكاليف الخارجية للمشروع

البيان	السنة 01	السنة 02	السنة 03
مصاريف الكهرباء /الغاز /الماء	/	/	/
تكاليف الصيانة والتصليح	00	50 000 ,00	70 000 ,00
تكاليف الايجار	360 000 ,00	360 000 ,00	360 000 ,00
مصاريف تامين العتاد والمعدات	40 000 ,00	40 000 ,00	40 000 ,00
مصاريف التسويق (الدعاية والإشهار)	120 000 ,00	120 000 ,00	120 000 ,00
تكاليف التكوين والتدريب	60 000 ,00	/	/
مصاريف عامة (أعباء خارجية) أخرى	10 000 ,00	120 000 ,00	120 000 ,00
المجموع	680 000 ,00	690 000 ,00	690 000 ,00

1. 5 تقدير تكاليف اهتلاك الاستثمارات

البيان	مدة الاهتلاك ( )	قسط الاهتلاك السنوي (دج)
آلات ومعدات الإنتاج	10سنوات	300 000 ,00 دج
العتاد المتنقل	10سنوات	/
العتاد المكتبي	05سنوات	80 000 ,00 دج
عتاد الإعلام الآلي	05سنوات	80 000 ,00 دج
عتاد السمعي البصري	05سنوات	/
عتاد الاتصالات	05 سنوات	40 000 ,00 دج
.....		
المبلغ الإجمالي		500 000 ,00 دج

- يطبق الاهتلاك الخطي (تحدد مدة الاهتلاك وفقا لقرار وزارة المالية المؤرخ في 14 أفريل 2025 المعدل والمتمم للقرار الصادر بتاريخ 25 فيفري 2024 الذي يحدد مدة اهتلاك التثبيتات المطبقة لتحديد النتيجة الجبائية – الجريدة الرسمية عدد 29 لسنة 2025)

3-تقدير إيرادات المشروع

1.3 تقدير حجم المبيعات السنوية

البيان	السنة 1	السنة 2	السنة 3

المنتج / الخدمة 1: ضمادات GYN-BIO	الكمية المباعة	10 علبة 000	11000 علبة	12500علبة
	سعر الوحدة	455 ,00دج	517 ,00دج	568 ,00دج
	قيمة مبيعات المنتج 1	4550دج 000.00	5687000,00دج	7100000,00دج
المنتج / الخدمة 2:	الكمية المباعة	/	/	/
	سعر الوحدة	/	/	/
	قيمة مبيعات المنتج 2	/	/	/
المنتج / الخدمة 3:	الكمية المباعة	/	/	/
	سعر الوحدة	/	/	/
	قيمة مبيعات المنتج 3	/	/	/
إجمالي المبيعات		4550 دج000.00	5687000,00دج	7100000,00دج

3. 2 حساب النتيجة السنوية

البيان	السنة 01	السنة 02	السنة 03
رقم الأعمال (المبيعات) ... (1)	4550 000 ,00	5687 000 ,00	7100 000 ,00
المشتريات المستهلكة ... (2)	2000 000 ,00	2500 000 ,00	3125 000 ,00
الأعباء الخارجية ... (3)	680 000 ,00	690 000 ,00	690 000 ,00
القيمة المضافة ... (4) = (1)-(2)-(3)	1870 000 ,00	2497 000 ,00	3285 000 ,00
الأجور والأعباء الاجتماعية ... (5)	265 000 ,00	573 000 ,00	829 950 ,00
إجمالي فائض الاستغلال ... (6) = (4)-(5)	1605 000 ,00	1924 000 ,00	2455 050 ,00
الإهتلاكات والمؤونات.... (7)	500 000 ,00	500 000 ,00	500 000 ,00
ناتج الاستغلال..... (8) = (6) - (7)	1105 000 ,00	1424 000 ,00	1955 050 ,00
الضرائب على الشركات/ IFU .... (9)	2275 000 ,00	284 350 ,00	355 000 ,00
صافي الدخل ..... (10) = (8) - (9)	8775 000 ,00	1139 650 ,00	1600 000 ,00
تطور رقم الأعمال	**8775 000 ,00**	**2017 150 ,00**	**3617 150 ,00**

خاتمة:

يساهم مشروع GYN-BIO في تثمين الموارد الطبيعية المحلية، خاصة رانتج الصنوبر وزيت الزيتون، كما يساهم في دعم الإنتاج الوطني و تقليل الاعتماد على المنتجات المستوردة. كما يساعد في خلق مناصب شغل جديدة و تشجيع روح المقاولاتية و الابتكار في مجال المنتجات الطبيعية.