

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE AKLI MOHAND OULHADJ – BOUIRA
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET DES SCIENCES DE LA TERRE
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



Ré...../UAMOB/F.SNV.ST/DEP.BIO/21

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME MASTER

Domaine : SNV **Filière :** Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie Appliquée

Présenté par :

FATTANI Fatah & YAHIAOUI Kahina

Thème

**L'effet antiparasitaire , antioxydant et antibactérien
du chitosane des carapaces de crevette grise et
chitosane commercial de crabe**

Soutenu le : 13 / 07/ 2021

Devant le jury composé de :

Nom et Prénom

Grade

M. LAMINE Salim

MCB

Univ. de Bouira

Président

M.LIBDIRI Farid

MAA

Univ. de Bouira

Examineur

Mme. BOUTELDJA Razika

MCB

Univ. de Bouira

Promotrice

Année Universitaire : 2020/2021

Remerciements

En tout premier lieu, nous remercions notre Dieu ALLAH le tout puissant de nous avoir donné le courage, la volonté et la force pour achever ce travail.

*Nous tenons à exprimer notre profonde gratitude et nos sincères remerciements à notre promotrice Mme **BOUTELDJA Razika** d'avoir accepté de nous encadrer, ainsi que pour les conseils, les orientations et le temps qu'elle nous a consacré à la réalisation de ce mémoire.*

*Un très grand merci monsieur **LAMINE Salim** d'avoir accepté de president notre jury.*

*Nous remercions également monsieur **LIBDIRI Farid** d'avoir accepté d'examiner Notre travail.*

Merci a toutes les personnes qui ont contribué de prés ou de loin à la réalisation de ce modeste travail.

Dédicace

Je dédie ce modeste travail: Aux deux êtres le plus chers au monde, qui ont souffert nuit et jour pour me couvrir de leur amour, mes parents.

*A mon père **Said** pour sa patience avec moi et son encouragement*

*A mon source de bonheur, la prunelle de mes yeux, ma mère **Tounsia** , Aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer ce que tu mérites pour tous les sacrifices que tu n'as cessé de me donner depuis ma naissance, Tu as fait plus qu'une mère puisse faire pour que ses enfants suivent le bon chemin dans leur vie et leurs études.*

A mes frères et sœurs

***Nassim ;Yasmina** et son mari **Brahim** et sa fille **Ilina** ; **Lynda** et son mari **Adelle** ; **Soria** ; **Nassima**.*

Pour m'avoir encouragé et soutenu le long de mon parcours d'étude.

A tous les membres de la famille maternelle et paternelle, les cousins et cousines chacun par son nom.

*A mon binôme **Fatah** et toute sa famille.*

A mes amis(es) qui m'ont aidé de réaliser ce travail

Yasmina ;Hadjer ;Massiva ;Ibtihal ; Amina ;Charihane ;Chahrazed ;Hamza ;Yacine; Mohamed ;Nahi chemseddine.

A tous mes professeurs

Mon profond respect et ma loyale considération

Kahina

Dédicace

Je dédie ce mémoire

*A la plus belle créature que Dieu a créé sur terre, à la source de tendresse, de patience et de générosité, ma mère « **Drifa** ». Qui a œuvré pour ma réussite de par son amour, son soutien, tous les sacrifices consentis et ses précieux conseils, pour toute son assistance et sa présence dans ma vie, reçois à travers ce travail aussi modeste soit-il, l'expression de mes sentiments et de mon éternelle gratitude. Puisse Dieu, le tout puissant, te préserver et t'accorder santé, longue vie et bonheur.*

*A mon père «**Aissa** », aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours pour toi.*

*A mes chers frères, **Nassim ,Hmidouche et Sofiane** pour leur appui et leur encouragement. Merci de m'avoir soutenu et témoigné votre affection durant tout ce temps. J'ai toujours pu compter sur vous quel que soit le moment. Restons unis et soyons à la hauteur de nos parents. Que DIEU vous bénisse.*

*A mon binôme **Kahina** avec qui j'ai partagé tous les moments de stress et de fatigue, mais aussi de fous rires.*

*A mes amis(es) qui m'ont aidé de réaliser ce travail : **Hamza , Yacine , Samir, Mohamed, Nahi, Sid Ahmed, Youcef, Abdo, Taous, Chams Ennahar ,Sandra, Ouissame** ,...Merci beaucoup mes amis(es).*

Fatah

Table des matières

Liste des abréviations

Liste des Figures

Liste des tableaux

Introduction

chapiRe I : l'hydatitose

I.1.La Définition	3
I.2. L'épidémiologie de kyste hydatique	3
I.3. Classification taxonomique	3
I. 4.La morphologie <i>Echinococcus Granulosus</i>	4
I.4..1. La forme adulte.....	4
I. 4.2.L'œuf (embryophore)	5
I.4. 3.La larve	5
I.5. L'anatomopathologie du kyste hydatique	6
I.5.1. Péri-kyste ou adventice	6
I.5.2. Larve hydatique (metacestode).....	6
I.5.3. Capsules ou vésicules proligères	8
I. 6. Le cycle parasitaire.....	9
I.7. L'aspect clinique de <i>l'échinococcus kystique</i>	10
I.7. 1.Les formes cliniques	10
I.7. 2. Les symptômes	10
I.7. 3. Diagnostic	10
I.7. 3. 1. Le diagnostic clinique et morphologique de l'hydatidose.....	10
I. 7.4.Traitement.....	12
I.7.5.Prophylaxie.....	12

Chapiter II :chitine et chitosane

II.1. Historique.....	13
-----------------------	----

II.2. Définition et structure de la chitine.....	13
II.3. Sources de chitine	14
II.4. Les propriétés de la chitine	14
II.5. Procédé d'extraction de la chitine.....	14
II.5.1. La production de chitine par voie chimique.....	14
II.5.2. Traitements biologique.....	15
II.6. Le chitosane	15
II.7 . Procédés d'obtention du chitosane.....	16
II.8. Propriétés du chitosane	17
II.8.1. Propriétés physico-chimiques	17
II.8.2. Propriétés biologiques	19
II.9. Activité antibactérienne du chitosane.	19
II.10. Activité antioxydant du chitosane.....	20
II.11. Utilisation des chitosanes en vaccination par voie muqueuse	20
II.12. Principales applications du chitosane	20

Chapitre III : Matériel et Méthodes

III. 1. Appareils et réactifs	22
III.2. Matériel biologique.....	22
III.2.1. Les carapaces de crevettes	22
III.2.2. Les kystes hydatique	23
III.2.3. Obtention des parois kystiques	24
III.2.4. Les souches bactériennes utilisées	24
III.3.1. La méthode d'extraction du chitosane	25
III.3.2. Test de solubilité	25
III.3.3. Degré de desacétylation(DDA) du chitosane.....	26
III.4. Test de fertilité du kyste hydatique.....	26
III.5. Test de viabilité des protoscolex	26

III.6. Etude de l'activité scolicide.....	27
III.7. Etude de l'activité antioxydante du chitosane	27
III.7.1. Préparation de la solution du chitosane	27
III.7.2. Test de capacité de piégeage des radicaux DPPH	27
III.8. l'activité antibactérienne du chitosane	28
III.8. 1. Méthode de diffusion en puits.....	28
Chapitre IV : Résultats et discussion	
IV .1. Test de solubilité	30
IV.2 Détermination de degré de désacétylation DDA du chitosane.....	31
IV.2.1. Degré de désacétylation par dosage pH-métrique	31
IV. 3. Test de fertilité des kystes hydatiques	32
IV. 4. Test de viabilité des protoscolex	32
IV. 5. Evaluation de l'effet scolicide du chitosane.....	33
IV.5.1. Aspects morphologiques des Membrane proligère d'un Kyste de foie en présence de chitosane.....	36
IV.6. Etude de l'activité antioxydante	37
IV.6.1. Effet de la concentration sur le radical DPPH	38
IV.7. l'activité antibactérienne du chitosane	39
IV.7.1. Diffusion sur agar semi-solide par méthode des puits AWDT.....	39
CONCLUSION	
References bibliographiques	
Annexes	
Résumé	

Liste des abréviations

IgA :	Immunoglobuline A
IgE :	Immunoglobuline E
IgG :	Immunoglobuline G
IgM :	Immunoglobuline M
IgG1 :	Immunoglobuline G1
IgG4 :	Immunoglobuline G4
ELISA :	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
l'OMS :	L'organisation mondiale de la santé
CT :	Tomographie calculée
MRI :	Magnetic Resonance Imaging
G- :	Gram-négative
G+ :	Gram-positive
AWDT :	Agar Well Diffusion Test
LB :	milieu Luria-Bertani
MH :	Mueller Hinton
MPL :	Monophosphoryl lipide A
<i>E. granulosus :</i>	<i>Echinococcus granulosus</i>
UV :	Uvivable
IRTF :	Infra rouge à Transformée de Fourier
SARM :	<i>Staphylococcus aureus résistant à la mécilline</i>
KHF :	kyste hydatique fille
PAIR :	Injection d'aspiration percutanée et ré- aspiration
DDA :	Degré de désacétylation
DA :	Degré d'Acétylation
IC₅₀ :	Concentration inhibitrice
KH :	kyste hydatique

Liste des Figures

Figure 01 :	Schéma d'un ver adulte d' <i>Echinococcus granulosus</i>	p 4
Figure 02 :	OEuf d' <i>Echinococcus granulosus</i>	p 5
Figure 03 :	Structure de kyste hydatique.....	p 6
Figure 04 :	Structure de la larve hydatique d' <i>E. granulosus</i> (3-A), protoscolex (3-B).....	p 7
Figure 05 :	Sable hydatique (protoscolex forme invaginé).....	p 8
Figure 06 :	Protoscolex forme dévaginé.....	p 8
Figure 07 :	Cycle évolutif d' <i>Echinococcus granulosus</i>	p 9
Figure 08 :	Structure chimique de la chitine.....	p 13
Figure 09 :	Structure chimique du chitosane.....	p 16
Figure 10 :	procédé de la fabrication de chitine et chitosane.....	p 17
Figure 11 :	Situation géographique de la région de Ain benian.....	p 23
Figure 12 :	poumon ovin infecté par le kyste hydatique (A , B), foie ovin infecté par le kyste hydatique (C).....	p 23
Figure 13 :	Membrane prolifère d'un Kyste hydatique foie.....	p 24
Figure 14 :	Schéma récapitulatif des quelques activités biologiques du chitosane de crevette grise et commercial	p 24
Figure 15 :	Organigramme représentant le protocole d'extraction du chitosane.....	p 25
Figure 16 :	Evaluation de l'activité antioxydante du chitosane de crevette grise et chitosane commercial... ..	p 28
Figure 17 :	Evaluation de l'activité antimicrobienne du chitosane de crevette grise et commercial par la méthode de diffusion en puits.....	p 29
Figure 18 :	La solubilité du chitosane dans l'acide acétique à 1 % (A) chitosane extrait de crevette grise (B) chitosane commercial	p 30
Figure 19 :	Dosage pH- métrique des chitosane de crevette grise et du chitosane commercial.....	p 31
Figure 20 :	Les examens microscopique d'un protoscolex de kyste hydatique fertile.....	p 32

Figure 21 :	Les examens microscopiques des Protoscolex vivant (A), Protoscolex morts (B).....	p 33
Figure 22 :	Aspects morphologiques des protoscolex en présence de chitosane comercial de crabe à des concentration déffirentes.....	p 34
Figure 23 :	Aspects morphologiques des protoscolex en présence du chitosane extrait de crevette grise à des concentrations défférentes.....	page 35
Figure 24 :	Aspects morphologiques des membrane proligère d'un Kyste de foie en présence du chitosane aux déffirentes concentration (Gx 10).....	p 37
Figure 25 :	Dosage pH- métrique des chitosane de crevette grise et du chitosane comercial.....	p 39
Figure 26 :	Capacité d'élimination des radicaux DPPH par la solution du chitosane (chitosane).....	p 40
Figure 27 :	un exemple de photos du pouvoir antibactérien du chitosane par la méthode des puits. S6 : SARM (G+),S7 : Bacillus cereus (G+),S8 : staphylococcus aureus (G+), S9 : Escherichia coli (G+),à la droite milieu HM la gauche milieu LB.....	p 41

Liste des tableaux

Tableau 01 :	Nombre de cas d'hydatidose recensé/ annéep 3
Tableau 02 :	Principales applications du chitosane.....p 21
Tableau 03 :	Liste du matériel non biologique utilisé pendant l'expérimentationp 22
Tableau 04 :	Résultat de test de solubilité du chitosane extrait et commerciale.....p 30
Tableau 05 :	Dégre de désacétylation DDA des chitosanep 31
Tableau 06 :	Effet scolicide de différentes concentrations de chitosane comerciél sur le taux de mortalité des protoscolex de kyste hydatique à divers temps d'exposition.....p 33
Tableau 07 :	Effet scolicide de différentes concentrations de chitosane du crevette sur le taux de mortalité des protoscolex de kyste hydatique à divers temps d'exposition.....p 35
Tableau 08 :	Pouvoir antiradicalaire des extraits du chitosane étudiées exprimé en pourcentage.....p 38
Tableau 09 :	L'activité antimicrobienne du chitosane de crevette et crabe contre des souches pathogènes testées sur des milieux LB et MH et leur diamètre d'inhibition.....p 40
Tableau 10 :	Les concentrations minimales inhibitrices de quelques bactéries par le chitosane.....p 42



Introduction

Introduction

L'hydatidose, la maladie du kyste hydatique ou l'échinococcose est une maladie parasitaire cosmopolite qui sévit de façon endémique dans de nombreuses régions d'élevage ovins- bovins dans le monde.

Cette parasitose est due au développement chez l'homme et les herbivores de la forme larvaire du ténia de chien *Echinococcus granulosus* (Tisukarla et al., 2000 ;Boussofara et al., 2005).

En effet, le cycle parasitaire se déroule entre le chien, hôte définitif, et les mammifères herbivores ce qui expliquerait l'endémicité de la parasitose dans certains pays (Afrique du Nord, bassin méditerranéen, Europe de l'Est) de plus de la possibilité d'insertion accidentelle de l'homme dans le cycle (Angulo et al., 1997 ; Eckert et al., 2001).

Au cours des 20 dernières années, le traitement de la maladie hydatique a également subi de réelles perturbations qui ont été dominées par le développement de nouveaux protocoles incluant des thérapies médicales et des ponctions ciblées. Le traitement chirurgical reste le traitement le plus souvent approuvé en présence de kystes hydatiques, cependant, l'introduction du mébendazole (MBZ) dans les années 1970 et de l'albendazole au début des années 1980 et une mise en œuvre percutanée au milieu des années 1980 ont été envisagées. Le traitement dépend actuellement du stade et de la taille du kyste hydatique, mais aussi de la présence ou de l'absence de complications (Brunetti et al., 2010 ; Menezes da Silva, 2010).

Le traitement par ponction du kyste est connue sous le nom d'une nouvelle méthode appelée la **PAIR** (Injection d'aspiration percutanée et ré-aspiration) (Moncef et al., 1990). Elle consiste à injecter un agent scoliciel afin d'éviter la dissémination du parasite pendant la chirurgie et ré-aspiration du contenu du kyste associé à un traitement médicamenteux avec l'albendazole à une dose de 400 mg deux fois par jour.

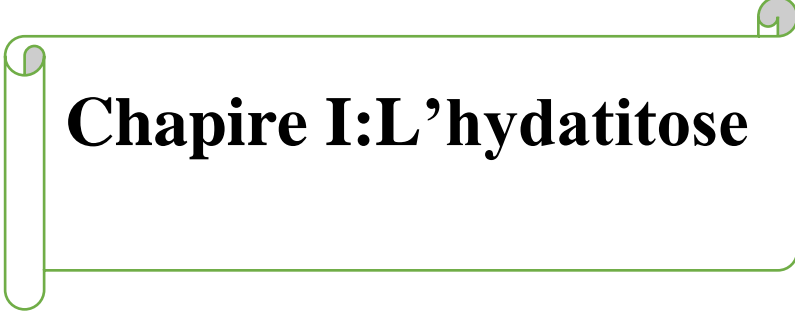
Le chitosane est un biopolymère polycationique non toxique, biodégradable et biocompatible, soluble dans les acides organiques dilués sous forme de gel chargé positivement (Nugraha Edhi Suyatama ,2006). Le chitosane a donc des propriétés chimiques et biologiques utilisables dans de nombreuses applications industrielles, médicales et environnementales (Muzzarelli et al ., 1983).

L'objectif de notre travail articule autour des points suivants :

- L'étude de l'activité antiparasitaire du chitosane de carapace de la crevette grise obtenue de littoral algérien et chitosane commercial sur les protozoaires et l'intégrité des parois kystiques.
- L'activité antibactérienne par utilisation la méthode de diffusion en puits (AWDT).
- L'activité Antioxydante du chitosane a été évaluée par le test de piégeage des radicaux libres (DPPH*).

Le présent travail est structuré en deux parties :

- Une première partie : est une partie bibliographique, elle comporte deux chapitres :
Le premier chapitre sur L'hydatidose kystique le second présente la chitine et le chitosane.
- La deuxième partie : est une partie expérimentale, elle englobe le matériel et méthodes, résultats et discussion obtenus de l'étude au niveau de laboratoire de la recherche de faculté SNVST- Bouira .



Chapire I:L'hydatitose

Chapitre I : l'hydatidose

I.1. La Définition

L'hydatidose appelée maladie hydatique ou kyste hydatique, est une maladie parasitaire due au développement chez les herbivores et l'homme d'une larve d'un ténia du chien: *Echinococcus Granulosus* (Belamalek et al., 2014).

I.2. L'épidémiologie de kyste hydatique

En Algérie cette parasitose autochtone est fréquente dans les hauts plateaux, en particulier dans les villages non contrôlés par les services vétérinaires. Le mode d'élevage dispensé dans ces régions expose le mouton à un poly parasitisme certain. Lors de l'abattage rituel du mouton (Aïd El Adha) les réservoirs du parasite (abats infectés par le kyste) laissés à la portée des chiens errants augmentent le degré de contamination et de dispersion des éléments de dissémination parasite dans l'environnement (Blibek., 2009).

Le tableau ci-dessous montre les régions les plus touchées en Algérie

Tableau 0 1 : Nombre de cas d'hydatidose recensé/ année (Yennek, S et al., 2017).

Année	Nombre de cas	Wilayas les plus touchées
2000	771	Saida- Mascra- Médéa- Oum el Bouagui- M'sila
2001	654	Sidi Bel Abbes- M'sila- Batna- Biskra
2002	644	Médéa- M'sila- Batna- Biskra
2003	686	Tiaret- Médéa- Relizen- M'sila
2004	573	Relizene- Mascra- Tiaret- M'sila

I.3. Classification taxonomique

Plusieurs auteurs ont proposé la classification d'*Echinococcus granulosus* (Xiao et al., 2005 ; Ito et al., 2006 ; Yang et al., 2006).

- Règne : Metazoa
- Embranchement: Platyhelmihe
- Classe : Cestoda
- Sous classe : Eucestoda
- Ordre : Cyclophyllidea
- Famille : Taeniidae
- Genre : Echinococcus
- Espèce : *Echinococcus granulosus*

I. 4. La morphologie *Echinococcus granulosus*

Le ténia du chien *Echinococcus granulosus* existe sous trois formes : adulte, larvaire et embryonnaire ainsi que la forme infestante d'*Echinococcus granulosus* sont décrites ci-dessous;

I.4.1. La forme adulte

Le ver adulte est un ver plat, mesure entre 4 à 6 mm de long, il atteint sa maturité entre le 40^{ème} et le 60^{ème} jour et sa longévité est de 6 mois à 2 ans. Une tête ou scolex : Elle est constituée de quatre ventouses et d'un rostre. Les éléments du scolex permettent au parasite de s'accrocher à la paroi intestinale de l'hôte et Un cou est étiré et fin.

Un corps ou strobile : Elle est constituée de trois anneaux. Les deux premiers sont immatures. Le dernier anneau, est un utérus gravidé contenant des œufs mûrs, se détache spontanément à l'aide du péristaltisme intestinal pour aboutir dans les selles du chien (Boujemaa. , 2018).

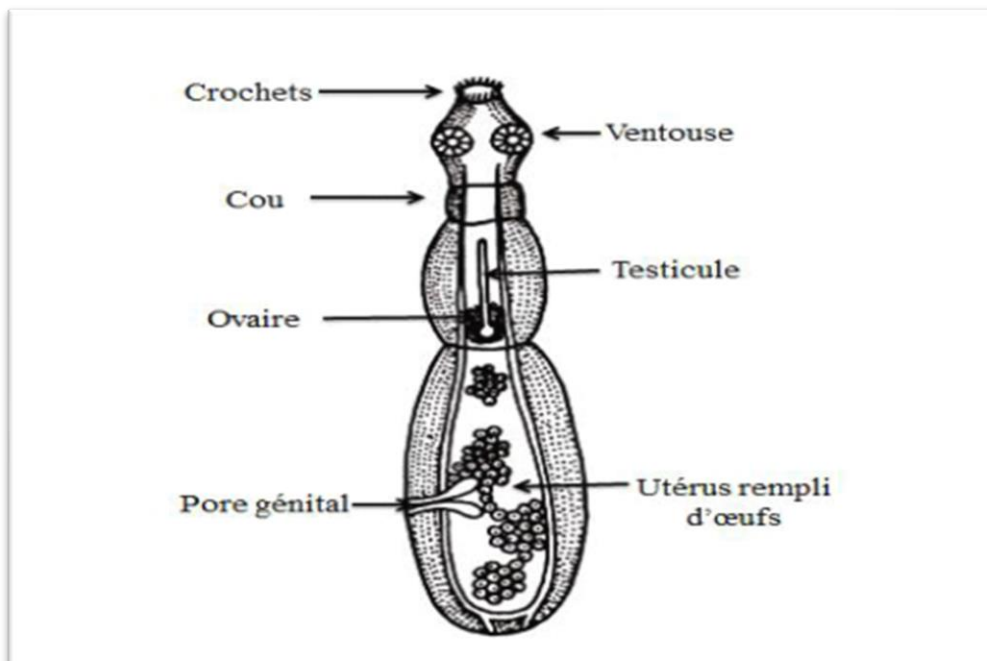


Figure 01 : Schéma d'un ver adulte d'*Echinococcus granulosus* (Berqdiche, 2011).

I. 4.2.L'œuf (embryophore)

L'œuf est ovoïde de 35µm de diamètre, non operculé, protégé par une coque épaisse et striée. Il contient un embryon hexacanthé à six crochets. un nombre de 200 à 800 œufs vont naître de l'anneau gravid, éliminés dans le milieu extérieur avec les selles du chien et qui seront ingérés par l'hôte intermédiaire (le mouton). Leur survie dans le sol dépend des conditions d'humidité et de température. Ils sont très résistants en milieu naturel humide mais ils sont rapidement détruits par la dessiccation. Les agents chimiques, engrais ou désinfectants n'altèrent pas sa vitalité (**Boujemaa, 2018**).

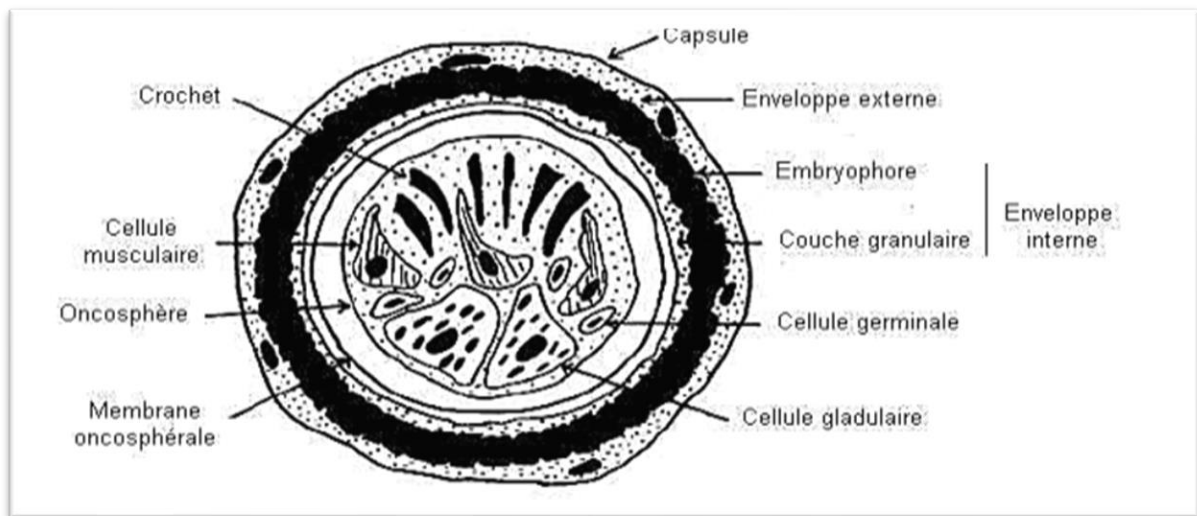


Figure 02: Schéma d'œuf d' *Echinococcus granulosus* (**Aliane & Atilous. , 2017**).

I.4. 3.La larve

Une fois arrivé dans les viscères de l'hôte intermédiaire ou accidentel, l'embryon hexacanthé perd ses crochets, se vacuolise, développe une vésiculation centrale et prend alors une forme kystique : c'est l'hydatide ou kyste hydatique (Figure 03). Sa croissance se fera de façon concentrique à la manière d'une tumeur bénigne. La vitesse de maturation est lente, dépendante de l'espèce hôte et du viscère parasité. Elle varie chez l'être humain de 1 à 30 mm par an (**Anas. ,2018**).

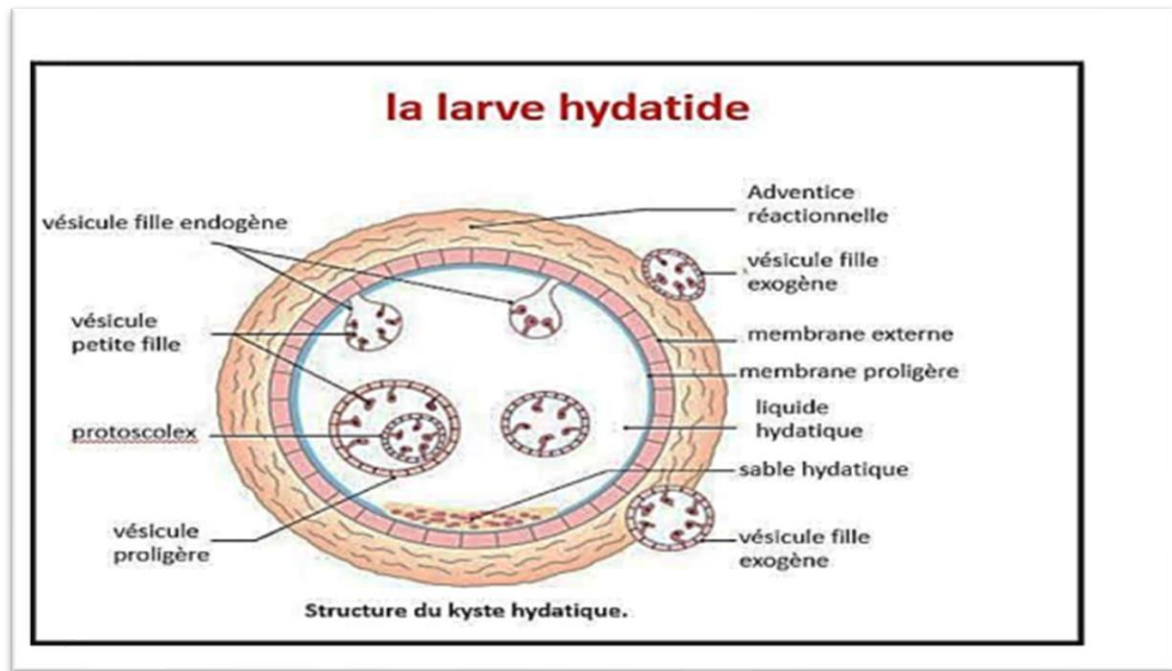


Figure 03: schéma de structure de kyste hydatique d'*Echinococcus granulosus* (Carmoi et al., 2008).

I.5. L'anatomopathologie du kyste hydatique

Le Kyste hydatique est constitué par l'ensemble de deux structures différentes :

- L'hydatide ou le kyste hydatique proprement dit, élément parasitaire .
- L'adventice ou périkyte qui appartient à l'organe hôte.

I.5.1. Périkyte ou adventice

L'adventice (périkyte) est le résultat de la réponse inflammatoire de l'organe dans lequel le parasite s'installe. Il se compose de trois couches: une couche interne, qui est lisse et brillante, semblable à une membrane séreuse, avec peu de fibres et de cellules, une couche intermédiaire, qui est de nature fibreuse et une couche externe, avec une inflammation active. (Ramos. G et al ., 2007 ;Bruno Gotstein.,2002). L'adventice est formée par une couche de cellules du tissu hôte qui sont écrasées par le volume du kyste, n'appartient pas au parasite (Bouée p. ,1991).

I.5.2. Larve hydatique (metacestode)

Larve hydatique formée de deux enveloppes, membrane prolifère ou germinative et la cuticule, et un contenu fait du liquide hydatique et des éléments figurés du kyste.

I.5.2.1. La cuticule (la couche lamellaire)

La couche lamellaire est de couleur blanche, nacré, acellulaire, d'environ 1 mm d'épaisseur et constituée d'un ensemble de strates concentriques et emboîtées les unes contre les autres. Cette membrane anhisté, dont l'épaisseur varie avec l'âge du kyste, d'aspect lamellaire, est

constituée de cholestérol, de galactose et de protéines, mais est pauvre en glycogène (**Bourée, P et al .,2007**).

Quand elle est intacte, elle forme un véritable filtre pour les micro-organismes, ce qui permet, toutefois, l'entrée des colloïdes et des cristalloïdes (**Ramos. G et al .,2001**).

I.5.2.2. La membrane prolifère ou germinative (membrane interne)

La membrane interne est blanche, transparente, fragile, granuleuse et couvre la face interne de la cuticule (**Ramos. G et al.,2001**). Elle est très fine, de 10 à 25 microns d'épaisseur, comporte de nombreuses cellules chargées de lipides et d'autres de glycogène et est riche en acides aminés (**P. Bourée**). Elle joue plusieurs rôles :

- La production de la cuticule, des vésicules prolifères et du liquide hydatique.
- Rôle dans la régulation des échanges et de la croissance du kyste, ainsi que la pérennisation de l'espèce (**Mohammed Laytimi F.,2011**).

I.5.2.3. Le liquide hydatique

Le liquide sous tension dans les kystes fertiles, à un aspect aqueux. Il est majoritairement constitué d'eau (99,9 %) (**Klotz et al., 2000**). Le reste est composé de chlorure de sodium, de glucose, de protéines, et d'enzymes glycolytiques et protéolytiques (**Euzeby., 1971**). Il joue ainsi un rôle antigénique d'importance diagnostique (**BELLILI .k et al ., 2018**).

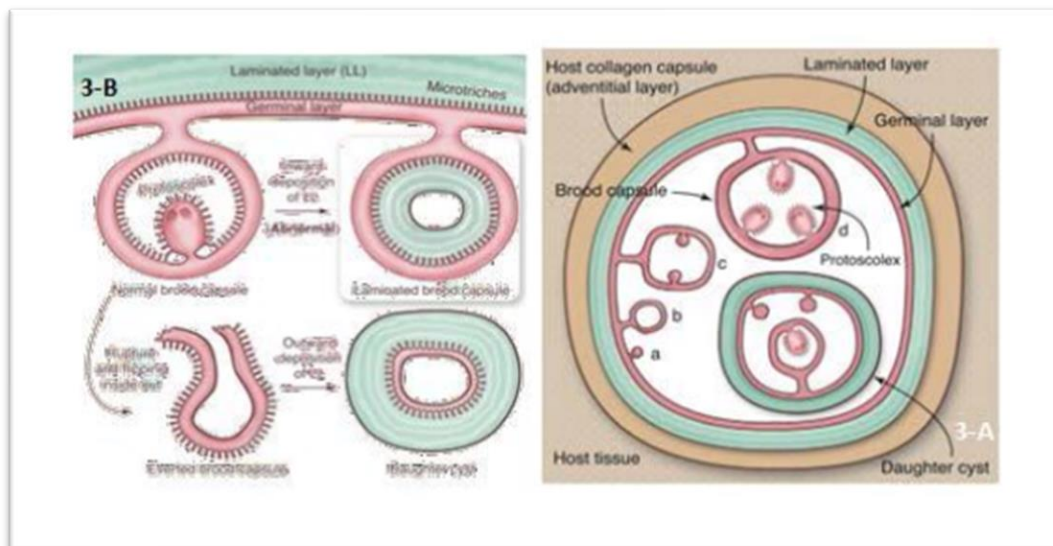


Figure 04: Structure de la larve hydatique d'*E. granulosus* (3-A), protoscolex (3-B) (**Diaz et al., 2011**).

I.5.2.3.1. Sable hydatique

Dans ce liquide flottent des capsules prolifères détachées, des vésicules filles endogènes, des protoscolex et les crochets libres qui une fois tombés au fond du kyste constituent un dépôt appelé : le sable hydatique (Euzeby., 1966., Da Silva., 2010).

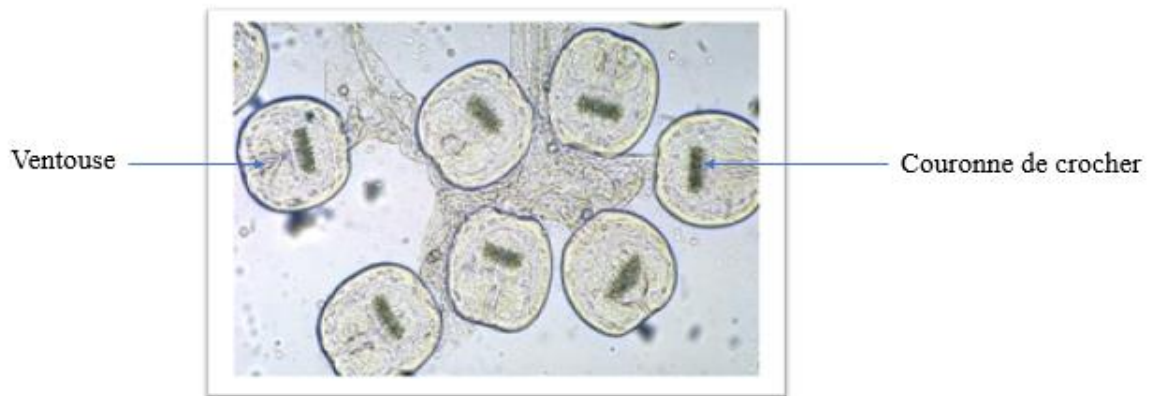


Figure 05: Photographie représente le sable hydatique de protoscolex d'*Echinococcus granulosus* (invaginé) (Anofel., 1996).

I.5.2.3.2. Protoscolex

De forme ovoïde de 190 à 120 µm possédant une paroi portant des microtriches (Diaz et al., 2011). Les protoscolex sont fixés à la membrane prolifère par un court pédoncule. A la face opposée existe une invagination au fond de laquelle sont disposés quatre ventouses et les 36 à 42 crochets (origine les microtriches). On retrouve aussi, des corpuscules calcaires et des cellules sécrétrices à flammes vibratiles (Euzeby., 1966).

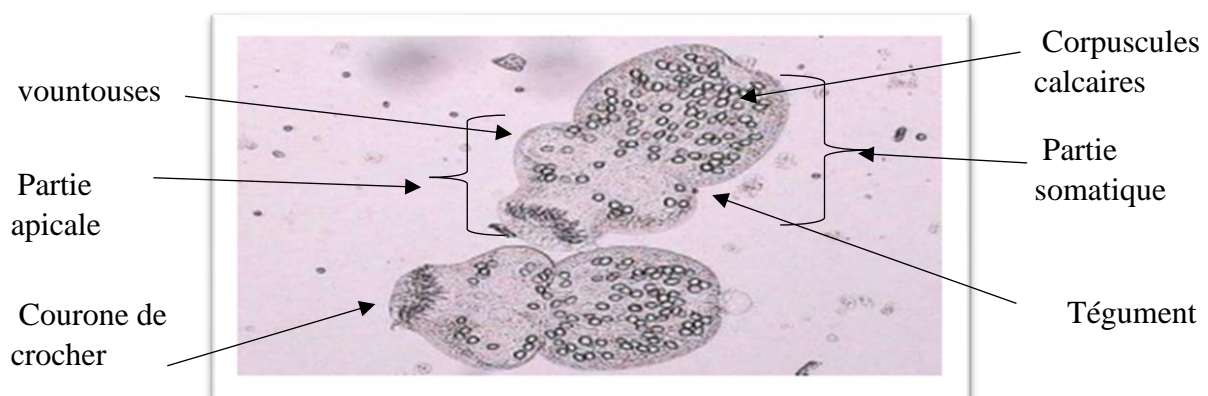


Figure 06 : Structure schématique du Protoscolex forme dévaginé d'*Echinococcus granulosus* (Hala, B. et al., 2020).

I.5.3. Capsules ou vésicules prolifères

Les capsules prolifères ont une forme sphérique, translucide de 300 à 500 µm. Leur paroi dotée de microtriches est semblable à celle de la membrane germinative (Diaz et al., 2011).

Produites à partir des cellules indifférenciées de la membrane prolifère, elles restent appendues par un fin pédicule. Elles tapissent cette paroi lui donnant un aspect échinulé d'où le terme « échinocoque ». A l'intérieur des capsules prolifères se forme de façon asynchrone un à plusieurs protoscolex (10 à 30 protoscolex) (Euzéby.,1966 ;Diaz et al., 2011).

I. 6. Le cycle parasitaire

Les vers adultes résident dans l'intestin grêle de l'hôte définitif qui peut être un chien ou un canidé. Les œufs sont libérés par les segments ovigères gravides. Les œufs libérés passent dans les fèces. Après ingestion par un hôte intermédiaire sensible (dans les conditions naturelles : ovins, caprins, porcins, bovins, chevaux et camélidés), les œufs sont acheminés dans l'intestin grêle et libèrent des oncosphères. Les oncosphères traversent la barrière intestinale. Elles migrent via la voie sanguine vers divers organes, particulièrement le foie et les poumons. Dans ces organes l'oncosphère se développe dans un kyste. Il se développe graduellement, produit des protoscolex et des vésicules filles qui emplissent l'intérieur du kyste. L'hôte définitif s'infeste en ingérant le contenu des kystes provenant d'organe infectés. Après ingestion des protoscolex.

Ils s'attachent à la muqueuse intestinale, et se développent jusqu'à l'âge adulte en 32 à 80 jours (Kayoueche. ,2009).

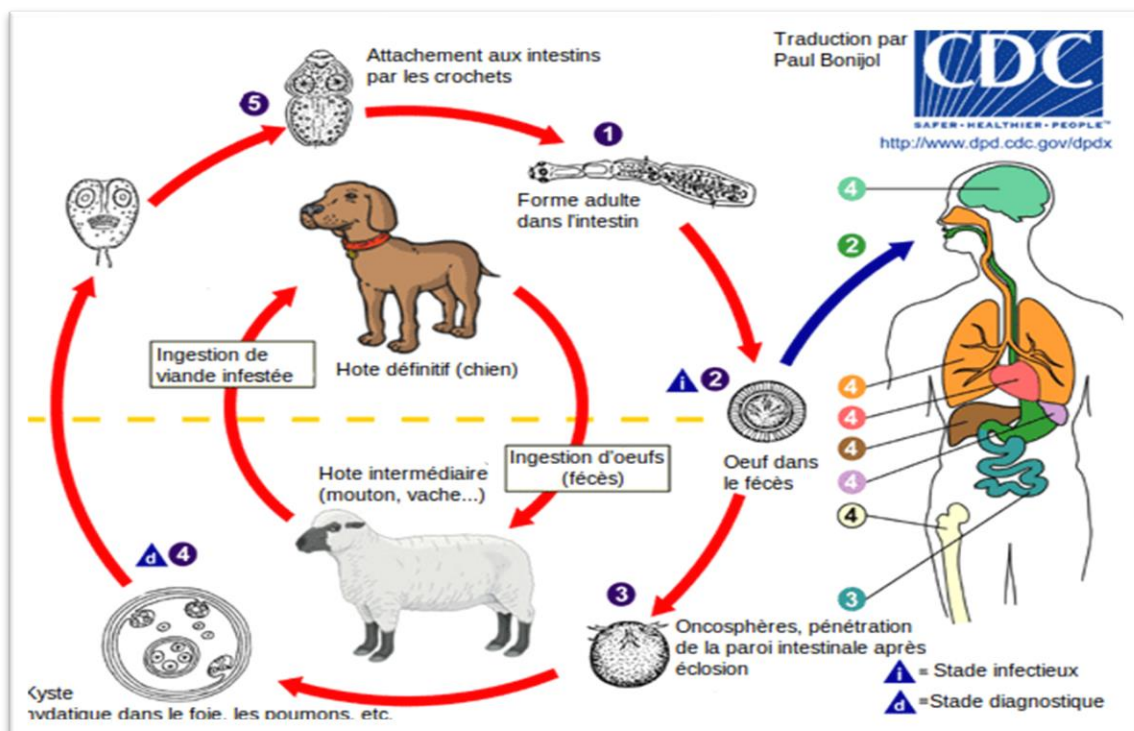


Figure 07: Organigramme représente cycle évolutif d'*Echinococcus granulosus* (Blibek ., 2009).

I.7. L'aspect clinique de l'échinococcus kystique

I.7. 1.Les formes cliniques

I.7.1.1. Hydatidose hépatique

L'Hydatidose hépatique est la localisation la plus fréquente (70,75%), souvent asymptomatique, elle est dépistée soit lors d'un examen clinique fait pour une raison identifiant une hépatomégalie soit le plus souvent lors d'un examen systématique. Des troubles peuvent être des douleurs abdominales de l'hypochondre droit ou des ictères cholestatique récidivant (Perlman., 1990).

I.7.1.2. Hydatidose pulmonaire

L'hydatidose pulmonaire est la seconde localisation la plus fréquente (Anofel., 1997), 60% des hydatidoses pulmonaires touchent les lobes inferieur de poumon droite (Bhatia., 1997 ; Zmerli et al., 2001), elle est Souvent asymptomatiques jusqu'à la fissuration et rupture dans les bronches, elle se manifeste alors par une vomique hydatique (liquide claire en générale mêlé de sang et de fragments de membranes larvaires) (Vaubourldolle., 2013).

I.7. 2. Les symptômes

Le kyste hydatique d'*Echinococcus granulosus* est souvent asymptomatique jusqu'à la survenue d'une complication, notamment sa rupture qui peut être très grave. Les symptômes associés aux kystes de foie incluent l'ampleur abdominale supérieure, l'inconfort, ou la douleur, et associer avec des signes secondaires tel que ; un ictère épisodique à répétition, des douleurs de l'hypochondre droite, et une hypertension artérielle (Gregory., 2008).

Les kystes de foie ne détériorent pas la capacité de fonctionner (Gregory., 2008). Tandis que les symptômes associés aux kystes des poumons peuvent se révéler par des douleurs thoraciques, des dyspnées suivi des complications telles que ; une surinfection du kyste, et une rupture dans une bronche avec un liquide ce qui permet la formation d'un kyste. (ZEGGANE, L. 2017).

I.7. 3. Diagnostic

Le diagnostic de l'hydatidose se fait par des examens cliniques (sérologique et de l'imagerie médicale) et biologiques (direct et inderect);

I.7. 3. 1. Le diagnostic clinique et morphologique de l'hydatidose

Le diagnostic de kystes hydatique dans des zones endémiques est soupçonné basé sur la présence des kystes avec une histoire d'exposition au mouton et des chiens. Pour la radiologie: se traduit par des calcifications sur des radiographies dans en hausse de 30 % de

cas, les calcifications sont d'habitude curvilignes ou semblables à l'anneau et sont déposées dans le péri-kyste. **(Pakala et al., 2016).**

La radiographie conventionnelle, la tomographie calculée (CT) et l'imagerie par résonance magnétique (MRI) sont les modalités diverses utiles dans le diagnostic de kyste hydatique. **(Akkas et al., 2016).** La localisation hépatique étant la plus fréquente, nous allons la prendre comme type de description. Selon son stade d'évolution naturelle ou selon son mode d'involution, le kyste hydatique va avoir plusieurs aspects échographiques classés par plusieurs auteurs en différents types. Actuellement, deux classifications sont les plus utilisées : celles de Gharbi et de L'Organisation mondiale de la santé **(Hala, B. et al., 2020).**

La classification Gharbi tient compte :

- de l'écho structure du contenu du kyste.
- de la présence ou non de membrane, décollée ou non décollée.
- de la présence de ou non de vésicules filles hydatiques.
- de la présence ou non de calcifications pariétales **(Gharbi et al., 1981).**

La classification de l'OMS qui a été proposée en 2001 afin de mieux sélectionner les patients pour un traitement percutané. Cette classification fait intervenir le caractère potentiellement fertile ou non du KHF et son caractère transitionnel **(Noomen et al., 2013).**

I.7. 3. 2. Diagnostic biologique

I.7. 3. 2.1. Diagnostic direct

réactions sérologiques Les techniques immunologiques ont été employées telles que l'hémagglutination passive, l'immunofluorescence et l'ELISA. Ils emploient des antigènes hétérologues d'*Echinococcus granulosus* **(Hala, B. et al., 2020).**

I.7. 3. 2.2. Diagnostic indirect

Chez les humains infectés par *Echinococcus granulosus* une réponse immunitaire est déclenchée entraînant la production d'anticorps, généralement de type IgG (**IgG1 et IgG4**), suivi par IgM, IgA et IgE. Cependant, à approximativement 30-40 % de patients, aucun anticorps de n'importe quelle sorte n'est détectable, même chez les individus qui ont les antigènes. **(Pakala et al., 2016).** Aussi bien que le sang périphérique éosinophilie est présent à 25 % de personnes infectées. Leucocytose et le taux de sédimentation érythrocyte accru sont aussi observés. Le sang périphérique éosinophilie et leucocytose est plus commun dans les cas de kystes rompus. Cependant, toutes ces enquêtes sont non spécifiques et peuvent être élevées dans des conditions diverses. **(Sarkar et al., 2016).**

I. 7.4.Traitement

L'approche au traitement de KH dépend de la mesure de participation d'organe, le nombre des kystes, la présence ou l'absence de communications kystiques et d'autres facteurs. Il est donc, crucial d'évaluer chaque cas individuel pour déterminer le meilleur résultat possible. Les méthodes de traitement incluent généralement : la chirurgie ou le traitement médicochirurgical, le traitement médicamenteux antiparasitaire, le traitement par ponction (PAIR).

- Le traitement médicochirurgical consiste à enlever le ou les kystes. C'est une chirurgie parfois complexe du fait de l'organe atteint et de la taille du kyste, elle doit être entourée par la prise de l'albendazole préalablement prescrit pendant quatre jours et prescrit également jusqu'à quatre semaines après pour éviter la dissémination hydatique et la récurrence. (**Eddeghai et al., 2014**)
- Le traitement par ponction du kyste est connue sous le nom d'une nouvelle méthode appelée la **PAIR** (Injection d'aspiration percutanée et ré-aspiration) (**Moncef et al., 1990**). Elle consiste à injecter un agent scolicidal afin d'éviter la dissémination du parasite pendant la chirurgie et ré-aspiration du contenu du kyste associé à un traitement médicamenteux avec l'albendazole à une dose de 400 mg deux fois par jour.
- Le traitement antiparasitaire se fait avec les carbamates de benzimidazole, l'albendazole et le mébendazole. l'albendazole ou le praziquantel. Ces médicaments sont d'efficacité imparfaite du traitement avec des risques de rechutes. (**Pakala et al., 2016**).

I.7.5.Prophylaxie

Dans une zone d'endémie la prophylaxie reste le meilleur moyen de prévention contre l'hydatidose. Elle est essentielle pour éradiquer une maladie parasitaire dans une population, et pour cela plusieurs moyens sont appliqués pour lutter contre la chaîne épidémiologique (**Laytimi., 2011**) à savoir : Renforcer l'hygiène alimentaire individuelle et collective par:

- Le lavage des mains avec le savon et l'eau chaude.
- Les fruits et des légumes devraient être correctement lavés avant la consommation
- Incinérations des viscères parasités.
- Contrôle des abatages clandestins.
- Lutter contre les chiens errants.
- Vaccination de bétail pour la prévention de kyste hydatide devrait être un but important dans la gestion (direction).
- Un vaccin recombinant a été développé de l'oncosphere pour l'utilisation dans l'hôte intermédiaire du parasite. Il protège le mouton contre *E. granulosus* puis empêchant par la suite l'infection humaine. (**Pakala et al., 2016**).



Chapitre II :

Chitine et chitosane

Chapiter II :chitine et chitosane

II.1. Historique

En 1799, l'anglais Hachett se rendit compte qu'après déminéralisation des carapaces, on obtenait un matériau souple résistant à la dégradation chimique et qui gardait dans les moindres détails, la forme et les caractéristiques de la carapace. Ce n'est que plus tard que cette matière fût identifiée comme haut polymère et baptisée chitine du terme grec "chiton", signifiant "côte de maille".

Le chitosane, dérivé désacétylé de la chitine, est décrit pour la première fois en 1811 par Henri Braconnot, nommé ainsi en 1823 par Auguste Odier. En 1884, la chitine est isolée, mais ce n'est qu'en 1930 que sa structure chimique est établie par Zeichmeister et Zoth (**Keddamm, K et al ., 2018**). ces biopolymères (la chitine et le chitosane) ont suscité beaucoup d'intérêt dans le monde oriental, principalement pour l'application dans le domaine médical et la purification de l'eau.

II.2. Définition et structure de la chitine

A l'état solide, la chitine se trouve en trois formes polymorphiques α , β , γ qui diffèrent dans leur degré d'hydratation, de la taille de la maille, et du nombre de chaines de chitines par maille (**Einbau., 2007**).

La chitine est un polymère linéaire qui a une structure similaire à la cellulose, mais c'est un amino-polysaccharide ayant des groupements acétamide en position C-2 à la place des hydroxyles. Sa structure chimique est un enchainement d'unité monomère : N-acétyle- β -D-glucopyranose reliées par une liaison glycosurique β -(1-4) (Figure.5).

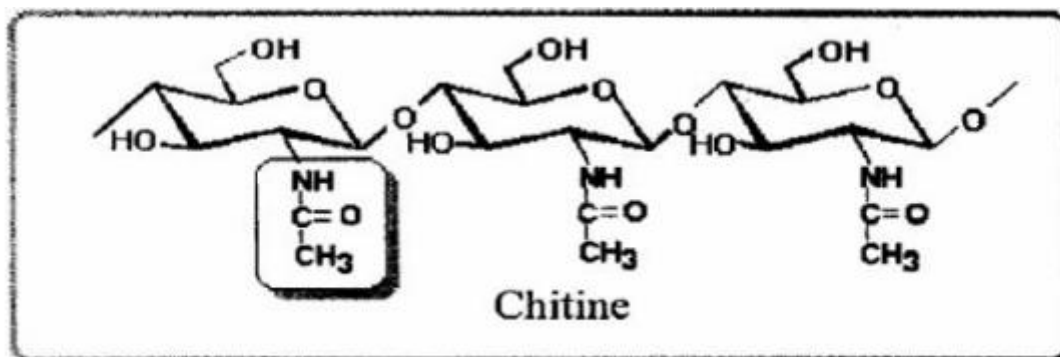


Figure 08 : Structure chimique de la chitine (**Le Roux, 2012**)

II.3. Sources de chitine

La chitine est le polysaccharide naturel, facile à obtenir et renouvelable. Dans le règne animal, la chitine est un élément structurel important du tégument de certains invertébrés. Elle est présente principalement dans les coquilles de mollusques, dans les cuticules des insectes et dans la carapace des crustacés (**Crini et al., 2009**).

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

II.4. Les propriétés de la chitine

Parmi les dérivés de la chitine, on retrouve principalement le chitosane, la forme d'acétylation de la chitine, qui a attiré l'attention de plusieurs chercheurs et industriels depuis une trentaine d'année à cause de ses propriétés physicochimiques et biologique. La chitine est fortement hydrophobe et insoluble dans l'eau et dans la plupart des solvants organique (**Muzzarelli ., 1983 ; Kurita et al., 2005**). C'est un polysaccharide azoté, basique cationique ,de couleur blanchâtre et non toxique (**Ahmad, A et al ., 2005 ; Morimoto et al., 2002**). Elle est caractérisée par le degré de N-acétylation ; le degré de substitution, le poids moléculaire et la solubilité (**Ahmad, A et al ., 2005 ; Kitture., 2002**).

II.5. Procédé d'extraction de la chitine

II.5.1. La production de chitine par voie chimique

De nombreuses méthodes ont été développées afin de préparer la chitine à partir des exosquelettes. De manière générale, elles consistent à éliminer les éléments minéraux (démminéralisation), les protéines (déprotéinisation) et la couleur (blanchiment).

• La déminéralisation

La déminéralisation est généralement réalisée par un traitement acide sous agitation pour solubiliser le carbonate de calcium et le chlorure de calcium (**Mokrani Nadir.,2013**) . Les acides les plus fréquemment utilisés sont l'acide chlorhydrique et l'acide formique. La durée du traitement acide est de l'ordre de 1 à 48 heures à la température ambiante (**No H.K et al ., 1998**).

- **La déprotéinisation**

A l'état naturel, la chitine se présente en association avec les protéines (chitinoprotéine). Ces protéines sont éliminées par un traitement basique en utilisant, en général, des solutions à base de NaOH, Na₂CO₃, NaHCO₃, KOH, K₂CO₃, Ca(OH)₂, Na₂SO₃, CaSO₃, ou Na₃PO₄. La solution d'hydroxyde de sodium est la plus souvent utilisée pour dissoudre les protéines (DAHMANI, Ket al., 2019).

- **Le Blanchiment**

Et enfin un blanchiment (décoloration) par la présence d'un agent oxydant (Shahidi F et al ; 2005) (KMnO₄, NaOCl, SO₂, NaHSO₃, Na₂S₂O₄ ou H₂O₂). Ce traitement peut éliminer des traces de pigments résiduels, comme les caroténoïdes (Mokrani Nadir.,2013). Entre ces différentes étapes, des opérations de lavage sont nécessaires (Shahidi F et al ; 2005).

II.5.2. Traitements biologique

À l'inverse, un procédé biologique de purification de la chitine répondrait mieux aux enjeux actuels de développement durable. Son empreinte sur l'environnement devrait être réduite car les volumes d'effluents chargés en réactifs chimiques sont plus faibles. Ses conditions plus douces devraient préserver la qualité de la chitine. Enfin elles devraient également favoriser la valorisation des autres constituants, présents dans les co-produits de crustacés. Il s'agit notamment des peptides et des pigments. Par ces voies, les taux de protéines et minéraux résiduels sont plus importants par rapport à l'emploi de l'extraction chimique. Des traitements complémentaires sont souvent nécessaires pour améliorer le degré de pureté en chitine. Enfin, les temps de réaction sont beaucoup plus longs que par la voie chimique (Le Roux., 2012). Visuellement, l'aspect général du produit constitue également un critère d'appréciation. Le produit obtenu par hydrolyse enzymatique est plus rosé que celui obtenu par voie chimique.

II.6. Le chitosane

Chitosane est un copolymère linéaire β (1-4) de N-acétyl D-glucosamine et de D-glucosamine (Felt et al., 1999 ; No et al., 2000) (Figure 09). Il est obtenu par désacétylation de la chitine à partir de la carapace des crustacés (crabes, crevettes) par des processus chimiques ou microbiologiques (Tayel et al., 2010). Donc la nature chimique du chitosane fournit

beaucoup de possibilité alternative pour des modifications covalente et ionique qui permettent l'justement étendu des propriétés mécaniques et biologique.

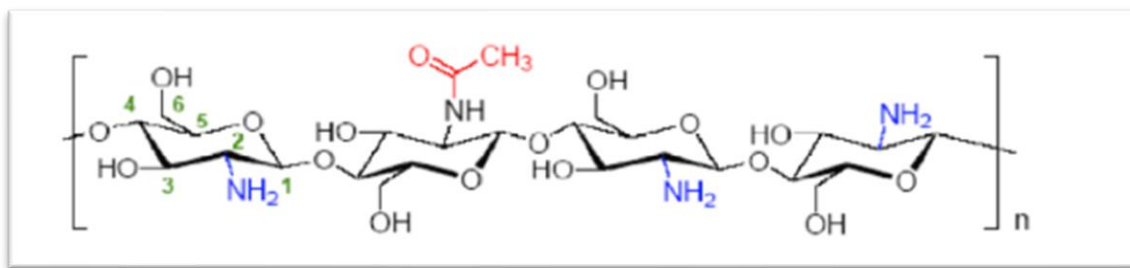


Figure 09 : Structure chimique du chitosane (Olteanu et Enescu,, 2007).

Le chitosane est une macromolécule pressante sur la carapace des crustacés et des crabes ainsi que sur certains champignons. Le chitosane est utilisé pour régénère les tissus, particulièrement les tissus osseux.

II.7 . Procédés d'obtention du chitosane

La production typique du chitosane provenant des crevettes et des crabes, est composée généralement de quatre étapes de base : la déminéralisation, la déprotéinisation, la décoloration et la désacétylation.

• La déminéralisation

C'est une étape qui consiste à éliminer la matière minérale liée à la chitine. Elle se fait par hydrolyse acide.

• La déprotéinisation

C'est une étape qui consiste à éliminer les protéines liée à la chitine. Elle se fait par hydrolyse basique.

• La décoloration (ou blanchiment)

C'est une étape qui vise à éliminer les pigments qui sont liés à la chitine

• La désacétylation

La désacétylation signifie l'hydrolyse des groupements acétyles présents dans la chitine pour avoir des groupes amines. D'habitude, la chitine est partiellement désacétylée par N désacétylation alcalines en utilisant des processus industriels pour produire différents polymères (Benali A.,2013).

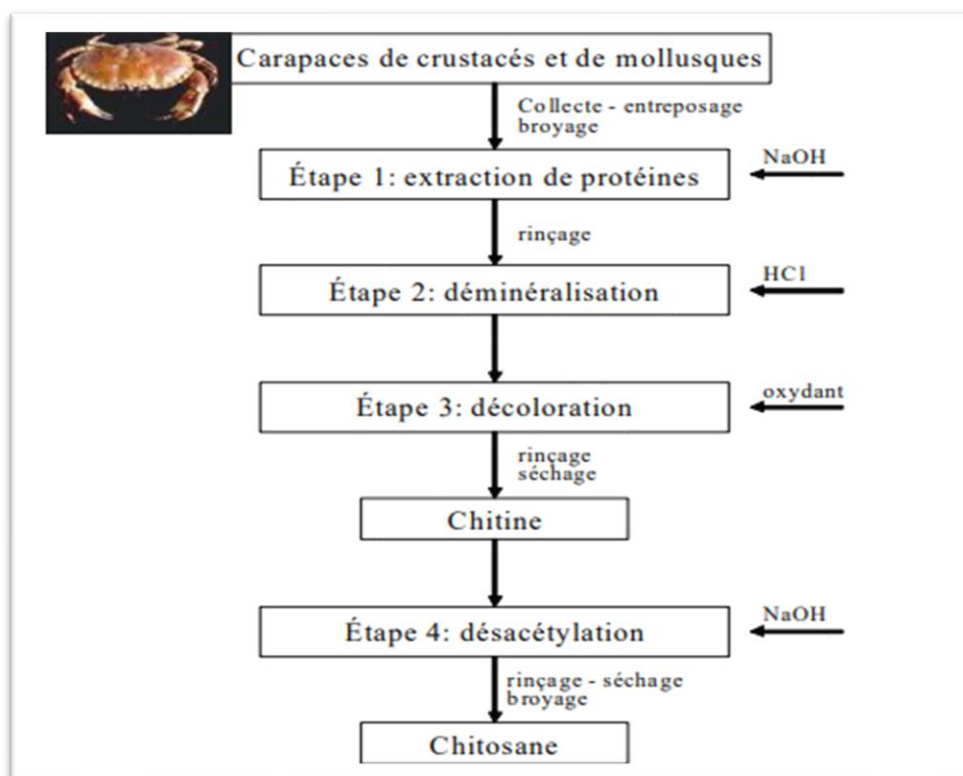


Figure 10 : Procédé de la fabrication de chitine et chitosane (Onsoyen et Skaugrud., 1990)

II.8. Propriétés du chitosane

II.8.1. Propriétés physico-chimiques

Le chitosane est caractérisé physico-chimiquement par le degré de désacétylation, la masse moléculaire, la viscosité et la solubilité (Arbia., 2010).

- *Le degré de désacétylation (DDA)*

Le degré de désacétylation de la chitine influe sur toutes les caractéristiques physico-chimiques du chitosane (masse moléculaire, viscosité, solubilité...). Le DDA est la plus importante caractéristique du chitosane. Il existe quatre (04) méthodes de techniques d'analyse pour déterminer le DDA (Mokrani., 2013):

- Balayage par spectrophotomètre UV
- Dosage IRTF
- Dosage conductimétrique
- Dosage pH-métrie

En général, une seule méthode, analytique ou spectrométrique, n'est pas suffisante pour caractériser les biopolymères, chitine et chitosane. Le DDA de la chitine varie de 60% à 100% selon les conditions de désacétylation utilisées (**Ferhat, M. 2012**).

- **La viscosité**

Seul ici le chitosane est concerné par la viscosité en solution, la chitine étant insoluble. La viscosité du chitosane dans une solution diluée d'acide acétique demeure très variable. Elle dépend notamment de quatre paramètres (**Randrianasolo., 2003**) :

- degré de desacétylation : plus il est desacétylé, plus le nombre de groupement amine libre augmente entraînant ainsi une augmentation de sa solubilité et une grande viscosité.
- Concentration: la viscosité croît en fonction de la concentration .
- Température: la viscosité diminue lorsque la température augmente, comme pour tous les autres polysaccharides .
- pH : la viscosité est forte dans les domaines de pH acide.
- Masse molaire .

Il existe différentes méthodes pour déterminer la viscosité. La plus employée est «la viscosimètre».

- **La masse molaire**

Les chitosanes obtenus industriellement ont une masse molaire de l'ordre de $200\,000\text{ g.mol}^{-1}$ et un DA allant de 2 à 25% (**Fatima, B. 2018**). Pour le chitosane, la masse molaire et la répartition des motifs N-acétylés le long de la chaîne sont dépendantes de la méthode de désacétylation utilisée.

- **La solubilité**

Le chitosane sous forme d'amine libre reste insoluble dans l'eau, dans les acides concentrés, dans les bases et dans les solvants organiques. Mais il est soluble dans les acides dilués dans des mélanges d'eau-alcool. Sa solubilité varie en fonction du degré de desacétylation et de la méthode de desacétylation mise en oeuvre.

II.8.2. Propriétés biologiques

Le chitosane est biocompatible, biodégradable, renouvelable, filmogène, agent hydratant, non toxique, bonne tolérance biologique, hydrolysé par le lyzosome donc biorésorbable, cicatrisant, agent bactéricide et fongicide.

- **Biocompatibilité**

Le chitosane est un copolymère normal, parfaitement compatible avec le tissu vivant (**Durand et al ., 2010**).

- **Biodégradabilité**

Les enzymes chitinase et chitosanase font dégrader la chitine et le chitosane en oligopolymères facilement assimilables par l'organisme des êtres vivants (**Durand et al ., 2010**).

- **Cicatrisant**

Les films formés par le chitosane sont perméables à l'air. Cet avantage lui facilite essentiellement la régénération cellulaire tout en protégeant les tissus cellulaires contre l'attaque des microbes. En plus, le chitosane dispose d'un effet biostimulant sur la régénération de ces tissus (**Zemmouri., 2008**).

II.9. Activité antibactérienne du chitosane.

Le chitosane présente une activité antimicrobienne face aux différents groupes de microorganismes (**Juneja et al., 2006**). En général, les moisissures et les levures sont les plus sensibles au chitosane suivies des bactéries.

L'activité antimicrobienne du chitosane est influencée par de nombreux facteurs, incluant l'origine biologique du chitosane, le pourcentage de désacétylation , le degré de polymérisation ou le poids , ainsi que le type d'organismes ciblés. La réponse du microorganisme quand a elle, dépend de la structure chimique du chitosane utilisé et des conditions environnementales lors de l'interaction (**Cuero., 1999**).

Le mécanisme d'action du chitosane contre les bactéries est jusqu'à aujourd'hui mal connu. Cependant, il existe plusieurs éléments qui peuvent expliquer cette action :

- Le chitosane, de par sa nature cationique, interagirait avec la paroi cellulaire anionique des microorganismes. Le chitosane adhèrent facilement aux cellules microbiennes puisque les amines chargées positivement agissent avec les charges négatives sur la membrane des cellules libérant ainsi les constituants intracellulaires ;

- Le chitosane pourrait chélater des ions métalliques nécessaires à la croissance microbienne ou à la production de toxines ;
- Le chitosane interagit probablement avec la membrane des cellules pour altérer sa perméabilité entravant ainsi l'entrée de certains nutriments (**Crini et al., 2007**).

II.10. Activité antioxydant du chitosane

L'utilisation du chitosane comme antimicrobien, notamment dans les filières viandes et poissons, peut être justifié par son pouvoir antioxydant plus récemment identifié. Les mécanismes mis en jeu dans cette activité antioxydante du chitosane et surtout de certains de ses dérivés comme le carboxyméthyl chitosane sont encore assez mal décrits et semblent être liés d'une part au caractère cationique de ces macromolécules et d'autre part à leur pouvoir chélateur. Ainsi le carboxyméthyl chitosane en chélatant le fer libre issu des hémoprotéines libérées lors du stockage et/ou de la préparation de la viande va fortement ralentir le pouvoir catalyseur de ces ions sur le rancissement. L'action stabilisatrice des fonctions amines du chitosane sur les aldéhydes volatiles issus de la dégradation des acides gras insaturés semble également primordiale (**Aljawish., 2013**).

II.11. Utilisation des chitosanes en vaccination par voie muqueuse

Les chitosans ont un rôle de distribution d'antigènes. Ils ont également une fonction de stabilisation. Ils ont la capacité de former des particules polymères capables d'absorber les antigènes lorsqu'ils sont mélangés en formulation de vaccins (**R. Scherließ et al ., 2013**).

De plus, les chitosanes sont d'excellents adjuvants pour les muqueuses. En effet, ils permettent la présentation d'antigènes aux cellules phagocytaires locales. Cela conduit à stimuler efficacement le système immunitaire inné. Ils vont également activer l'inflammosome suite de l'activation du récepteur NALP3. Un vaccin contre le virus Norwalk responsable de la gastro-entérite a été testé dans des essais cliniques avec une combinaison de chitosan et de MLP, la vaccination a montré une protection significative des participants (**Cimica.V et al ., 2017**).

II.12. Principales applications du chitosane

Le chitosane a été utilisé dans nombreux domaine tels que l'agriculture ,l'agro-alimentaire, la cosmétologie et l'industrie pharmaceutique. Le tableau ci-dessous montre principales applications du chitosane.

Tableau 02 : Principales applications du chitosane (Rinaudo M. ,et al 2006).

Domaine d'exploitation	Application
Potentiel biomédical	Sutures chirurgicales Implants dentaires Peaux artificielles Reconstructions osseuses
Agriculture	Mécanisme défensive Stimule la croissance des plantes Enrobage (protection) Libération de fertilisants et nutriments
Traitement des eaux	Polymère écologique Pouvoir séquestrant (métaux lourds colorants etc.) Diminution de la turbidité Diminution des odeurs Bactéricides
Alimentaire	Non digestible (diète aux fibres) Hypocholestérolémiant Agent de conservation Stabilisateur Antimicrobien Enrobage protecteur (fruits)
Cosmétique	Crèmes Traitement de l'acné Produits hydratants Formulation de dentifrices Formulation de shampoings
Biopharmaceutique	Lmmunostimulants Antitumoraux Anticoagulants Bactériostatiques Libérations contrôlées (matrices)

A decorative frame resembling a scroll, with a light green border and rounded corners. The top and bottom edges have a slight inward curve, and the left and right edges have a slight outward curve. The frame is centered on the page.

Chapitre III :

Matériel et Méthodes

Chapitre III : Matériel et Méthodes

Notre travail a porté sur l'étude de l'effet *in vitro* du chitosane sur la viabilité de la larve d'*Echinococcus granulosus* et certaines activités biologiques du chitosane de carapace de crevette grise et du chitosane commercial de crabe.

III. 1. Appareils et réactifs

L'ensemble du matériel utilisé au cours de cette procédure est reporté dans le tableau 03.

Tableau 03 : Liste du matériel et produits utilisé pendant l'expérimentation.

Réactifs et produits chimique	Appareillage
Eosine à 0,2%	Balance de precision (A Kern 440-35N ®)
Acide chlorhydrique HCl	Agitateur (Jlab Tech ®)
Hydroxyde de sodium NaOH (98 %)	Agitateur a plaque chauffante
Acide Ascorbique	Centrifugeuse (EZ Swing 3 k®)
DPPH	pH mètre (Tiancheng ®)
Muller hinton	Spectrophotométrie UV-Visible (OPTIMA sp-
Milieu LB	3000nano ®)
Ethanol (95%)	Etuve (Mamert)
chitosane comercial	Autoclave (Wiseclave ®)
	Microscope optique (TENSION ®)
	Congelateur
	Réfrigérateur (Maxipower ®)

III.2. Matériel biologique

III.2.1.Les carapaces de crevettes

Les carapaces de crevettes utilisées dans cette étude pour synthétiser le chitosane sont obtenues à partir d'un restaurant situé à la commune de Ain benian à Alger. La région de Ain benian situé en littoral est réputée par sa large variété de poisson.

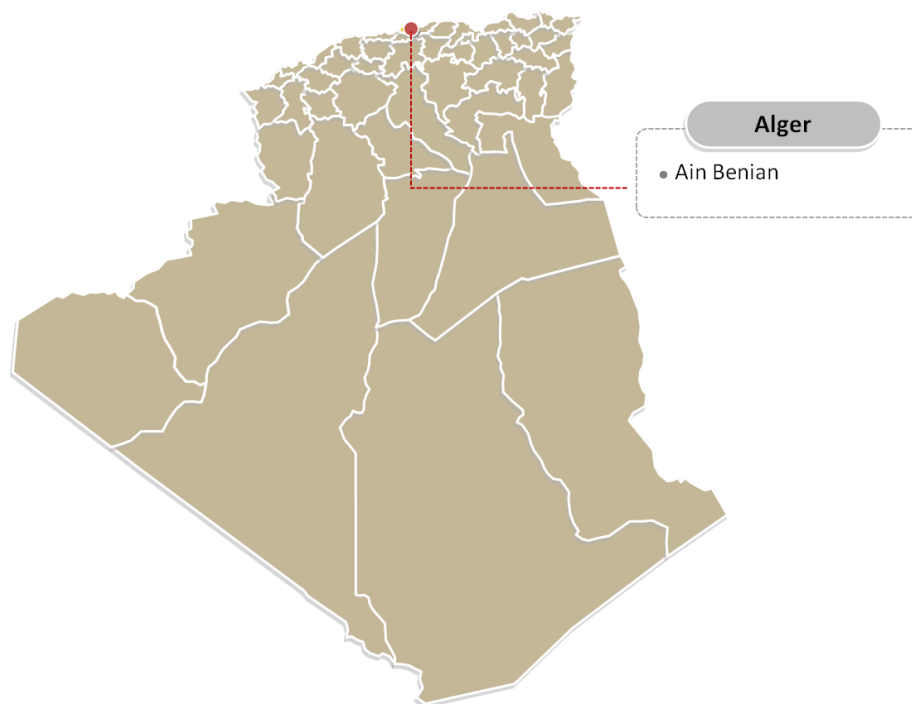


Figure 11: Chartographie géographique de l'échantillonnage de carapaces de crevette grise dans la région d'Ain benian.

III.2.2. Les kystes hydatiques

Les kystes hydatiques ont été obtenus à partir deux battoirs : ma mère Haja fatima (Ain Bessem) et AMAOUZ (El Asnam) wilaya du Bouira. La recherche des kystes hydatiques a été effectuée principalement sur le foie et les poumons, après l'abattage par l'examen macroscopique et par la palpation et l'incision. Les organes parasités sont transportés dans une glacière et acheminés jusqu'au laboratoire de biochimie au niveau de la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie (SNV). Les kystes hydatiques ont été prélevés à partir des organes infectés (Figure 12).

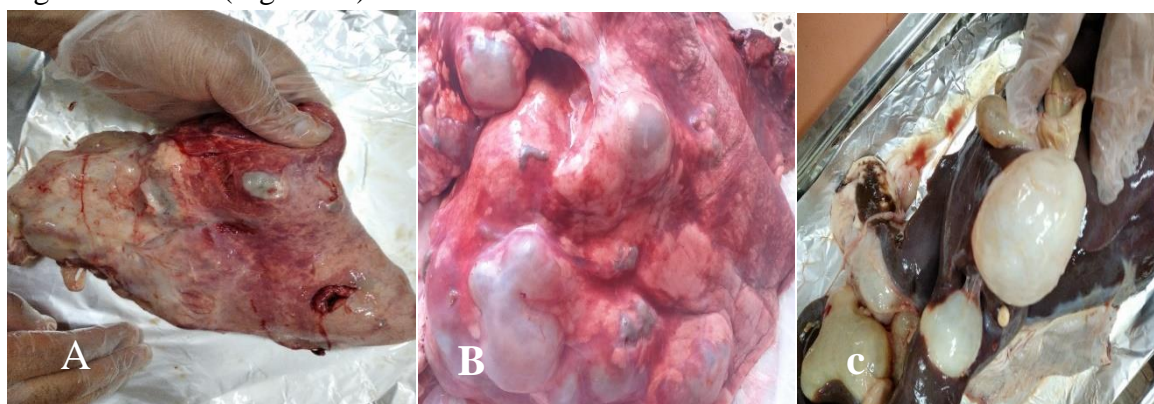


Figure 12 : photos original de poumon ovin infecté par le kyste hydatique (A , B),
foie ovin infecté par le kyste hydatique (C).

III.2.3. Obtention des parois kystiques

Les parois kystiques sont obtenus par incision de l'endokyste après ponction du kyste hydatiques. La membrane germinative est accolée sur la couche laminaire et présente des protoscolex attaché grace à des pédicules figure N° 13 (A ,B).

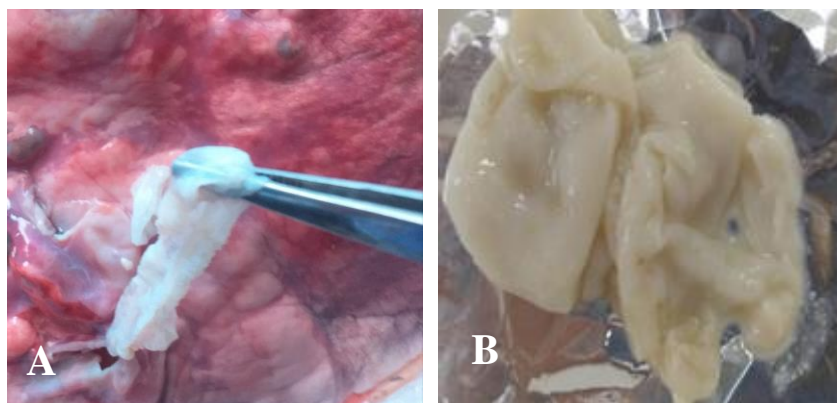


Figure 13 : photos originales des membranes prolifères d'un Kyste hydatique foie.

III.2.4. Les souches bactériennes utilisées

Dans cette étude l'activité antimicrobienne du chitosane de crevette grise et chitosane comercial a été réalisé contre les souches bactériennes tel que ; *Escherichia coli* (Gram-) et *staphylococcus aureus* (Gram+), *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (Gram+) et *Bacillus cereus* (Gram+).

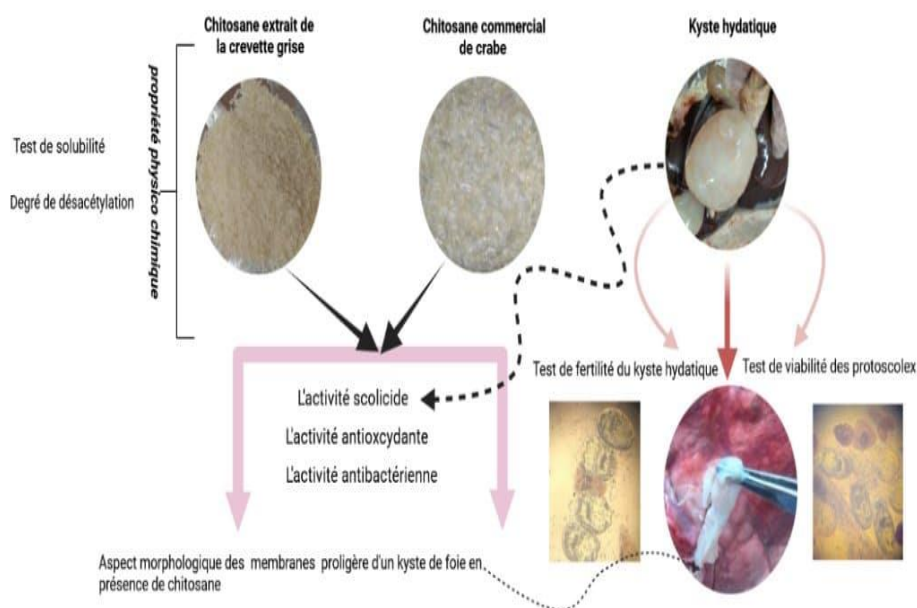


figure 14 : Schéma récupilatif des quelques activités biologiques du chitosane de crevette grise et comercial.

III.3.1. La méthode d'extraction du chitosane

L'extraction du chitosane nécessite deux étapes importantes, la première étape consiste en l'extraction de la chitine à partir des carapaces de crevette, la deuxième étape c'est l'obtention de chitosane à partir de la chitine. Le protocole d'extraction du chitosane à partir de la chitine est résumée dans la figure N° 15.

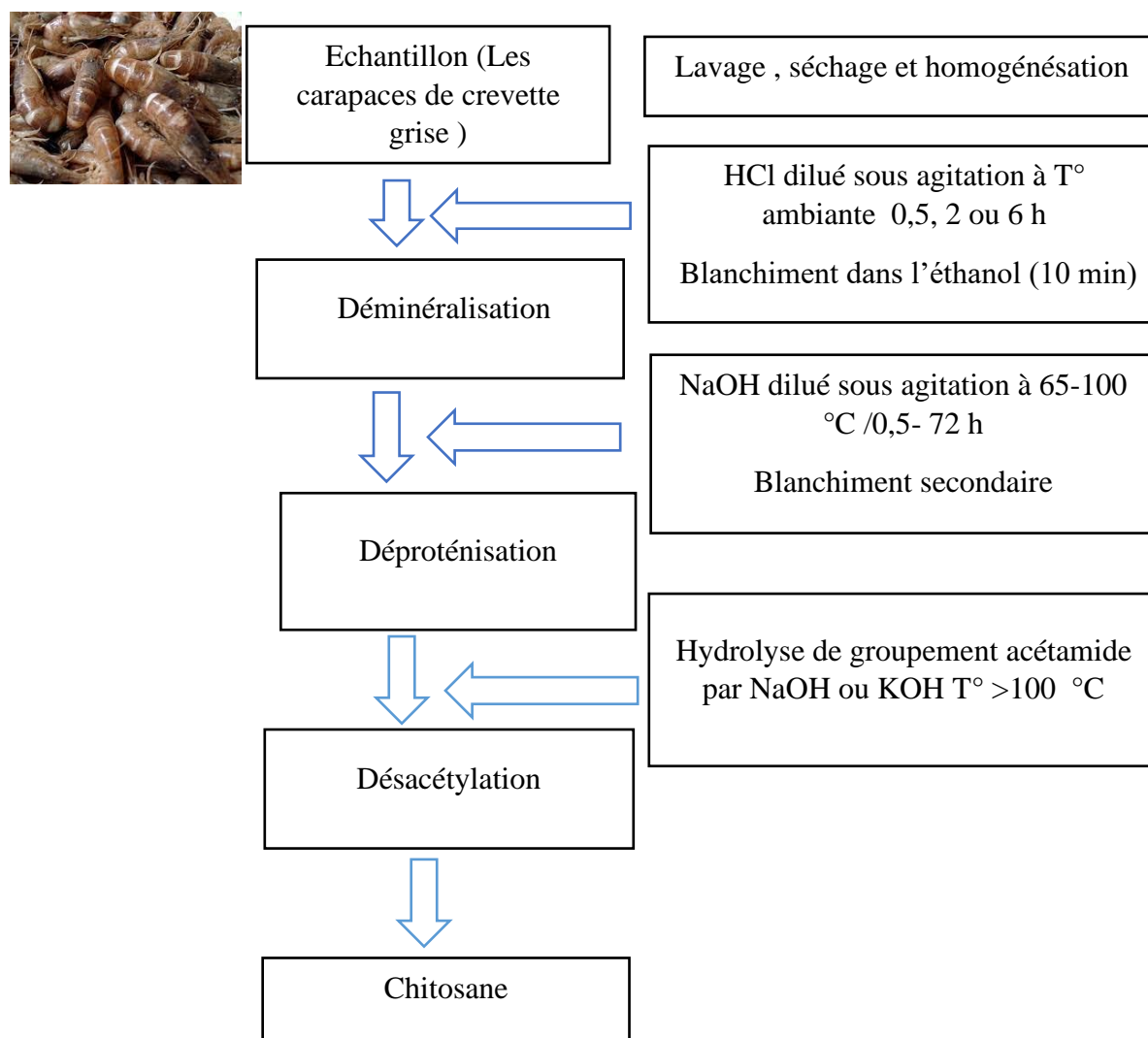


Figure 15 : Organigramme représente le protocole d'extraction du chitosane (De Queiroz et al., 2017).

III.3.2. Test de solubilité

Le chitosane de carapace de crevette grise et le chitosane commercial de crabe ont été testés pour leur solubilités dans les milieux acide, basique, neutre. Selon (Ngh et Fatinthan., 2008). Le test de solubilité a été réalisé dans l'eau distillée, acide acétique, et solution de NaOH 1M une concentration de 1% puis ces solutions sont les laisser sous agitation.

III.3.3. Degré de desacétylation(DDA) du chitosane

II.3.3.1. Dosage pH-métrique

Le dosage pH-métrique a permis de déterminer le DDA du chitosane. Il se déroule selon les étapes suivantes (Assaad et al., 2006) : D'abord solubilisation de 150 mg du chitosane dans 10 mL de HCl 0,1 N ; ensuite ajustement le volume de la solution à 200 mL avec de l'eau distillée; après titrage de la solution en l'agitant avec une solution de NaOH 0,1 N ; enfin mesurer du pH de la solution après chaque ajout de NaOH.

Le degré de désacétylation (DDA) se calcule par la formule (1):

$$DDA = \frac{203 (V2-V1) * N}{m + 42 (V2-V1) * N} * 100 \quad (1)$$

Où **N** : représente la normalité de la solution de NaOH (N) ; **V1 et V2** : sont les volumes équivalents de NaOH (L) ; **m** : est la masse du chitosane (g) ; **203 (g/mol)** : est la masse moléculaire du monomère acétylé ; **42 g/mol** : est la différence entre la masse moléculaire du monomère acétylé et la masse moléculaire du monomère désacétylé.

III.4. Test de fertilité du kyste hydatique

Selon (Ould Ahmed Salem et al., 2011). Une goutte de liquide hydatique a été prélevée et observée sous microscope optique pour vérifier la présence de protoscolex. Les kystes hydatiques contenant protoscolex sont considérés comme fertiles, en revanche, ceux qui n'en contiennent pas sont considérés stériles (acéphalocystes).

III.5. Test de viabilité des protoscolex

La viabilité des protoscolex des kystes fertiles a été testée par la méthode d'exclusion aux colorants vitaux. Une goutte de liquide hydatique fertile mélangée avec une goutte d'éosine à 0,2% en solution dans l'eau distillée est placée entre lame et lamelle. Après quelques minutes, le mélange a été observé au microscope optique. Tous les protoscolex qui ont retenu la coloration ont été considérés comme morts, et ceux qui ne l'ont pas retenue comme viables (Ould Ahmed Salem et al., 2010). Le taux de protoscolex morts et taux de viabilité ont été calculés par les formules (2) et (3) :

$$\text{Taux de protoscolex morts} = n \times 100 / N \quad (2)$$

N : nombre total de protoscolex ; **n** : nombre de protoscolex morts

$$\text{Taux de viabilité (\%)} = 100\% - \text{taux de protoscolex mort} \quad (3)$$

III.6. Etude de l'activité scolicide

Cinq concentrations du chitosane (50, 100, 200, 400, 800 µg /ml) ont été préparées. D'abord, un volume de 50 µL de la suspension de protoscolex a été ajouté à 1 mL de chaque solution du chitosane et mélangées doucement puis incubé à 37 °C pendant 10, 30, 60 et 120 minutes. Ensuite, 50µL d'éosine à 0.2% ont été ajoutés aux protoscolex, puis examiné sous un microscope optique aux grossissement (Gx10) et (Gx40). Le pourcentage de protoscolex morts a été déterminé selon la formule décrite dans le test de viabilité . Des protoscolex non traités incubés dans les mêmes conditions ont été considérés comme groupe témoin dans chaque expérience.

III.7. Etude de l'activité antioxydante du chitosane

L'activité antioxydante du chitosane a été évalué par le test de piégeage des radicaux libres (DPPH*).

III.7.1. Préparation de la solution du chitosane

La poudre du chitosane sera solubilisée (préparation d'une solution mère) en dissolvant 0.05 g de chitosane dans 50 mL d'une solution aqueuse d'acide acétique à 1.0% (poids / volume), sous agitation constante pendant 1 à 4 heures et à température ambiante.

A partir de la solution mère, plusieurs solutions filles seront préparées en prélevant plusieurs volumes (0.25, 0.50, 0.75 et 1.0 mL) qui seront complétés jusqu'à 1mL d'acide acétique 1%.

III.7.2. Test de capacité de piégeage des radicaux DPPH

L'effet de piégeage du chitosane sur le radical DPPH sera examiné en utilisant méthode décrite par (Shimada et al. 1992) .

Chaque échantillon du chitosane a été mélangé avec 1 mL d'une solution éthanolique contenant des radicaux DPPH. D'abord le mélange a été agité vigoureusement et laissé incubé pendant 30 minutes dans l'obscurité. Après addition de la solution éthanolique DPPH (fraîchement préparé) pendant 30 min. Puis une dissipation de la couleur violette a été observée et pratiquement tous les extraits. L'absorbance a été ensuite mesurée à 517 nm par rapport à un blanc . L'activité de piégeage des radicaux DPPH, a été calculée comme suit :

$$\text{L'activité de piégeage des radicaux de DPPH (\%)} = \frac{DO_{Blanc} - DO_{echanti}}{DO_{Blanc}} * 100$$

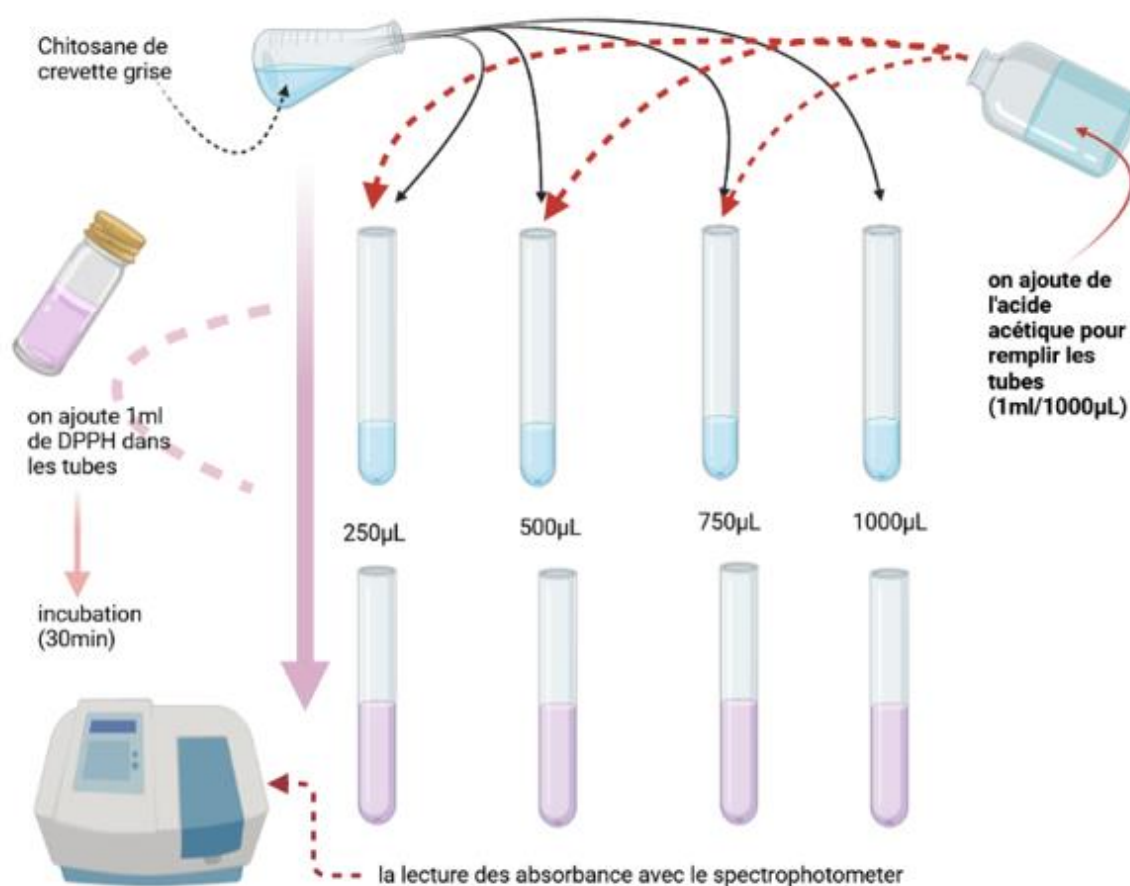


Figure 16 : Evaluation de l'activité antioxydante du chitosane de crevette grise et chitosane comercial.(Original)

III.8. l'activité antibactérienne du chitosane

L'activité antimicrobienne du chitosane (crevette et comercial) a été étudiée en utilisant la méthode de diffusion en puits (AWDT). Pour cela deux milieux ont été utilisés, un milieu nutritif (LB) et le milieu Muller Hinton. L'activité antibactérienne du chitosane est estimée en termes de diamètre de la zone d'inhibition autour des puits contenant le chitosane à tester vis-à-vis de quatre souches bactériennes pathogènes.

III.8. 1. Méthode de diffusion en puits

La méthode de diffusion est très utilisée en microbiologie. Elle repose sur la diffusion du composé antimicrobien à tester en milieu semi solide. L'effet du produit antimicrobien sur la cible est apprécié par la mesure d'une zone d'inhibition, et en fonction du diamètre d'inhibition. La souche du microorganisme a été qualifiée de sensible, d'intermédiaire ou de résistante. Dans

la technique de diffusion, il y a compétition entre la croissance du microorganisme et la diffusion du produit à tester (Shi, J et al ., 2015).

Dans cette méthode , nou avons proceder à l'écoulement du milieu Hinton semi solide dans les boites de Pétri. Après solidification nous avons étalé les souches bactériennes puis laissées reposer pendant 5 min, on réalise 4 puits d'un diamètre de 6 mm pour chaque boite de Pétri réalisés à l'aide d'un emporte pièce stérile (chaque test est réalisé en triplicate). Un volume de solution de chitosane comercial et chitosane de carapaces de crevettes grises (50 μ L) est mise dans 4 puits périphériques. Un puit de 50 μ L d'eau physiologique a été réalisé comme un témoin négatif et un antibiotique 'AMIKACIN®' comme témoin positif. Les boites de Pétri sont incubées à 37° C pendant 18 à 24 h.

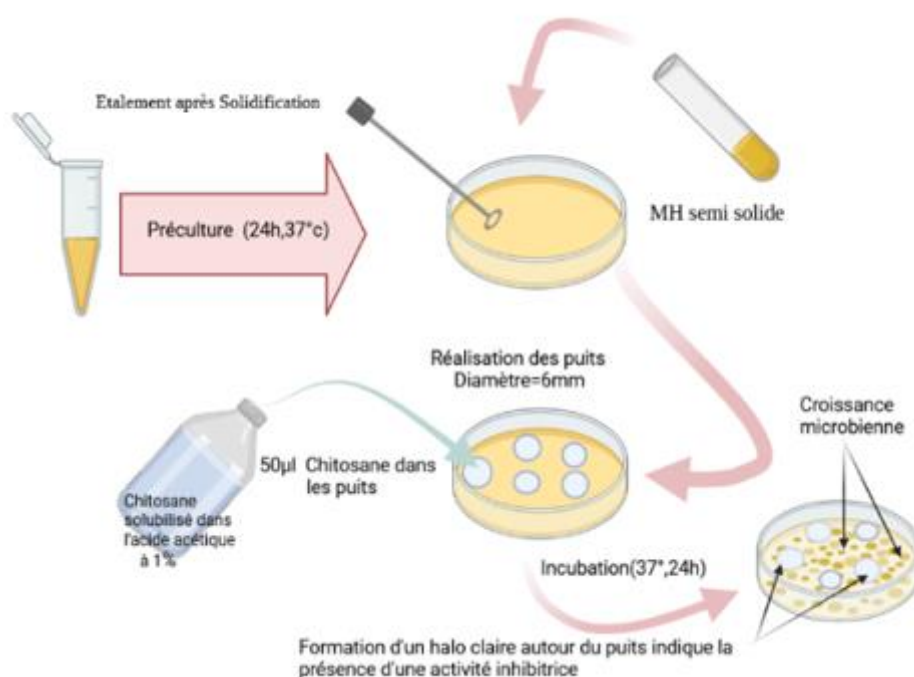


Figure 17 : Evaluation de l'activité antimicrobienne du chitosane de crevette grise et comercial par la méthode de diffusion en puits.(Original)

A decorative graphic of a scroll with a green border and grey circular accents at the corners. The text is centered within the scroll.

Chapitre IV: Résultats et Discussion

Chapitre IV : Résultats et discussion

IV .1.Test de solubilité

L'intérêt porté à la solubilité du chitosane est justifié par la nécessité de dissoudre la substance afin de prendre connaissance de ces domaines d'application. Les résultats montrés que le chitosane commercial de crabe et chitosane carapace de crevette grise est insoluble dans l'eau et NaOH et soluble dans l'acide acétique.

Le tableau regroupe les solutions de la solubilité du chitosane commercial de crabe et le chitosane de carapace de crevette grise.

Tableau 04 : Résultats de test de solubilité du chitosane de carapace et commercial.

Solution	Chitosane de carapace de crevette grise	Chitosane commercial de crabe
Acide acétique	Soluble	Soluble
Eau	Insoluble	Insoluble
NaOH	Insoluble	Insoluble

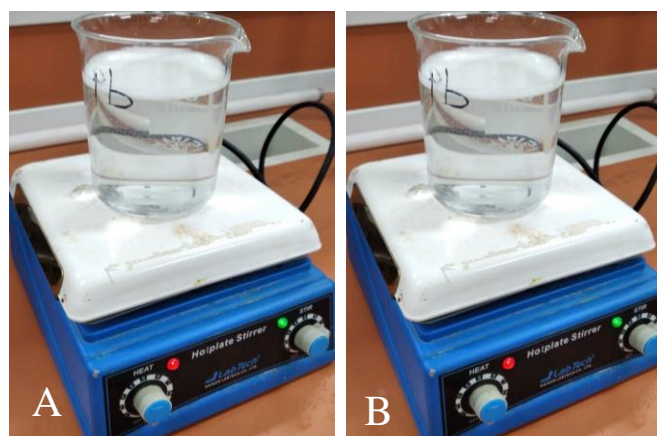


Figure 18 : La solubilité du chitosane dans l'acide acétique à 1 % (A) chitosane carapace de crevette grise (B) chitosane commercial de crabe.(Original)

Le chitosane est insoluble dans l'eau distillée et dans les solvants alcalins concentrés ou dilués (Y.W.Ch., et al., 2000). Cette insolubilité s'explique par la grande masse moléculaire de chacune des chaînes de polymères et aussi par la formation de liaisons hydrogènes entre les différents groupes fonctionnels portés par chacune des unités, par contre il est soluble en milieu aqueux acide grâce à la protonation de ses fonctions amines, son meilleur solvant est l'acide acétique.

IV.2 Détermination de degré de désacétylation DDA du chitosane

IV.2.1. Degré de désacétylation par dosage pH-métrique

La courbe de Figure N° 19 présente deux points d'inflexion. Le premier point d'inflexion correspond au volume de soude pour neutraliser l'acide HCl en excès (V1) et le second à la neutralisation de l'acidité totale du milieu (V2). La différence de volume de NaOH entre ces deux points ($V2 - V1$) correspond à la quantité de NaOH nécessaire à la neutralisation des fonctions ammonium du chitosane.

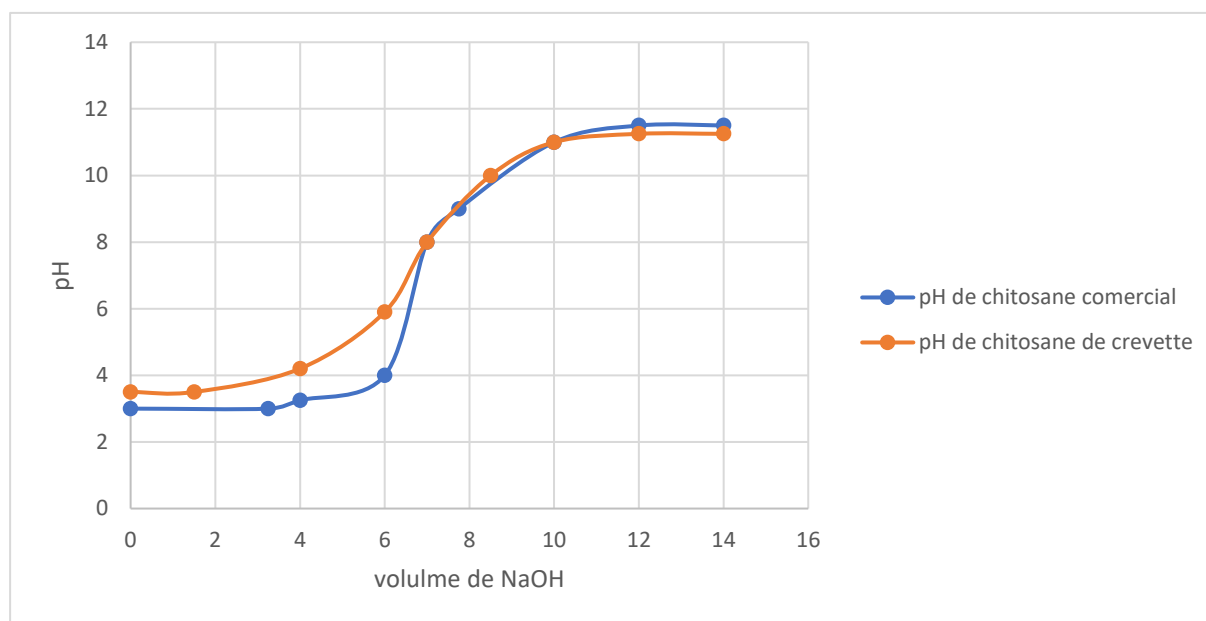


Figure19: Dosage pH- métrique du chitosane de crevette grise et du chitosane comercial.

Le tableau 05 présente les deux points d'inflexion et les DDA du chitosane de carapace de crevette grise et comercial.

Les résultats ont montré un degré de désacétylation de 80.64% et de 53.78% pour le chitosane comercial de crabe et le chitosane de carapace de crevette grise, respectivement. Il apparait que le chitosane comercial présente un DDA supérieur à celui du chitosane de la crevette grise.

Tableau 05: Le degré de désacétylation du chitosane de carapace de crevette grise et chitosane comercial de crabe .

	m (g)	V1 $\times 10^{-3}$	V2 $\times 10^{-3}$	DDA (%)
Chitosane de crevette grise	0.150	3.25	7.75	53.78
Chitosane comercial	0.150	1.5	8.5	80.64

Nos résultats coroborent ceux de (**KADOUCHE S, 2013**), qui a pu optimiser les conditions d'obtention du chitosane, les conditions de désacétylation chimique dites "douces" était de 40% en NaOH à T 200 °C et 350 °C, Il a obtenu des chitosanes avec des PM relativement élevés Comparé au chitosane comercial dont le poids moléculaire ne dépassait pas 450 KDA. Le degré de déacétylation du chitosane varie entre 56 et 99% avec une moyenne de 80% selon la source du chitosane (les espèces de crustacés) et des méthodes de préparation.

IV. 3.Test de fertilité des kystes hydatiques

Les kystes recueillis au niveau de l'abattoir de ma mère haja fatima ont été examinés sous microscope optique (Gx10) au niveau de laboratoire de la recherche de faculté SNVST- Bouira, les résultats montrent la présence de protoscolex dans le liquide hydatique donc les kystes sont considérés comme fertiles.

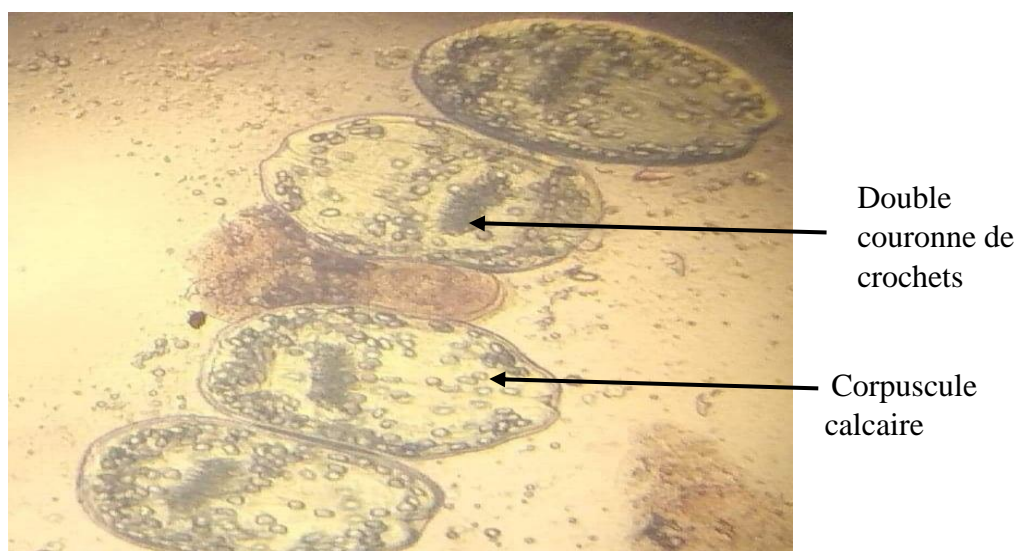


Figure 20: Les examens microscopique d'un protoscolex de kyste hydatique fertile à l'objectif (G x10).(Original)

la fertilité du kyste a été déterminée en considérant la présence de protoscolex dans le kyste. Le kyste qui ne contenait aucun protoscolex est considéré comme un kyste non fertile (**Dalimi et al.,2001 ; Zeghir-Bouteldja et al., 2009**).

IV. 4.Test de viabilité des protoscolex

Selon l'étude de **Blibek, 2009**, l'éosine à 0.2% a la propriété de se diffuser à travers la membrane du protoscolex mort qui devient ainsi coloré en rose (figure 21). Par contre, lorsque le protoscolex est vivant, sa membrane est imperméable au colorant et apparaît réfringente au microscope photonique. De même, les protoscolex vivants sont mobiles et présentent une

intégrité et une régularité de la structure membranaire et de la double couronne de crochets par rapport au protoscolex morts qui sont immobilisés et montrent une altération de la double couronne de crochets et une irrégularité de la membrane (Zeghir-Bouteldja et al., 2009 ; Amri et al., 2015).

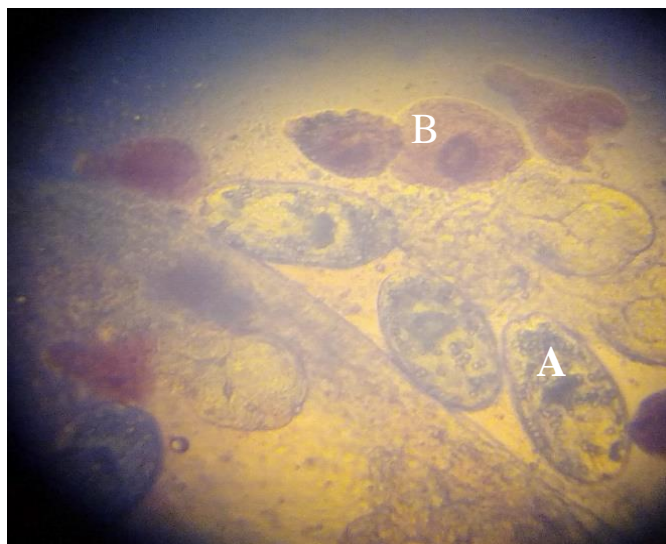


Figure 21: Les examens microscopiques des protoscolex vivant (A), Protoscolex morts (B) (Gx10).(Original)

IV. 5. Evaluation de l'effet scolicide du chitosane (carapace de crevette grise et comercial de crabe)

L'activité scolicide du chitosane de carapace de crevette grise et du chitosane comercial de crabe à différentes concentrations (50, 100, 200, 400, 800 $\mu\text{g}/\text{mL}$) après 10, 30, 60 et 120 min de temps d'exposition par rapport au groupe témoin sont présentés dans les tableaux suivants : L'effet scolicide du chitosane a été observé à une concentration de après incubation pendant se traduisant par des changements morphologiques des protoscolex caractérisés par :

Tableau 06 : Effet scolicide de différentes concentrations du chitosane comercial sur le taux de mortalité des protoscolex de kyste hydatique à divers temps d'exposition.

Concentration ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	Mortalité des protoscoleces (%)			
	10 min	30min	60 min	120min
Contrôle	3.44	5.36	9	14
50	75	80	82.55	84 .65
100	77	81	84	86
200	79	84 .88	86	88
400	82	93	97	100
800	91	97	100	100

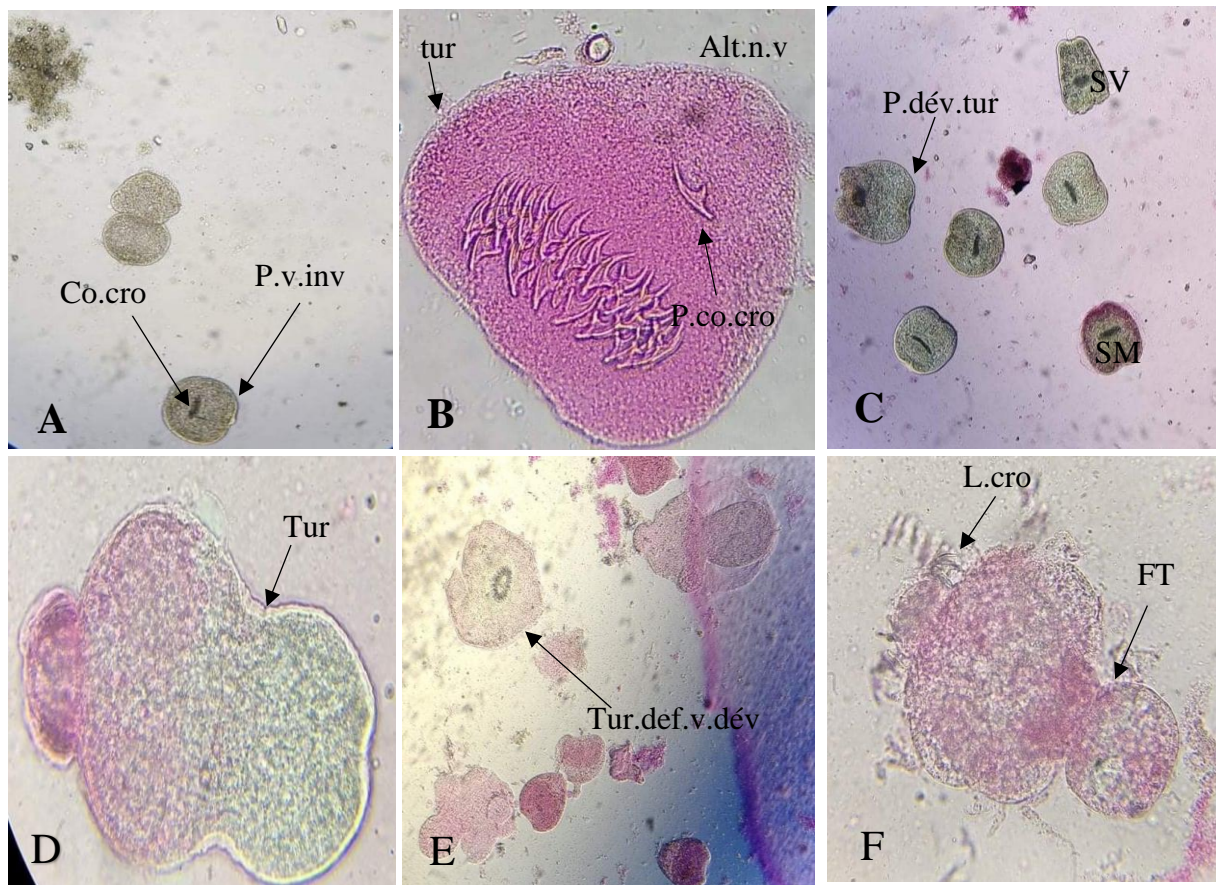


Figure 22: Aspects morphologiques des protoscolex en présence du chitosane comercial de crabe à des concentration déffirentes (Gx 10) et (Gx 40).(Original)

A .Témoin : protoscolex vivants forme invaginé (P.v.inv) , présence double couronne de crochets (Co.cro).

B . 50 µg/ mL: Altération au niveau des venteuse (Alt.n.v) , turgescence (tur) , perturbation de la couroune de crochets (P.co. cro).

C.100 µg / mL : Présence de scolex morts (Sm) et vivans (Sv), protoscolex dévaginée turgescent (P.dév.tur) .

D. 200 µg /mL : protoscolex dévaginée turgescent (Tur).

E.400 µg/mL : Turgescence avec déformation des ventouses par la forme dévaginées (Tur.def.v.dév).

F. 800µg/ml : Turgescence avec déformation des ventouses par la forme dévaginées, Rétraction de la région caudale,caudale dans certaines parasites ,Libération des crochets (L.Cro) , Détachement de ventouse , Déformation (ventouses) ,flétrissement (FT) .

Tableau 07 : Effet scolicide de différentes concentrations du chitosane de carapace de crevette grise sur le taux de mortalité.

Concentration (µg/mL)	Mortalité des protoscolex (%)			
	10 min	30min	60 min	120min
Contrôle	5.59	9.51	12.38	16.51
50	48	52	56	58
100	51	54	57	60
200	55	58	64	68
400	71	75	78	81
800	85	87	91	95

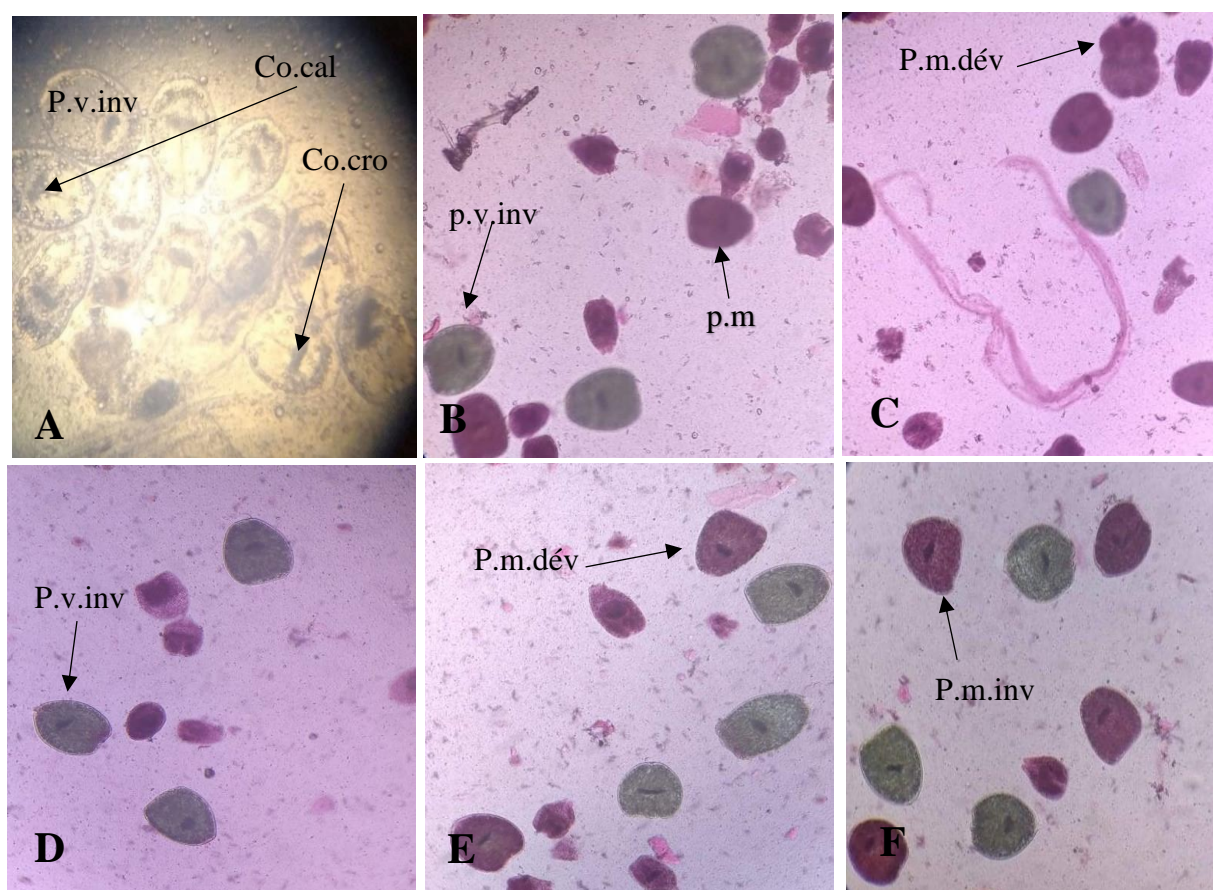


Figure 23: Aspects morphologiques des protoscolex en présence du chitosane de carapace de crevette grise à des concentration déffirents (Gx 10).(Original)

A.Témoin : Protoscolex vivant invaginé (P.v.inv) présence des Corpuscule calcaire (Co.cal) et double couronne de crochets (co.cro).

B.50 µg/mL :Présence de scolex morts (p.m) et vivans forme invaginé (p.m. inv).

C.100 µg/mL : protoscolex morte forme dévaginée turgescent (P.m.dév).

D.200 µg/mL : protoscolex vivants forme invaginé (P.v.inv).

E.400 µg/mL :protoscolex morts forme dévaginé (P.m.dév).

F.800 µg/mL : protoscolex morts forme dévaginé (P.m.dév).

IV.5.1.Aspects morphologiques des Membrane proligère d'un Kyste de foie en présence de chitosane

L'effet du chitosane a été observé à une concentration de après incubation pendant se traduisant par des changements morphologiques des parois kystiques Membrane proligère d'un Kyste de foie en présence de déffirentes concentration (Gx 10) caractérisés par :

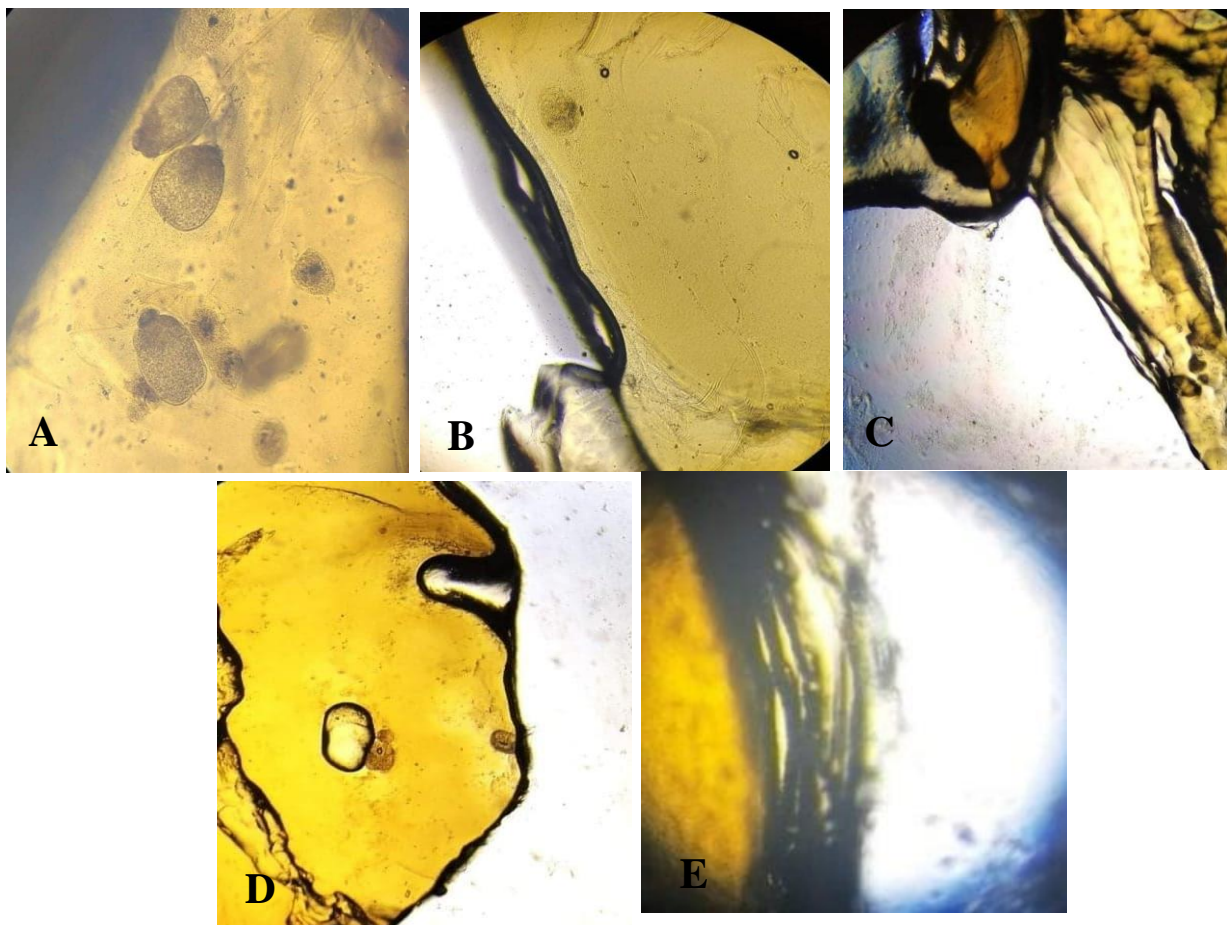


Figure 24 : Aspects morphologiques des membranes proligères d'un Kyste de foie en présence du chitosane aux déffirentes concentration (Gx 10). **(Original)**

A.50 µg/mL : Début de détachement de la membrane dans quelque zone.

B.100 µg/mL : Perturbation de l'aspect lamellaire de la couche laminaire (laminated layer).

C.200 µg/ml : Modification de la structure laminaire .

D.400 µg/mL : détachement de la membrane .

E.800 µg/mL: modification de la morphologie de la membrane.

Les résultats obtenus ont démontré que toutes les concentrations utilisées du chitosane avaient un effet scolicide significatif comparé au groupe témoin. En effet , à une concentration de 400 µg/mL de l'extrait a entraîné un taux de mortalité de 100 % après 60 min d'exposition. De plus, des résultats similaires ont été observés après 120 min d'exposition à 800 µg/mL pour le chitosane commercial de crabe. la concentration la plus faible 50 µg/ml provoquait un effet protoscolicidal moyen , cette concentration a induit la mort de 75% , 80 % de protoscolex après 10 ; 30 min d'incubation , respectivement. par contre le chitosane de carapace de crevette grise a démontré un taux de mortalité 95 % après 120 min d'exposition.

Les protoscolex morts montrent une diffusion de l'éosine avec une irrégularité du tegument et une altération de la double couronne de crochet conduisant à l'altération de la morphologie des protoscolex.

Par ailleurs, **Rahimi et al., (2013)** a montré pour la première fois que le chitosane fongique est utilisé comme un agent antiparasitaire à différentes concentrations (50, 100, 200, 400 µg / mL) après 10, 30, 60 et 180 min d'exposition. Les résultats ont montré un effet scolicide du chitosane par rapport aux groupes témoins. Le taux de mortalité maximal (100%) était atteint à une concentration de 400 µg / mL après 180 min de temps d'exposition. Des travaux parallèles ont montré que le chitosane à la concentration la plus élevée (1250 µg / mL) et le temps d'exposition (360 min) pourrait arrêter la viabilité de *Trichomonas gallinae* complètement.

IV.6. Etude de l'activité antioxydante

L'activité antioxydante exprime l'aptitude d'une molécule donnée à réduire les radicaux libres.

Les résultats du pouvoir antiradicalaire de chitosane de carapace de crevette grise et de chitosane commercial exprimés en pourcentage sont illustrés dans le tableau N° 08 et la figure N° 25 :

D'après la figure N° 25 et tableau N° 08, Nous remarquons que l'acide Ascorbique avait une activité antioxydante la plus élevée dès la concentration de 0.25 mg/mL et il a demeuré constant

jusqu'à 1 mg/mL. Le chitosane de carapace de crevette grise a montré une activité un peu élevée par rapport au chitosane comercial de crabe de début jusqu'à la concentration de 0.25 mg/mL, puis on a constaté une petite augmentation de l'activité du chitosane comercial de crabe par rapport au chitosane de carapace de crevette grise.

Les résultats obtenus indiquent que les concentrations du chitosane de carapace de crevette grise et le chitosane comercial de crabe ont un pouvoir antioxydant d'une valeur de 57.52% et de 64.81 % respectivement. Ces valeurs sont plus faibles que celle de l'acide ascorbique (88.99 %) pour une concentration de 1mg/mL.

De plus, la valeur de la concentration inhibitrice semi-maximale (IC_{50}) de chitosane comercial est de 0.38 mg /mL et le chitosane du crevette grise enregistre une valeur de l' IC_{50} de 0.34 mg/mL.

Tableau 08: le pouvoir antiradicalaire des extraits du chitosane étudiées exprimés en pourcentage.

Chitosane	Pouvoir antiradicalaire (%)
Chitosane comercial	64.81 \pm 4
Chitosane de crevette gris	57.52 \pm 1.8
Acide ascorbique	88.99 \pm 0.25

IV.6.1. Effet de la concentration sur le radical DPPH

Dans la présente étude, la capacité de piégeage des radicaux DPPH des deux types de chitosane étudiée, à différentes concentrations (0.25 à 1mg /mL). Comme la montre la figure N° 25, les deux types du chitosane ont montré une activité antioxydante notable contre le DPPH de manière indépendante des différentes concentrations.

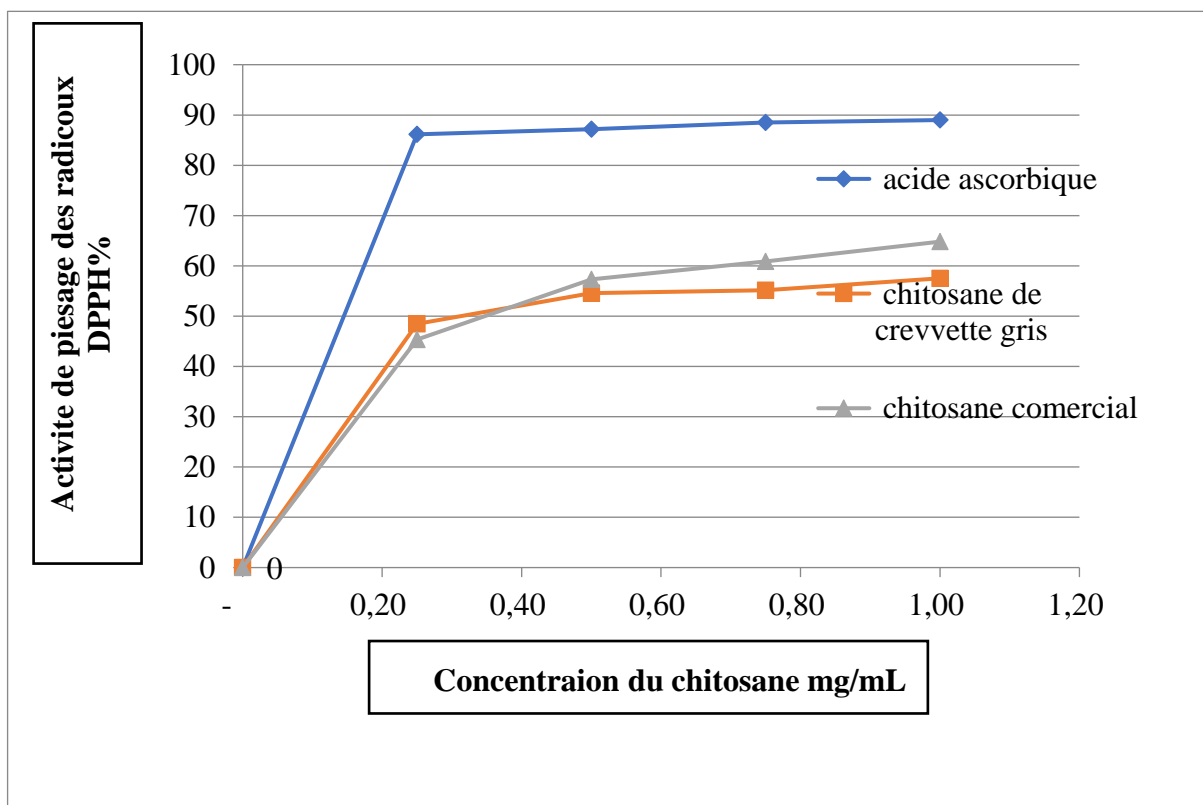


Figure 25: Capacité d'élimination des radicaux DPPH par la solution du chitosane.

Ces valeurs sont inférieures à celles rapportées par (M. Hamdi *et al.*, 2017) qui a indiqué une valeur de 1.76 mg/ml du chitosane du crabe bleu de même pour celle enregistrée pour des chitosane extraits de crabe de boue *Scylla olivacea* (11.37 mg/mL) (Sarbon *et al.*, 2015).

IV.7.L'activité antibactérienne du chitosane

IV.7.1. Diffusion sur agar semi-solide par méthode des puits AWDT

Les résultats sur les propriétés antibactériennes dans ce test, présenté dans le Tableau 09 ont montré que les bactéries à Gram positif ont été plus sensibles que celles à Gram négatif vis-à-vis de l'action du chitosane. Toutefois, le chitosane de carapace de crevette grise possède une activité inhibitrice sur la souche *Escherichia coli* (Gram-) marquée par un diamètre d'inhibition important de l'ordre de 19 mm, mais le chitosane comercial de crabe et chitosane de carapace de crevette grise n'avait montré aucune activité inhibitrice sur la souche SRAM dans les deux milieux. Les résultats obtenus sont reportés dans le tableau 09 et illustrés par la figure 26.

Tableau 09 : Le pouvoir antimicrobien du chitosane de carapace de la grevette grise et le chitosane comercial de crabe contre des souches pathogènes testées sur des milieux LB et MH et leur diamètre d'inhibition (en mm).

	HM		LB	
Les souches pathogènes	Chitosane de crevette grise	Chitosane comercial	Chitosane de crevette grise	Chitosane comercial
Escherichia coli	10±0.3	15±0.1	15±0.1	15±0.3
Staphylococcus aureus	15±0.1	15±0.3	14±0.1	10±0.1
Bacillus cereus	10±0.4	0±0.00	15±0.5	9±0.2
SARM	0±0.00	0±0.00	0±0.00	0±0.00

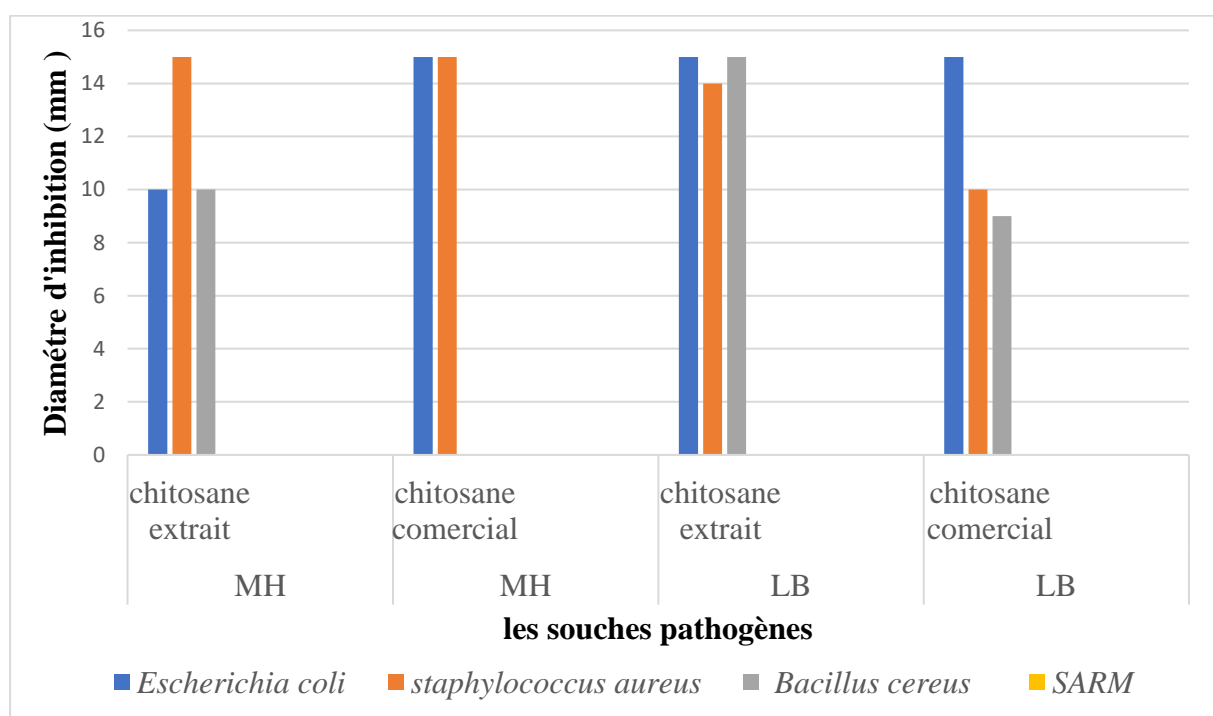


Figure 26 : L'activité antibactérienne du chitosane (diamètre d'inhibition) contre les souches pathogènes testées sur les milieux MH et LB.

Ces résultats sont en accord avec les travaux menés par (Hamdi et al ,2017) sur le chitosane du crabe bleu, ce dernier était efficace contre la souche *staphylococcus aureus* démontré par un diamètre de zone d'inhibition apparu dans la gamme de 15mm.

Dans l'ensemble des résultats obtenus, il ressort que :

- l'activité antibactérienne du chitosane de carapace de la crevette grise meilleure resultats dans le milieu LB par rapport au milieu MH.
- *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus* (figure 27) sont les souches les plus sensibles vis-à-vis du chitosane (activité antibactérienne forte sur les deux milieu LB ,MH).

- SRAM aucune activité antimicrobienne (figure 27).

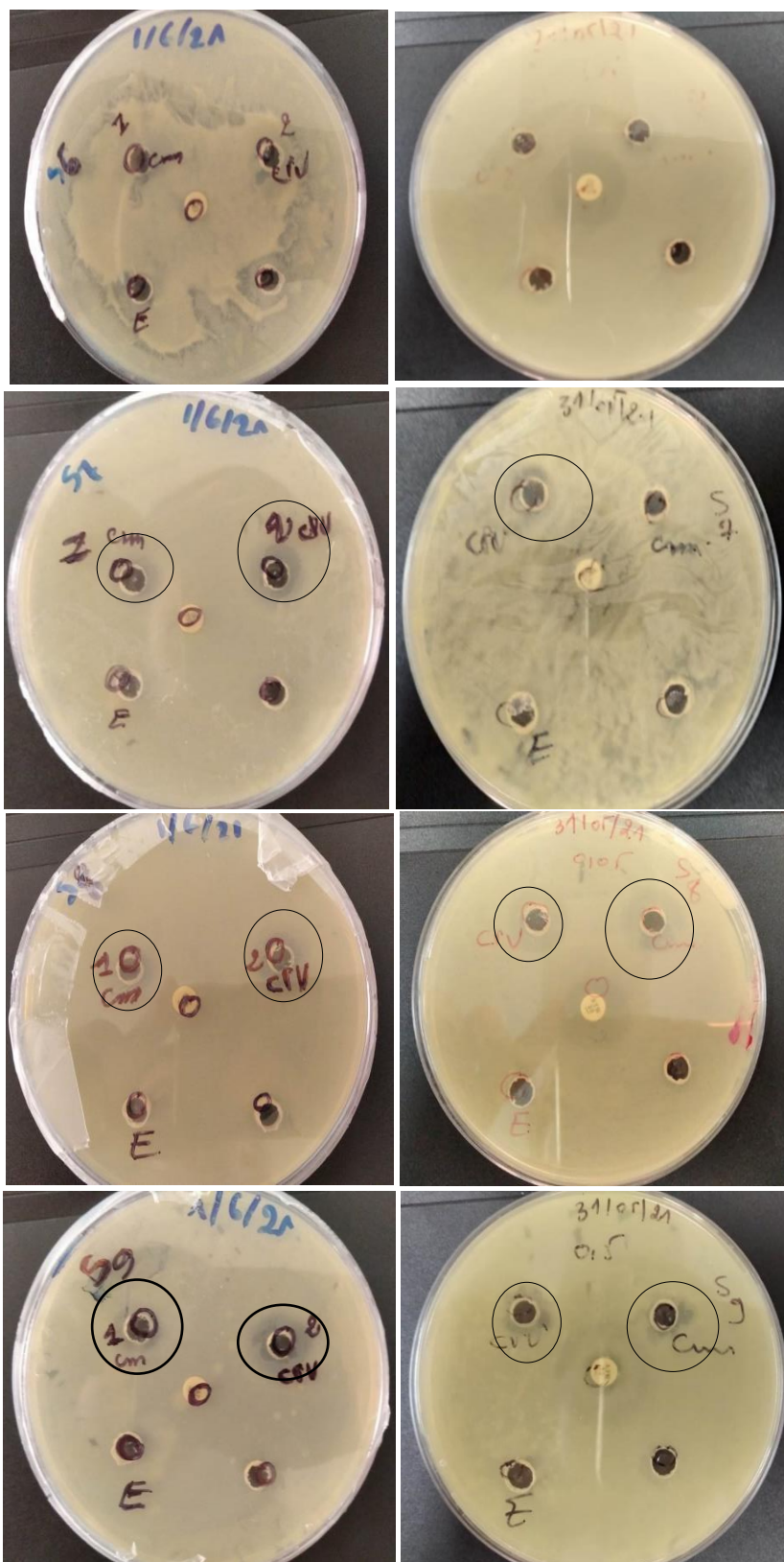


Figure 27 : L'activité antibactérienne du chitosane par la méthode des puits. S6 : *SARM* (G+), S7 : *Bacillus cereus* (G+), S8 : *staphylococcus aureus* (G+), S9 : *Escherichia coli* (G -), à la droite milieu HM la gauche milieu LB. **(Original)**

Le mécanisme d'action du chitosane contre les bactéries est jusqu'à aujourd'hui mal connu. Cependant, plusieurs chercheurs suggèrent que la formation de liaisons électrostatiques entre les charges positives du chitosane et les phospholipides de la membrane cellulaire qui ont une charge négative, perturbant ainsi les échanges entre la cellule microbienne et le milieu extérieur (Liu X. F. et al., 2001 ; Devlieghere et al., 2004 ; Peng Y. et al., 2005).

La présence du chitosane peut probablement entraîner des déformations morphologiques au niveau de la paroi cellulaire (Laflamme et al., 1999 ; Roller et Covill, 1999 ; Helander et al., 2001).

L'inhibition peut aussi être due à l'enrobage des cellules microbiennes par le chitosane, éliminant ainsi tout échange avec le milieu extérieur (Muzzarelli R. A. A. et al., 2001). L'action du chitosane peut aussi se faire par formation de liaison avec les protéines et les électrolytes présents dans le cytoplasme (Laflamme et al., 1999 ;). Formation des liaisons entre le chitosane et l'ADN des bactéries et l'inhibition de la synthèse des ARN messenger (Liu X. F. et al., 2001 ;Devlieghere et al., 2004).

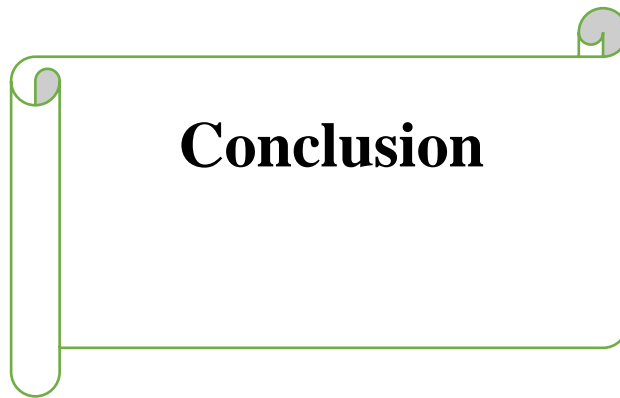
Le chitosane peut aussi agir de façon indirecte sur les bactéries et les moisissures, et cela par complexation des métaux nécessaires pour leur croissance (Roller et Covill, 1999). Le chitosane a été étudié en termes de composés bactériostatique/bactéricide pour contrôler la croissance d'un large spectre de bactéries à Gram positif et à Gram négatif. par exemple :

Le Tableau 10 : montre les concentrations minimales inhibitrices de quelques bactéries par le chitosane (Liu X. F. et al., 2001).

Bactéries	CMI (ppm)
<i>Bacillus cereus</i>	1000
<i>Agrobacterium tumefaciens</i>	100
<i>Pseudomonas</i>	500
<i>Escherchia coli</i>	20
<i>Micrococcus luteus</i>	20
<i>Staphylococcus aureus</i>	20

En générale, l'action du chitosane sur les bactéries à Gram négatif est moins importante que celle sur les bactéries à Gram positif. Ce résultat est probablement dû à des différences dans la structure de l'enveloppe cellulaire (Li Y. et al., 2007 ; Zhong et al., 2008). La paroi cellulaire des bactéries Gram-négatif est constituée d'une fine couche de peptidoglycane et d'une

membrane externe composée de lipopolysaccharides, de lipoprotéines et de phospholipides. Cependant, la paroi cellulaire des bactéries Gram-positif est seulement composée d'une épaisse couche de peptidoglycane sans membrane externe . En raison de cette structure, la membrane externe fonctionne comme une barrière imperméable contre les macromolécules et les substances hydrophobes. Elle pourrait être responsable de la prévention de la pénétration du chitosane dans la cellule, expliquant ainsi l'activité antibactérienne plus faible sur les bactéries Gram-négatif que sur les bactéries Gram-positif (**Coma et al., 2003**).



Conclusion

Conclusion

Au cours de ce projet de fin d'étude, notre intérêt portait sur l'études comparative de quelques activités biologiques du chitosane extrait de produits aquacoles et de chitosane comercial. Nos objectifs fondamentaux visés ont été achevés: le premier était la détermination des différentes étapes d'extraction de la chitine et du chitosane à partir des produits aquacole de crevette grise par la méthode chimique.

Notre étude a été porté, aussi sur l'étude des caractéristiques physico-chimiques de degré de désacétylation du chitosane de crevette grise (53.78%) qui indiquent que le chitosane obtenu est de pureté faible si on la compare au chitosane comercial où le degré de déacétylation (DDA) est 80.64%. La solubilité des deux types du chitosanes est liée au degré de déacétylation (DDA) lorsque le DAA est peu élève ,le chitosane est peu soluble, cette différence nous permet de déduire que le DAA du chitosane comercial est plus élève que celui du chitosane de carapace de crevette grise. Ainsi que l'étude de l'activité antiparasitaire du chitosane sur le métacestode *d'Echinococcus granulosus* le protoscolex était plus sensible au chitosane comercial de crabe que chitosane de carapace de crevette grise. Le chitosane comercial avec DDA 80.64% a montré le taux de mortalité plus élevé par rapport au chitosane de carapace de crevette grise avec DDA 53.78% .

Le deuxième objectif est l'étude de l'activité antibactérienne du chitosane par la méthode de diffusion en puits, les résultats ont montré que les bactéries à Gram positif ont été plus sensibles que celles à Gram négatif vis-à-vis de l'action du chitosane. Le chitosane de carapace a marqué un diamètre d'inhibition important sur la souche *Staphylococcus aureus* dans le milieu LB par rapport au milieu MH.

Pour déterminé l'activité antioxydant de chitosane, nous avons établi un ensemble des tests en fonction des concentrations croissantes en comparant avec acide ascorbique. Les résultats obtenus a permet de conclure que le chitosane comercial de crabe et chitosane extrait de crevette grise ont des activités antioxydants presque identique mais reste faible devant l'activité de l'acide ascorbique.

L'ensemble de ces résultats montrent l'intérêt du chitosane, celui-ci présente un pouvoir antimicrobien, et antioxydant assez attirant. A cet effet nous préconisons d'extraire ; de caractériser et d'exploiter les propriétés du chitosane de crevette grise , en tant que polymère doté de propriétés antimicrobien1 nes et antiparasitaire ainsi que antioxydants.

Quelques recommandations intéressantes pour compléter le présent travail sont proposées ci-après:

- Amélioration du produit de l'extraction chimique du chitosane.
- Il est souhaité de poursuivre cette étude en s'intéressant à la production du chitosane par désacétylation à température ambiante de la carapace déminéralisée .
- Les futures recherches devraient donc associer sur les autres études des activités du chitosane.
- De valoriser les déchets pour obtenir de nouvelles molécules impliquées dans la lutte contre la parasitose.



Liste des Références

References bibliographiques

- Akkas, Y., Kaplan, T., Peri, N. G., & Kocer, B. (2016).** Do the hydatid cysts have unusual localization and dissemination ways in the chest cavity?. *Case reports in surgery*, 2016.
- Aliane A. Atilous M.(2017).** Kyste hydatique de foie. Thèse de doctorat en médecine générale. Université de Bejaia. 155pp.
- Aljawish, A. (2013).** *Fonctionnalisation enzymatique de chitosane par des composés phénoliques*: évaluation des propriétés biologiques et physico-chimiques de ces nouveaux biopolymères (Doctoral dissertation, Université de Lorraine).
- Aliane, A., & Atilous, M. (2016).** Kyste hydatique du foie. *Etude rétrospective d'une cohorte de patients traités au service de Chirurgie Générale du CHU de Béjaia Mémoire de fin d'étude*, 2017.
- Al Sagheer, F. A., Al-Sughayer, M. A., Muslim, S., & Elsabee, M. Z. (2009).** Extraction and characterization of chitin and chitosan from marine sources in Arabian Gulf. *Carbohydrate polymers*, 77(2), 410-419.
- Amri, M., & Touil-Boukoffa, C. (2015).** A protective effect of the laminated layer on *Echinococcus granulosus* survival dependent on upregulation of host arginase. *Acta tropica*, 149, 186-194.
- Anas H.(2018).** Kyste hydatique de pancreas apropose de 2 cas . Thèse pour obtention du Doctorat en medcine, Universite mohammed 5 –Rabat , 172pp
- Angulo, J. C., Sanchez-Chapado, M., Diego, A., Escribano, J., Tamayo, J. C., & Martin, L. (1997).** Renal *echinococcosis*: clinical study of 34 cases. *The Journal of urology*, 157(3), 787-794.
- Anofel.** Parasitologie, Mycologie. Association Française des Enseignants de Parasitologie, Edition CR Format Utile, 1996/97.
- Arbia, L. (2010).** Contribution à l'étude de la déminéralisation et la déprotéinisation de la carapace de la crevette par voie fermentaire (Doctoral dissertation, univ-bouira. dz; Université Bouira; univ bouira).
- Ahmad, A. L., Sumathi, S., & Hameed, B. H. (2005).** Adsorption of residue oil from palm oil mill effluent using powder and flake chitosan: equilibrium and kinetic studies. *Water research*, 39(12), 2483-2494.
- Belamalem, S., Khadmaoui, A., Hami, H., Harrak, M., Aujjar, N., & Soulaymani, A. (2014).** Épidémiologie de l'hydatidose dans la Région du Gharb (Chrarda Beni Hssen) Maroc. *Antropo*, (31), 33-37.

- Berqdiche Y.(2011).** Kyste hydatique intra-cranien (A propos de 19 cas). These pour obtention du Doctorat en medcine. Universite Sidi Mohammed ben Abdellah .129p
- Bhatia G. (1997) .** Echinococcus. Semin. Respir. Infect. 12 :86-171.
- Blibek, K. (2009).** *Etude de la modulation de la NO synthase 2 par l'extrait de pépins de raisin, au cours de l'hydatidose humaine: Impact sur la production du monoxyde d'azote (NO)* (Doctoral dissertation, USTHB, Alger, Algérie).
- Boujemaa R. (2018).** Le kyste hydatique chez l'enfant : localisations rares Expérience du service de chirurgie pédiatrique CHU Mohammed VI de Marrakech. These pour obtention du Doctorat en medcine .Université Cadi Ayyad .154 pp
- Bourée, P., & Heiderijk, P. (1991).** Les échinococcoses. *Rev. Fr. Lab*, 228, 19.
- Bourée, P., & Bisaro, F. (2007).** Hydatidose: aspects épidémiologique et diagnostique. *Antibiotiques*, 9(4), 237-245.
- Bousofara, M., Sallem, M. R., & Raucoules-Aimé, M. (2005).** Anesthésie pour chirurgie du kyste hydatique du foie. *EMC-Anesthesie-Reanimation*, 2(2), 132-140.
- Bostan, K., & Mahan, F. (2011).** Microbiological quality and shelf-life of sausage treated with chitosan. *J. Fac. Vet. Med. Istanbul Univ*, 37(2), 117-126.
- Brunetti, E., Kern, P., & Vuitton, D. A. (2010).** Expert consensus for the diagnosis and treatment of cystic and *alveolar echinococcosis* in humans. *Acta tropica*, 114(1), 1-16.
- Brunetti, E., Kern, P., & Vuitton, D. A. (2010).** Expert consensus for the diagnosis and treatment of cystic and alveolar echinococcosis in humans. *Acta tropica*, 114(1), 1-16.
- Bellili, Kenza et Bendou, Ghania.** *Recherche du kyste hydatique sur les ovins, les bovins et les caprins dans les quelques abattoirs de la région de Tizi-Ouzou.* 2018. Thèse de doctorat. Université Mouloud Mammeri
- Carmoi T, Farthouat P, Nicolas X, Debonne J.-M., Klotz F. (2008).** Kystes hydatiques du foie EMC (Elsevier Masson SAS, Paris), Hépatologie, 7.10-33
- Chaucheyras-Durand, F., Faqir, F., Ameilbonne, A., Rozand, C., & Martin, C. (2010).** Fates of acid-resistant and non-acid-resistant Shiga toxin-producing *Escherichia coli* strains in ruminant digestive contents in the absence and presence of probiotics. *Applied and environmental microbiology*, 76(3), 640-647.
- Coma, V., Deschamps, A., & Martial-Gros, A. (2003).** Bioactive packaging materials from edible chitosan polymer—antimicrobial activity assessment on dairy-related contaminants. *Journal of food science*, 68(9), 2788-2792.

- Crini, G., Guibal, E., Morcellet, M., Torri, G., & Badot, P. M. (2009).** Chitine et chitosane. Préparation, propriétés et principales applications. In *Chitine et chitosane (du biopolymère à l'application)* (pp. 19-54).
- Cuero, R. G. (1999).** Antimicrobial action of exogenous chitosan. *Exs*, 87, 315-333.
- Cimica, V., & Galarza, J. M. (2017).** Adjuvant formulations for virus-like particle (VLP) based vaccines. *Clinical Immunology*, 183, 99-108.
- da Silva, A. M. (2010).** Human *echinococcosis*: a neglected disease. *Gastroenterology Research and Practice*, 2010.
- De Queiroz Antonino, R. S. C. M., Lia Fook, B. R. P., de Oliveira Lima, V. A., de Farias Rached, R. Í., Lima, E. P. N., da Silva Lima, R. J., ... & Lia Fook, M. V. (2017).** Preparation and characterization of chitosan obtained from shells of shrimp (*Litopenaeus vannamei* Boone). *Marine drugs*, 15(5), 141.
- Devlieghere, F., Vermeulen, A., & Debevere, J. (2004).** Chitosan: antimicrobial activity, interactions with food components and applicability as a coating on fruit and vegetables. *Food microbiology*, 21(6), 703-714.
- Díaz, A., Casaravilla, C., Irigoín, F., Lin, G., Previato, J. O., & Ferreira, F. (2011).** Understanding the laminated layer of larval *Echinococcus* I: structure. *Trends in parasitology*, 27(5), 204-213.
- Durand, V., & Vergini, T. (2010).** Le chitosane-un biopolymère d'avenir pour les papiers antimicrobiens. *Cas des emballages alimentaires Mai*.
- Dalimi, R. (2001).** The calculation method and potential of energy saving in energy labeling program for Indonesia. In *Energy Efficiency in Household Appliances and Lighting* (pp. 679-684). Springer, Berlin, Heidelberg.
- Deplazes, P., & Eckert, J. (2001).** Veterinary aspects of alveolar *echinococcosis*—a zoonosis of public health significance. *Veterinary parasitology*, 98(1-3), 65-87.
- Dahmani, K., & Zadi, K. (2019).** *Synthèse, caractérisation et modification du chitosane. Application dans l'élimination du bleu de méthylène par adsorption* (Doctoral dissertation, Université Akli-Mouhand Oulhadje-Bouira).
- Eddeghai, S., Eddoukani, I., Diffaa, A., & Krati, K. (2014).** Hydatid cyst of the liver: report of an exceptional mode of revelation. *The Pan African medical journal*, 18, 158-158.
- Einbu, A., Grasdalen, H., & Vårum, K. M. (2007).** Kinetics of hydrolysis of chitin/chitosan oligomers in concentrated hydrochloric acid. *Carbohydrate research*, 342(8), 1055-1062.
- Euzeby, J. (1966).** Les maladies vermineuses des animaux domestiques et leurs incidences sur la pathologie humaine vol 2-maladies dues aux plathelminthes issue 1. Vigot Freres Editeurs.

- Euzéby, J. (1971).** Les *échinococcoses* animales et leurs relations avec les *échinococcoses* de l'homme (No. V617. 22 EUZe). Paris: Vigot.
- Fei Liu, X., Lin Guan, Y., Zhi Yang, D., Li, Z., & De Yao, K. (2001).** Antibacterial action of chitosan and carboxymethylated chitosan. *Journal of applied polymer science*, 79(7), 1324-1335.
- Felt, O., Furrer, P., Mayer, J. M., Plazonnet, B., Buri, P., & Gurny, R. (1999).** Topical use of chitosan in ophthalmology: tolerance assessment and evaluation of precorneal retention. *International journal of pharmaceutics*, 180(2), 185-193.
- Ferhat, M. (2012).** Co-adsorption des métaux lourds sur la bentonite modifiée en présence de flocculants minéral et biologique (Doctoral dissertation, ummto).
- FAROUK, M., ALAOUI, O. M., & YAHYA, I. B. (2018).** Kyste odontogène calcifié: à propos d'un cas clinique. *Actualités Odonto-Stomatologiques*, (287), 4.
- Fatima, B. (2018).** Préparation de chitosane à partir des carapaces de crevettes: étude et caractérisations
- Garbi, H. A., Hassine, W., Brauner, M. W., & Dupuch, K. D. (1981).** Ultrasound examination of the hydatid liver. *Radiology*, 139(2), 459-463.
- Gregory.E.(2008).** Polycystic Liver Disease.US National Library of Medecine. Vol.4.n°3,p.179-181.
- Gottstein, B., & Reichen, J. (2002).** Hydatid lung disease (echinococcosis/hydatidosis). *Clinics in chest medicine*, 23(2), 397-408.
- Hamdi, M., Hammami, A., Hajji, S., Jridi, M., Nasri, M., & Nasri, R. (2017).** Chitin extraction from blue crab (*Portunus segnis*) and shrimp (*Penaeus kerathurus*) shells using digestive alkaline proteases from *P. segnis* viscera. *International journal of biological macromolecules*, 101, 455-463.
- Helander, I. M., Nurmiäho-Lassila, E. L., Ahvenainen, R., Rhoades, J., & Roller, S. (2001).** Chitosan disrupts the barrier properties of the outer membrane of Gram-negative bacteria. *International journal of food microbiology*, 71(2-3), 235-244.
- Hala, B. S., & Rihab, N. O. U. A. S. R. I. A. (2020).** *L'effet des extraits des plantes médicinales sur la viabilité de la larve hydatique Echinococcus granulosus* (Doctoral dissertation).
- Ito, A., Wandra, T., Sato, M. O., Mamuti, W., Xiao, N., Sako, Y., ... & Craig, P. S. (2006).** Towards the international collaboration for detection, surveillance and control of taeniasis/cysticercosis and echinococcosis in Asia and the Pacific. *Southeast Asian journal of tropical medicine and public health*, 37, 82.

- Juneja, V. K., Thippareddi, H., Bari, L., Inatsu, Y., Kawamoto, S., & Friedman, M. (2006).** Chitosan protects cooked ground beef and turkey against *Clostridium perfringens* spores during chilling. *Journal of food science*, 71(6), M236-M240.
- Kadouche, S. (2013).** *Utilisation des biomatériaux dans le traitement des eaux* (Doctoral dissertation, Université Mouloud Mammeri).
- Kayoueche, F. Z., Benlatreche, C., & Barnouin, J. (2009).** Epidémiologie de l'hydatidose et de la fasciolose chez l'animal et l'homme dans l'Est algérien.
- Kurita, K. (2006).** Chitin and chitosan: functional biopolymers from marine crustaceans. *Marine biotechnology*, 8(3), 203-226.
- Klotz, F., Nicolas, X., Debonne, J. M., Garcia, J. F., & Andreu, J. M. (2000).** Kystes hydatiques du foie. *Encycl Méd Chir*.
- Kittur, F. S., Prashanth, K. H., Sankar, K. U., & Tharanathan, R. N. (2002).** Characterization of chitin, chitosan and their carboxymethyl derivatives by differential scanning calorimetry. *Carbohydrate polymers*, 49(2), 185-193.
- Keddad, K., & Fernane, K. (2018).** *Extraction et application d'un polysaccharide dans l'élimination du naphthalène et électrodéposition* (Doctoral dissertation, UMMTO).
- Laflamme, P., Benhamou, N., Bussièrès, G., & Dessureault, M. (2000).** Differential effect of chitosan on root rot fungal pathogens in forest nurseries. *Canadian Journal of Botany*, 77(10), 1460-1468.
- Laytimi, F. (2011).** Le kyste hydatique du poumon chez l'enfant. Thèse pour l'obtention du diplôme de doctorat en médecine. Université Sidi Mohammed Ben Abdelah Faculté de Médecine et de Pharmacie. n°064/11. p.162.
- Le Roux, K. (2012).** Purification de la chitine par hydrolyse enzymatique à partir de coproduits de crevette *Penaeus vannamei*. Caractérisations des produits et optimisation du procédé (Doctoral dissertation, Université de Nantes).
- Liu, N., Chen, X. G., Park, H. J., Liu, C. G., Liu, C. S., Meng, X. H., & Yu, L. J. (2006).** Effect of MW and concentration of chitosan on antibacterial activity of *Escherichia coli*. *Carbohydrate polymers*, 64(1), 60-65.
- Mecheddou, c., & Barr, k. (2018).** Valorisation des carapaces des crevettes dans la dépollution des eaux: Extraction du chitosane et optimisation des procédés.
- Mohammed Laytimi, F. (2011).** Le kyste hydatique du poumon chez l'enfant à propos de 115 cas faculté de médecine et de pharmacie de FES (Doctoral dissertation, Thèse de médecine)

- Mokrani, N. (2013).** Préparation et étude du comportement de membranes biopolymères alginate de sodium/chitosane (Doctoral dissertation, Université de Boumerdès-M'hamed Bougara).
- Moncef .G, Nejet.B, Ferid.B, Azza.H, Hassen. G, Mohamed. C, Hefdi.K, Kamel.A, Jean. G.(1990).** Percutaneous treatment of hydatid cysts (*Echinococcus Granulosus*). CardioVascular and Interventional Radiology. vol.13,p.169-173
- Morimoto, M., Saimoto, H., & Shigemasa, Y. (2002).** Control of functions of chitin and chitosan by chemical modification. Trends in Glycoscience and Glycotechnology, 14(78), 205-222.
- Muzzarelli, R. A. (1983).** Chitin and its derivatives: new trends of applied research. Carbohydrate Polymers, 3(1), 53-75.
- Muzzarelli, R. A., Muzzarelli, C., Tarsi, R., Miliani, M., Gabbanelli, F., & Cartolari, M. (2001).** Fungistatic Activity of Modified Chitosans against *Saprolegnia p parasitica*. *Biomacromolecules*, 2(1), 165-169.
- Ngah, W. W., & Fatinathan, S. (2008).** Adsorption of Cu (II) ions in aqueous solution using chitosan beads, chitosan–GLA beads and chitosan–alginate beads. *Chemical Engineering Journal*, 143(1-3), 62-72.
- No, H. K., & Hur, E. Y. (1998).** Control of foam formation by antifoam during demineralization of crustacean shell in preparation of chitin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(9), 3844-3846.
- No, H. K., Lee, K. S., & Meyers, S. P. (2000).** Correlation between physicochemical characteristics and binding capacities of chitosan products. *Journal of Food Science*, 65(7), 1134-1137.
- Noomen.F, Mahmoudi.A, Fodha.M, Boudokhane.M, Hamdi.A, Fodha.M.(2013).** Traitement chirurgical des kystes hydatiques du foie. Elsevier Masson. Vol. 8,n°2, p.740-775.
- Pakala, T., Molina, M., & Wu, G. Y. (2016).** Hepatic echinococcal cysts: a review. *Journal of clinical and translational hepatology*, 4(1), 39.
- Olteanu, C. E., & Enescu, D. (2007).** Chitosan involved tissue engineering and regenerative medicine. *Romanian Biotechnological Letters*, 12(3), 3217.
- Onsøyen, E., & Skaugrud, O. (1990).** Metal recovery using chitosan. *Journal of chemical technology and biotechnology (Oxford, Oxfordshire: 1986)*, 49(4), 395-404.
- Peng, Y., Han, B., Liu, W., & Xu, X. (2005).** Preparation and antimicrobial activity of hydroxypropyl chitosan. *Carbohydrate Research*, 340(11), 1846-1851.
- Perlman R. (1990).** Maladies infectieuses. 2eme édition, Paris, 1750.

- Ramos, G., Antonio Orduña, M., & Mariano García-yuste, M. (2001).** Hydatid cyst of the lung: diagnosis and treatment. *World journal of surgery*, 25(1), 46
- Rahimi-Esboei, B., Fakhar, M., Chabra, A., & Hosseini, M. (2013).** In vitro treatments of *Echinococcus granulosus* with fungal chitosan, as a novel biomolecule. *Asian Pacific journal of tropical biomedicine*, 3(10), 811-815.
- Rinaudo, M. (2006).** Chitin and chitosan: Properties and applications. *Progress in polymer science*, 31(7), 603-632.
- Roller, S., & Covill, N. (1999).** The antifungal properties of chitosan in laboratory media and apple juice. *International journal of food microbiology*, 47(1-2), 67-77.
- Randrianasolo, L., Randriamanantena, A., Ratsimbao, A., Rakotoson, J. D., Randriambelosoa, J., Raveloson, A., ... & Randrianarivelosia, M. (2003).** Surveillance de l'efficacité de sulfadoxine-pyriméthamine (Fansidar®, Paludar®) pour le traitement de l'accès palustre à Madagascar: proposition d'un protocole simplifié. *Archives de l'Institut Pasteur de Madagascar*, 69(1).
- Saadeddine Zmerli, M., Mohsen Ayed, M., Ali Horchani, M., Imad Chami, M., Mounir El Ouakdi, M. D., & Mohamed Riadh Ben Slama, M. (2001).** Hydatid cyst of the kidney: diagnosis and treatment. *World journal of surgery*, 25(1), 68.
- Sarbon, N. M., Sandanamsamy, S., Kamaruzaman, S. F. S., & Ahmad, F. (2015).** Chitosan extracted from mud crab (*Scylla olivacea*) shells: physicochemical and antioxidant properties. *Journal of food science and technology*, 52(7), 4266-4275.
- Salem, C. O. A., Schneegans, F., Chollet, J. Y., & Jemli, M. H. (2010).** Prévalence et aspects lésionnels de l'hydatidose chez les dromadaires et les petits ruminants au nord de la Mauritanie. *Revue d'élevage et de médecine vétérinaire des pays tropicaux*, 63(1-2), 23-28.
- Salem, C. O. A., Schneegans, F., & Chollet, J. Y. (2011).** Étude des aspects lésionnels de l'échinococcose hydatique chez l'Homme en Mauritanie: fertilité, histologie des kystes hydatiques et viabilité des protoscolex. *Bulletin de la Société de pathologie exotique*, 104(1), 1-5.
- Shimada, K., Fujikawa, K., Yahara, K., & Nakamura, T. (1992).** Antioxidative properties of xanthan on the autoxidation of soybean oil in cyclodextrin emulsion. *Journal of agricultural and food chemistry*, 40(6), 945-948.
- Shahidi, F., & Abuzaytoun, R. (2005).** Chitin, chitosan, and co-products: chemistry, production, applications, and health effects. *Advances in food and nutrition research*, 49, 93-137.

- Scherließ, R., Buske, S., Young, K., Weber, B., Rades, T., & Hook, S. (2013).** In vivo evaluation of chitosan as an adjuvant in subcutaneous vaccine formulations. *Vaccine*, 31(42), 4812-4819.
- Shi, J., Liu, Y., Wang, Y., Zhang, J., Zhao, S., & Yang, G. (2015).** Biological and immunotoxicity evaluation of antimicrobial peptide-loaded coatings using a layer-by-layer process on titanium. *Scientific reports*, 5(1), 1-15
- Tayel, A. A., Moussa, S., Opwis, K., Knittel, D., Schollmeyer, E., & Nickisch-Hartfiel, A. (2010).** Inhibition of microbial pathogens by fungal chitosan. *International journal of biological macromolecules*, 47(1), 10-14.
- Shang, J., Zhang, G., Yu, W., He, W., Wang, Q., Zhong, B., ... & Huang, Y. (2019).** Molecular characterization of human *Echinococcosis* in Sichuan, Western China. *Acta tropica*, 190, 45-51.
- Tolaimate, A., Desbrieres, J., Rhazi, M., & Alagui, A. (2003).** Contribution to the preparation of chitins and chitosans with controlled physico-chemical properties. *Polymer*, 44(26), 7939-7952.
- Tsukada, H., Morishima, Y., Nonaka, N., Oku, Y., & Kamiya, M. (2000).** Preliminary study of the role of red foxes in *Echinococcus multilocularis* transmission in the urban area of Sapporo, Japan. *Parasitology*, 120(4), 423-428
- Vaubordolle M. (2013).** Infectiologue. Ed. Wolters Kluwer SA, 733p.
- Xiao, X., Boles, S., Liu, J., Zhuang, D., Frolking, S., Li, C., ... & Moore III, B. (2005).** Mapping paddy rice agriculture in southern China using multi-temporal MODIS images. *Remote sensing of environment*, 95(4), 480-492.
- Yang, Y. R., Ellis, M., Sun, T., Li, Z., Liu, X., Vuitton, D. A., ... & McMANUS, D. P. (2006).** Unique family clustering of human *Echinococcosis* cases in a Chinese community. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 74(3), 487-494.
- Yennek, S., & Yennek, S. (2017).** Etude rétrospective sur le kyste hydatique dans la région de Dellys (Doctoral dissertation, Université Mouloud Mammeri).
- Youn, D. K., No, H. K., & Prinyawiwatkul, W. (2007).** Physical characteristics of decolorized chitosan as affected by sun drying during chitosan preparation. *Carbohydrate Polymers*, 69(4), 707-712.
- Yu, G. E., Morin, F. G., NOBES, G. R., & Marchessault, R. H. (1999).** Degree of acetylation of chitin and extent of grafting PHB on chitosan determined by solid state ¹⁵N NMR. *Macromolecules*, 32(2), 518-520.

Zeghir-Bouteldja, R., Amri, M., Bouaziz, S., Mezioug, D., & Touil-Boukoffa, C. (2013). Comparative study of nitric oxide (NO) production during human hydatidosis: relationship with cystic fluid fertility. *Parasitology research*, 112(2), 649-654.

Zhong, Z., Xing, R., Liu, S., Wang, L., Cai, S., & Li, P. (2008). Synthesis of acyl thiourea derivatives of chitosan and their antimicrobial activities in vitro. *Carbohydrate Research*, 343(3), 566-570.

ZEMMOURI, M. H. (2008). Le Chitosane... est-il la molécule du siècle?. Division Bio-Energie et Environnement.

ZEGGANE, L. (2017). Mise en évidence de la sérum albumine dans les kystes hydatiques: rôle potentiel dans la chronicité.

Y.W.Ch., J. Jang, C.R. Park et S.W.Ko. Preparation and solubility in acid and water of partially Deacetylated chitins, *Biomacromolecules*. 2000. p: (1.609-614)



Les Annexes

Annex 1

Preparation des solutions

➤ Preparation de NaOH 0,1 M

4 g de NaOH ont été dissouts dans 1 L de l'eau distillée

➤ HCl (0,01M)

0.085ml d'HCl 36% est ajusté à 1litre avec d'eau distillée

➤ Solution DPPH (65µM/l)

0,0024 g DPPH dans 100 ml méthanol pur.

800nm<Abs DPPH à 517nm<900nm

➤ Acide ascorbique

2000µg dans ml éthanol.

➤ Eau physiologie

9g Na Cl dissoudre dans 1000 ml d'eau distillée.

Les milieux de culture utilisée

➤ Mueller-Hinton (MH)

La gélose de Mueller-Hinton a été utilisée pour l'étude de la sensibilité des bactéries aux extraits naturels.

Elle est solide et constitue également un excellent milieu de base pour la préparation d'une gélose au sang.

La composition est la suivante:

Infusion de viande de boeuf300 ml.l-1

Peptone de caséine17,5 g.l-1

Amidon de maïs1,5g.l-1

Agar.....17 g.l-1

38g de poudre MHA + 1 ml d'eau distillé, laissé agiter en chauffant légèrement (50°- 70°C),
mettre à l'autoclave à 120 °C pendant 20min.

➤ LB:

Les compositions est comme suite:

Extrait de levure 5g

Tryptone 10g

NaCl5g

Agar..... 19g

Annex 2

Les résultats de notre travail sont résumés dans la figure N°1. Résumé

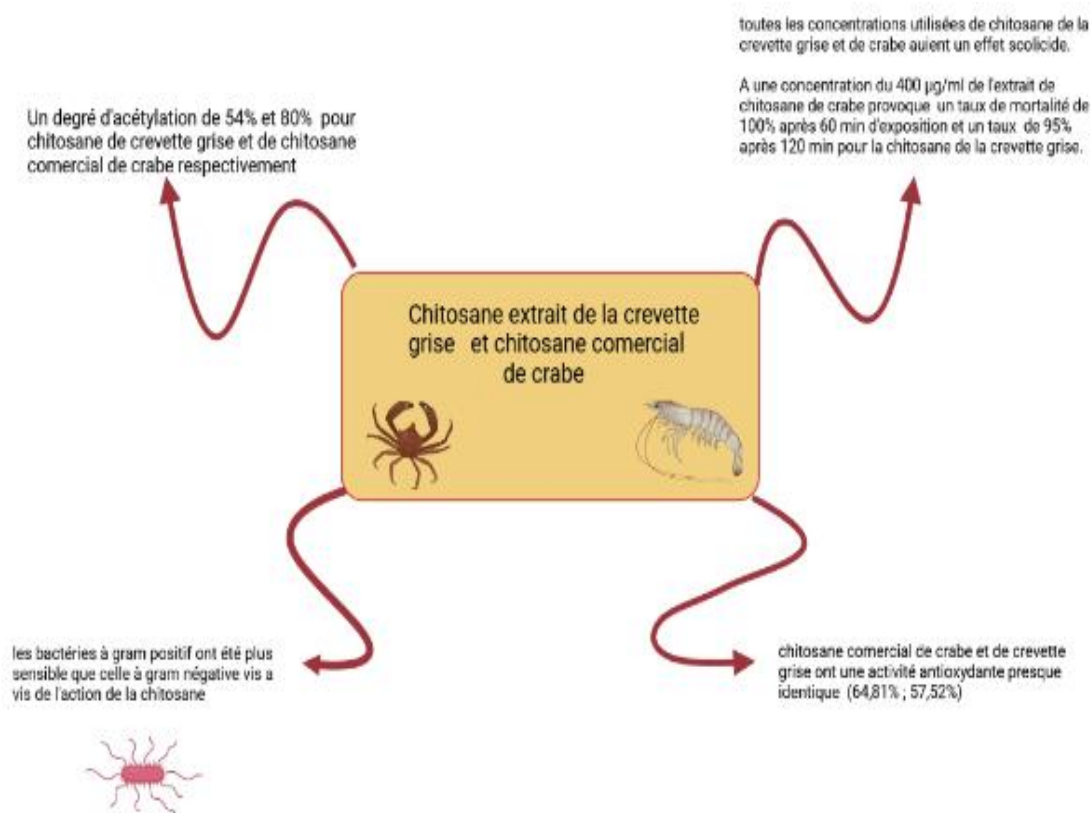


Figure 01: résumée de notre résultats.(original)

Annex 3

Les abréviations des produits chimiques

H ₂ O ₂	Le peroxyde d'hydrogène
KOH	Hydroxyde de potassium
NaOH	Hydroxyde de sodium
Na ₂ CO ₃	Carbonate de sodium
Na ₃ PO ₄	Phosphate de sodium
Na ₂ SO ₃	Sulfite de sodium
NaHCO ₃	Bicarbonate de Sodium
HCl	Chlorure d'hydrogène
K ₂ CO ₃	Carbonate de potassium

Résumé

L'hydatidose est une infection parasitaire due à *Echinococcus granulosus*. Cette maladie est endémique dans plusieurs pays y compris l'Algérie. Dans ce travail, nous sommes intéressés à l'étude de l'activité antiparasitaire du chitosane sur le métaceste d'*Echinococcus granulosus*, ainsi que l'étude de quelques activités biologiques de chitosane commercial et chitosane de crevette grise. Dans notre étude, nous intéressons au premier lieu à l'extraction de la chitine à partir de la carapace de crevette grise en procédant au dévoilement de leurs caractéristiques physico-chimiques obtenues par voie chimique; teste de solubilité (acide acétique); degré de désacétylation (53.78 %). Les résultats ont confirmé que le chitosane de la carapace des crevettes présentait une activité antiparasitaire plus élevée dont le temps de mortalité 60 a été obtenue à une concentration du chitosane (400µg/mL).

Nous avons étudié aussi l'activité antibactérienne par la méthode de diffusion en puits les résultats ont montré que le chitosane de carapace de crevette grise a une activité inhibitrice importante sur la souche *Staphylococcus aureus*, et aussi une activité antioxydante a été obtenue contre DPPH avec $IC_{50} = 0.34$ mg/ml. Dans son acception générale, le présent travail vise la valorisation des sous-produits aquacoles, ainsi que la recherche d'autres sources alternatives de ces matériaux polysaccharides.

Mots clés : L'hydatidose, chitosane, activité antiparasitaire, activité antioxydante, activité antibactérienne

Hydatidosis is a parasitic infection caused by *Echinococcus granulosus*. This disease is endemic in several countries including Algeria. In this work, the antiparasitic activity of chitosan on the metacestode of *Echinococcus granulosus* was performed, as well as the antioxidant and antimicrobial activity of commercial chitosan and shrimp chitosan was evaluated. The chitin from the shell of shrimp was extracted by chemical extraction, proceeding to the unveiling of their physicochemical characteristics; solubility test (acetic acid); the degree of acetylation (53.78%). The results confirmed that the shrimp carapace's chitosan exhibited a higher antiparasitic activity, which the mortality time at 60 min was obtained at higher chitosan concentration (400µg/mL). Also, the chitosan showed an important inhibitory activity against *Staphylococcus aureus* strain (15 mm of inhibition zone), and an antioxidant activity was obtained against DPPH with $IC_{50} = 0.34$ mg/ml. In its general meaning, the present work aims at the valorization of aquaculture by-products, as well as the search for other alternative sources of these polysaccharide materials.

Key words: Hydatidose, chitosan, antiparasitic activity, antioxidant activity, antibacterial activity

داء المشوكات هو عدوى طفيلية تسببها المشوكة الحبيبية. هذا المرض مستوطن في العديد من البلدان بما في ذلك الجزائر. في هذا العمل، تم تقييم النشاط المضاد للطفيليات للكيروزان على المشوكة الحبيبية، وكذلك تم تقييم النشاط المضاد للأكسدة والمضاد للميكروبات للكيروزان التجاري و الكيروزان الجمبري. قمنا باستخراج الكيتين من قشرة الجمبري عن طريق الاستخلاص الكيميائي وكشفنا عن خصائصها الفيزيائية والكيميائية؛ اختبار الذوبان (حمض الأسيتيك)؛ درجة الأسيتيل (53.78%). أكدت النتائج أن الكيروزان أظهر نشاطاً مضاداً للطفيليات أعلى، حيث تم الحصول على وقت النفوق في الدقيقة 60 عند التركيز (400 ميكروغرام / مل). كما أظهر الشيتوزان نشاطاً مثبطاً هاماً ضد سلالة المكوررات العنقودية الذهبية (15 ملم من منطقة التثبيط) وتم الحصول على نشاط مضاد للأكسدة ضد DPPH مع $IC_{50} = 0.34$ ملغ/مل. يهدف العمل الحالي إلى تقييم المنتجات الثانوية لتربية الأحياء المائية وكذلك البحث عن مصادر بديلة أخرى لمواد متعدد السكريات.

الكلمات الأساسية: داء المشوكات، الكيروزان، نشاط مضاد للطفيليات، نشاط مضاد للأكسدة، نشاط مضاد للجراثيم.