

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE  
UNIVERSITÉ AKLI MOHAND OULHADJ – BOUIRA  
FACULTÉ DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET DES SCIENCES DE LA TERRE  
DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE



Réf : ...../UAMOB/F.SNV.ST/DEP.BIO/20

**MEMOIRE DE FIN D'ETUDES**  
**EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOMEMASTER**

**Domaine : SNV    Filière : Sciences Biologiques**  
**Spécialité : Biochimie Appliquée**

**Présenté par :**

***BENSALEM Naima & BRAHAMI Hayet***

***Thème***

**Effet du chitosane sur le métacestode  
d'*Echinococcus granulosus***

**Soutenu le : 28 / 09 / 2020**

**Devant le jury composé de :**

***Nom et Prénom***

***Grade***

***Mme HAMID Sonia***

***MCB***

***Univ. de Bouira***

***Présidente***

***M. LIBDIRI Farid***

***MAA***

***Univ. de Bouira***

***Examineur***

***Mme BOUTELDJA Razika***

***MCB***

***Univ. de Bouira***

***Promotrice***

***Année Universitaire : 2019/2020***

# *Remerciements*

Nous remercions **ALLAH** le tout puissant, de nous avoir donné la force et la patience durant la réalisation de ce mémoire.

En premier lieu, nous tenons surtout à adresser nos plus vifs remerciements à notre promotrice Mme **ZEGHIR-BOUTELDJA Razika** enseignant chercheur à l'université de Akli Mohand Oulhadj-BOUIRA d'avoir accepté de diriger ce travail ainsi que pour l'aide qu'elle nous a apporté pour l'orientation et à la réalisation de ce mémoire. Qu'elle trouve ici nos sentiments de gratitude.

Nous tenons à exprimer notre respectueux remerciement à **Mme HAMID Sonia** maitre assistante à l'université Akli Mohand Oulhadj pour l'honneur qu'il nous fait en acceptant la présidence de jury de notre soutenance

Nous remercions **Mr LIBDIRI** maitre assistant à l'université Akli Mohand Oulhadj d'avoir accepté d'examiner ce modeste travail et participer au jury.

Notre remerciement s'adressent à tous ceux qui, de près ou de loin, ont contribué directement à la réalisation de ce travail, trouvent ici nos sentiments de profonde gratitude et de reconnaissance infinie.

# ***Dédicaces***

*Je remercie **ALLAH** le tout puissant qui ma permet d'arriver à ce but et m'avoir donné la force d'aller jusqu'au bout de ce travail.*

*C'est avec un très grand honneur que je dédie ce modeste travail aux personnes les plus chères au monde*

*A Mon père : **Mohammed***

*A Ma mère : **Saadia***

*Qui n'ont cessé de m'encourager et qui ont toujours donné le meilleur d'eux même pour me voir réussir. Que dieu vous protège et vous garde à nos cotés.*

*A ma grand-mère **Hdjila***

*A ma sœur **Kahina** et son mari **Mourad***

*A mes frères : **Idir** et sa femme **Hdjila** et ces enfants **Lydia, Youba et Lydia,***

*A **Rachid, Karim, Soufiane, Kamel, Noureddine et Nabil***

*Je dédie ce travail :*

*À mon binôme **Hayet***

*À tout mes amis*

*À tout le personnel enseignant, administratif et technique de la faculté des sciences de la nature et de la vie et sciences de la terre- université de BOUIRA.*

***Naima***

# ***Dédicaces***

*Avec un énorme plaisir, un coeur ouvert et immense joie que Je dédie ce travail*

***A mes chers parents :***

*Rabah et Houria*

*Aucune dédicace ne saurait exprimer l'affection*

*et l'amour que j'éprouve envers vous.*

*Puisse ce travail constitue une légère compensation pour tous les nobles*

*sacrifices que vous*

*avez imposé pour assurer mon bien être*

*et mon éducation.*

***A ma seule et chère soeur***

*Kheira et son mari Soufiane et son fils Youcef*

***Et à mes chers frères***

*Kamel, Nabil et Farid*

***A tous mes amis, collègues, que j'apprécie beaucoup***

*Yassmina, Nadjet, Nadjet.B et à mon binôme Naima*

***A toute personne qui m'ont encouragé ou aidé au long de mes études***

***Et à toute la promotion biochimie appliquée 2019-2020***

***Hayet***

# Liste des figures

## Liste des figures

---

|  |    |
|--|----|
| <b>Figure 01</b> : Répartition géographique de l'hydatidose dans le monde.....   | 04 |
| <b>Figure 02</b> : La répartition géographique des cas d'hydatidose dans toutes les wilayas d'Algérie 2000 à 2004.....                                   | 05 |
| <b>Figure 03</b> : Cycle évolutif de l' <i>Echinococcus granulosus</i> .....   | 07 |
| <b>Figure 04</b> : Schéma d'un ver adulte d' <i>Echinococcus granulosus</i> .....  | 08 |
| <b>Figure 05</b> : Vue microscopique d'un embryophore.....   | 09 |
| <b>Figure06</b> : Vésicules filles.....  | 10 |
| <b>Figure07</b> : Sable hydatique avec des protoscolex.....  | 11 |
| <b>Figure 08</b> : Structure du kyste hydatique.....   | 12 |
| <b>Figure 09</b> : Sources de chitine dans la nature.....  | 18 |
| <b>Figure 10</b> : La structure chimique de la chitine.....  | 20 |
| <b>Figure 11</b> : La structure chimique du chitosane.....   | 22 |
| <b>Figure 12</b> : Production de la chitine et du chitosane.....   | 23 |
| <b>Figure 13</b> : Les différentes formes du chitosane.....  | 31 |
| <b>Figure14</b> : Liquide hydatique du foie.....   | 34 |
| <b>Figure15</b> : liquide hydatique du foie avec des vésicules filles.....   | 35 |
| <b>Figure 16</b> : Organigramme représentant le protocole d'extraction du chitosane.....   | 37 |
| <b>Figure 17</b> : <b>a.</b> Protocole expérimentale de la synthèse de l'hydrogel thermosensible. <b>b.</b> Schéma de mécanisme de formation de gel..... | 41 |
| <b>Figure 18</b> : Liquide hydatique du kyste 02 observé sous microscope optique au Gx10 (photographie originale).....                                   | 42 |
| <b>Figure 19</b> : Protoscolex morts (Gx20).....   | 42 |
| <b>Figure 20</b> : Protoscolex vivant invaginé (Gx40).....   | 43 |

## Liste des figures

---

|  |    |
|--|----|
| <b>Figure 21</b> : Protoscolex vivant dévaginé (Gx40).....   | 43 |
| <b>Figure 22</b> : Protoscolex viables sans colorant absorbé (groupe témoin).....  | 45 |
| <b>Figure 23</b> : Protoscolex morts avec colorant absorbé (après traitement au chitosane).....  | 45 |
| <b>Figure 24</b> : Effet du DD sur le taux de mortalité des protoscolex.....   | 46 |
| <b>Figure 25</b> : a Solution du polymère de CS/CMC à 4°C avec un ratio de 1,75/1,4 et BGP (2.9%). b Gel formé à 37°C. c Foie atteint de l'hydatidose. d Fluide hydatique aspiré. e Fluide hydatique stérilisé. f Solution du polymère injecté au fluide hydatique (1 :3) de CS/CMC avec un ratio de 1,75/1,4 et BGP (2.9%) à 25°C. g Fluide hydatique solidifié à 25°C..... | 47 |

# Liste des tableaux



## Liste des tableaux

---

|  |    |
|--|----|
| <b>Tableau 01 :</b> Tableau de pourcentage de chitine dans les êtres vivants marins d'après Tolaimate et <i>al.</i> .....  | 19 |
| <b>Tableau 02 :</b> Concentrations minimales inhibitrices de quelques bactéries par le chitosane.....  | 26 |
| <b>Tableau 03 :</b> Concentrations minimales inhibitrices de quelques moisissures par le chitosane.....  | 27 |
| <b>Tableau 04 :</b> Taux d'inhibition de quelques souches fongiques en fonction de la concentration du chitosane.....  | 28 |
| <b>Tableau 05 :</b> Effet scolicide de différentes concentrations de chitosane préparé à partir de <i>P. viridicatum</i> sur le taux de mortalité des protoscolex de kyste hydatique à divers temps d'exposition.....          | 43 |
| <b>Tableau 06 :</b> Effet scolicide de différentes concentrations de chitosane préparé à partir de <i>P. aurantiogeriseum</i> sur le taux de mortalité des protoscolex de kyste hydatique à différents temps d'exposition..... | 44 |
| <b>Tableau 07 :</b> Effet scolicide de différentes concentrations de chitosane commercial sur le taux de mortalité des protoscolex du kyste hydatique à différents temps d'exposition.....                                     | 44 |
| <b>Tableau 08 :</b> Effet de différents agents scolicides sur les protoscolex du kyste hydatique de l' <i>E. granulosus in vitro</i> .....   | 46 |

# Liste des abréviations

## Liste des abréviations

---

|                               |                                    |
|-------------------------------|------------------------------------|
| <b>+NH<sub>3</sub> :</b>      | Ammoniac                           |
| <b>°C :</b>                   | Degré Celsius                      |
| <b>µg/ml :</b>                | Microgramme/millilitre             |
| <b>ABZ :</b>                  | Albendazole                        |
| <b>ADN :</b>                  | Acide Désoxyribonucléique          |
| <b>ARNm :</b>                 | Acide ribonucléique messenger      |
| <b>BGP :</b>                  | β-glycérol phosphate               |
| <b>C2:</b>                    | Carbone 2                          |
| <b>C3:</b>                    | Carbone 3                          |
| <b>C6:</b>                    | Carbone 6                          |
| <b>Ca(OH)<sub>2</sub>:</b>    | Hydroxyde de calcium               |
| <b>CaSO<sub>3</sub>:</b>      | Sulfate de calcium                 |
| <b>CC :</b>                   | Chitosane commercial               |
| <b>CMC :</b>                  | Carboxyméthyl cellulose            |
| <b>CMI :</b>                  | Concentration minimale inhibitrice |
| <b>COS :</b>                  | Chito-oligosaccharides             |
| <b>DA :</b>                   | Degré d'Acétylation                |
| <b>DDA :</b>                  | Degré de désacétylation            |
| <b>DP :</b>                   | Degré de polymérisation            |
| <b><i>E. granulosus</i> :</b> | <i>Echinococcus granulosus</i>     |
| <b>ELISA :</b>                | Enzyme linked Immunosorbent Assay  |
| <b>FC :</b>                   | Chitosane fongique                 |
| <b>Y :</b>                    | Gamma                              |
| <b>g/l :</b>                  | Gramme/ litre                      |
| <b>Gx20 :</b>                 | Grocissement x 20                  |
| <b>Gx40 :</b>                 | Grocissement x 40                  |

## Liste des abréviations

---

|                                      |  |
|--------------------------------------|--|
| <b>HAI :</b>                         | Hémagglutination Indirecte                 |
| <b>HD :</b>                          | Hôte définitif                             |
| <b>HI :</b>                          | Hôte intermédiaire                         |
| <b>IgE :</b>                         | Immunoglobuline E                          |
| <b>IRM :</b>                         | Imagerie par Résonance Magnétique          |
| <b>K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>:</b>  | Carbonate de potassium                     |
| <b>KDa :</b>                         | Kilo Dalton                                |
| <b>KHF :</b>                         | Kyste Hydatique du Foie                    |
| <b>KOH:</b>                          | Hydroxyde de potassium                     |
| <b>MBZ :</b>                         | Mébendazole                                |
| <b>Min :</b>                         | Minute                                     |
| <b>MM:</b>                           | Masse Molaire                              |
| <b>Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>:</b> | Carbonate de sodium                        |
| <b>Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>:</b> | Sulfite de sodium                          |
| <b>Na<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>:</b> | Phosphate de sodium                        |
| <b>NaHCO<sub>3</sub>:</b>            | Bicarbonate de Sodium                      |
| <b>NaOH:</b>                         | Hydroxyde de sodium                        |
| <b>NH<sub>2</sub> :</b>              | Groupe amine                               |
| <b>PAIR :</b>                        | Ponction-Aspiration-Injection-Réaspiration |
| <b>pH :</b>                          | Potentiel d l'Hydrogène                    |
| <b>ppm :</b>                         | mg/l                                       |
| <b>β :</b>                           | Beta                                       |
| <b>TDM:</b>                          | Tomodensitométrie                          |
| <b>USA:</b>                          | United States of America                   |
| <b>VS :</b>                          | Vitesse de sédimentation                   |
| <b>α :</b>                           | Alpha                                      |

# Sommaire

# Sommaire

---

**Remerciements**

**Dédicaces**

**Liste des figures**

**Liste des tableaux**

**Liste des abréviations**

**INTRODUCTION.....01**

## **PARTIE THEORIQUE**

### **CHAPITRE I : L'hydatidose**

|   |           |
|---|-----------|
| <b>I.1. La définition.....</b>                                  | <b>03</b> |
| <b>I.2. Epidémiologie de l'hydatidose.....</b>                  | <b>04</b> |
| <b>I.2.1. A l'échelle mondiale.....</b>                         | <b>03</b> |
| <b>I.2.2. En Algérie.....</b>                                   | <b>04</b> |
| <b>I.2.2.1. Aperçu historique.....</b>                          | <b>04</b> |
| <b>I.3. La classification de l'Echinococcus granulosus.....</b> | <b>05</b> |
| <b>I.4. Le cycle parasitaire.....</b>                           | <b>06</b> |
| <b>I.5. Les formes parasitaires.....</b>                        | <b>07</b> |
| <b>I.5.1.La forme ver adulte chez le chien.....</b>             | <b>07</b> |
| <b>I.5.2. L'œuf dans le milieu extérieur.....</b>               | <b>08</b> |
| <b>I.5.3. La forme kystique dans l'organe.....</b>              | <b>09</b> |
| <b>I.5.3.1. Les parois.....</b>                                 | <b>09</b> |
| <b>I.5.3.2. Les vésicules proligères.....</b>                   | <b>09</b> |
| <b>I.5.3.3. Les vésicules filles.....</b>                       | <b>10</b> |
| <b>I.5.3.4. Le liquide hydatique.....</b>                       | <b>10</b> |
| <b>I.5.3.5. Le sable hydatique.....</b>                         | <b>10</b> |

## Sommaire

---

|   |    |
|---|----|
| <b>I.5.3.6. Les protoscolex</b> .....                           | 11 |
| <b>I.6. Le mode de contamination</b> .....                      | 12 |
| <b>I.6.1. L'hôte définitif</b> .....                            | 12 |
| <b>I.6.2. L'hôte intermédiaire</b> .....                        | 12 |
| <b>I.6.3. L'homme</b> .....                                     | 13 |
| <b>I.7. L'aspect clinique de l'échinococcose kystique</b> ..... | 13 |
| <b>I.7.1. La symptomatologie</b> .....                          | 13 |
| <b>I.7.2. Le diagnostic et le dépistage</b> .....               | 14 |
| <b>I.7.3. Le traitement</b> .....                               | 15 |
| <b>I.8. La prophylaxie</b> .....                                | 16 |

## CHAPITRE II : Le chitosane

|  |    |
|--|----|
| <b>II.1. Aperçu historique</b> .....                         | 17 |
| <b>II.2. Les sources de la chitine et du chitosane</b> ..... | 17 |
| <b>II.3. La chitine</b> .....                                | 20 |
| <b>II.3.1. La définition</b> .....                           | 20 |
| <b>II.3.2. La structure</b> .....                            | 20 |
| <b>II.3.3. La préparation de la chitine</b> .....            | 20 |
| <b>II.4. Le chitosane</b> .....                              | 21 |
| <b>II.4.1. La définition</b> .....                           | 21 |
| <b>II.4.2. La structure</b> .....                            | 22 |
| <b>II.4.3. L'obtention du chitosane</b> .....                | 22 |
| <b>II.4.4. Les propriétés du chitosane</b> .....             | 23 |
| <b>II.4.4.1. Les propriétés physico-chimiques</b> .....      | 23 |
| <b>II.4.4.2. Les propriétés biologiques</b> .....            | 25 |
| <b>II.4.4.3. Les propriétés de biocompatibilité</b> .....    | 28 |

## Sommaire

---

|   |    |
|---|----|
| II.4.5. Les modifications chimiques du chitosane.....   | 29 |
| II.4.6. Les formes physiques du chitosane.....  | 30 |
| II.4.7. L'intérêt du chitosane dans les différents domaines.....                                | 31 |
| <b>CHAPITRE III : Matériel et méthodes</b>  |    |
| III.1. Matériel.....  | 34 |
| III.1.1. Matériel biologique.....   | 34 |
| III.1.2. Matériel non biologique.....   | 35 |
| III.2. Méthodes.....  | 37 |
| III.2.1. La méthode d'extraction du chitosane.....  | 37 |
| III.2.2. Test de fertilité du kyste hydatique.....  | 38 |
| III.2.3. Test de viabilité des protoscolex.....   | 38 |
| III.2.4. L'effet scolicide du chitosane.....  | 38 |
| III.2.5. L'effet comparatif du chitosane avec d'autres agents<br>scolicides.....                | 39 |
| III.2.6. L'effet du chitosane sur le kyste hydatique.....                                       | 40 |
| IV. Résultats.....  | 42 |
| IV.1. Test de fertilité des kystes hydatiques.....  | 42 |
| IV.2. Test de viabilité des protoscolex.....  | 42 |
| IV.3. Evaluation de l'ffet scolicide du chitosane.....  | 43 |
| IV.4. La comparaison de l'effet du chitosane avec d'autres agents<br>scolicides.....            | 46 |
| IV.5. L'effet du chitosane sur le kyste hydatique (solidification du<br>liquide hydatique)..... | 47 |
| IV. Discussion.....   | 47 |



# Sommaire

---

**Conclusion.....51**

**Références bibliographiques.....52**

**Glossaire**

**Résumé**

# Introduction

# Introduction

---

L'hydatidose, ou l'échinococcose kystique, dénomination actuellement préconisée par l'organisation mondiale de la santé (OMS), est une anthroponose due au développement chez l'homme de la forme larvaire du ténia du chien, l'*Echinococcus granulosus* (EG) (**Ouassou, 2008**). Elle est cosmopolite et s'observe avec une plus grande fréquence dans les pays du bassin méditerranéen. Le cycle parasitaire se déroule habituellement entre le chien (hôte définitif) et des mammifères herbivores ou omnivores. Elle peut également toucher l'homme en tant qu'hôte intermédiaire accidentel. Chez ce deuxième hôte, il se forme des kystes dans différents organes, principalement le foie et les poumons (**Amri, 2005**). Son importance repose sur deux ordres de considérations :

- Des considérations économiques liées aux pertes par saisies de viscères parasités dans les abattoirs.
- Des considérations socio-sanitaires, la maladie étant une zoonose majeure, souvent mortelle chez l'Homme (**Ely, 1959**).

Le kyste hydatique du foie demeure un véritable problème de santé publique dans les zones d'élevage et des pays en voie de développement (qui ont recours massivement à l'élevage pastoral) où il sévit sous forme endémique.

Le diagnostic de l'hydatidose repose sur l'imagerie et la sérologie. À ce jour, les techniques utilisées dans la plupart des laboratoires algériens sont l'hémagglutination passive (HAI) et la confirmation par l'immunoélectrophorèse (IEP) (**Zait, 2017**).

Jusqu'à ces dernières années, le traitement chirurgical était l'unique solution pour traiter l'hydatidose. Toutefois, le traitement médical constitue une alternative thérapeutique intéressante des patients inopérables, des hydatidoses disséminées (**Benhamdane, 2013**). Malgré plusieurs essais de lutte contre l'échinococcose kystique elle demeure toujours une cause de morbidité et de mortalité dans de nombreuses régions du monde (**Rekibi, 2017**).

Le chitosane est un polysaccharide cationique naturel, dérivé par désacétylation de la chitine qui constitue le constituant principal structural de l'exosquelette des arthropodes comme les crustacés et les insectes et dans la paroi cellulaire de nombreux champignons (**Fatima, B, 2018**). Le chitosane a été utilisé dans nombreux domaines tels que l'agriculture, l'agro-alimentaire, la cosmétologie et l'industrie pharmaceutique (**Gogev, 2003**).

# Introduction

---

Le chitosane présente plusieurs caractéristiques biologiques; la biocompatibilité, biodégradabilité, antibactérien et antifongique (**BENAOUDA, 2018**).

Une activité du chitosane fongique a été observée contre plusieurs champignons et bactéries, mais quelques recherches ont été réalisées sur l'activité antiparasitaire fongique du chitosane (**Rahimi et al., 2013**).

L'objectif de ce travail était basé sur

L'étude de l'activité antiparasitaire du chitosane isolé de la crevette obtenue de littoral algérien sur les protoscolex et l'intégrité des parois kystiques. En raison de la pandémie COVID-19 la partie expérimentale n'a pas pu être réalisée en raison des mesures préventives instaurées par le gouvernement algérien notamment la suspension des travaux de recherche et le confinement imposés au niveau des établissements universitaires afin d'empêcher l'expansion de l'infection virale entraînée par le corona virus. Nous relatons dans ce présent travail une revue bibliographique sur l'effet *in vitro* du chitosane et la chitine sur la larve *d'Echinococcus granulosus*.

Le mémoire se subdivise en trois parties pertinentes :

Premièrement, on va parler de la maladie de l'hydatidose en général, sa dissémination dans le monde, le cycle de développement ainsi que le diagnostic et le traitement possible.

Deuxièmement, une vue sur le chitosane citant ses propriétés et applications intéressantes.

Dernièrement, cette partie est consacrée pour les études faites dans la littérature visant à démontrer l'effet antiparasitaires *in vitro* du chitosane.

# Partie théorique

# Chapitre I

# Chapitre I : L'hydatidose

---

## I.1. La définition

L'hydatidose ou encore l'échinococcose kystique est une zoonose commune à l'homme et à des nombreux mammifères causée par la forme larvaire d'un cestode appelé *Echinococcus granulosus*. Elle est caractérisée par la présence de larves vésiculaires au niveau de l'organisme des mammifères carnivores, canidés et plus rarement Félidés (Thompson, 1995). Chez les hôtes intermédiaires sensibles, les embryons peuvent former des kystes hydatiques contenant des protoscolex.

## I.2. Epidémiologie de l'hydatidose

### I.2.1. A l'échelle mondiale

L'échinocoque est une zoonose mondiale, répandue dans les grands pays de reproduction du mouton sous forme locale. On dit que « l'hydatidose suit le mouton comme son ombre » (Aliane et Atilous, 2017).

Les personnes les plus touchées sont les bergers, les vétérinaires et les enfants (ils jouent souvent avec des chiens et ne s'inquiètent pas de l'hygiène des aliments qu'ils mangent). L'hydatidose est une maladie des jeunes avec un âge moyen de découverte de 40 ans. Les femmes constituent la majorité, estimée à 70% dans la plupart des études car les femmes prennent soin des bovins et des chiens plus que des hommes. (Aliane et Atilous, 2017).

-En Amérique latine, nous avons principalement trouvé la maladie en Argentine, au Brésil, au Pérou, en Uruguay et au Chili.

-Aux États-Unis, il y a 50 à 150 cas d'hydatidose Importés annuellement par la population immigrée d'Asie centrale et du Moyen-orient.

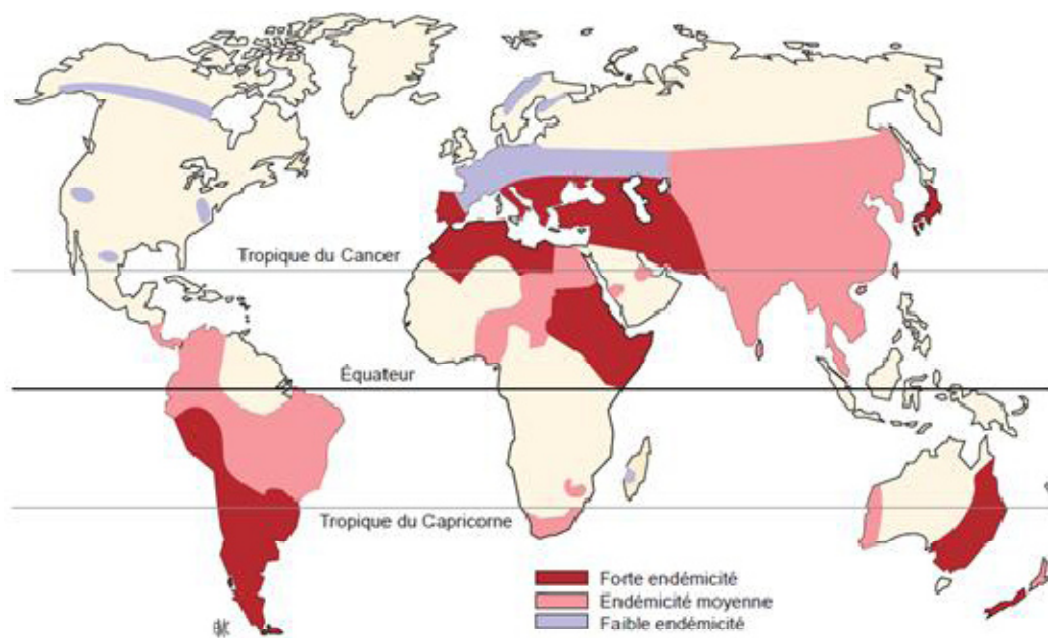
-En Chine, il y a eu 26 000 cas d'hydatidose opérés au cours des 40 dernières années dans six provinces.

-En Afrique du Nord, elle concerne principalement la Tunisie, le Maroc et l'Algérie.

-Dans L'Afrique de l'Est, le Kenya dans la région de Turkana le taux d'incidence le plus élevé au monde est retrouvée (220/100 000 Résidents).

# Chapitre I : L'hydatidose

Elle s'explique par la promiscuité entre le chien et l'homme et leurs coutumes qui favorisent la propagation de la maladie (**figure 01**) (**Ouassou, 2008**).



**Figure 01** : Répartition géographique de l'hydatidose dans le monde (**Aliane et Atilous, 2017**).

## **I.2.2. En Algérie**

L'Algérie, comme les pays du bassin méditerranéen, est une zone d'endémie (**figure 02**), plusieurs études sur le sujet ont été menées dès le début du siècle passé. Les résultats des études préliminaires montrent que dans les zones rurales la maladie de l'hydatidose est clairement dominante (74%) contre 16,7% en zone urbaine. Les tranches d'âge les plus touchées sont comprises entre 0 et 40 ans (**aliane et atilous, 2017**).

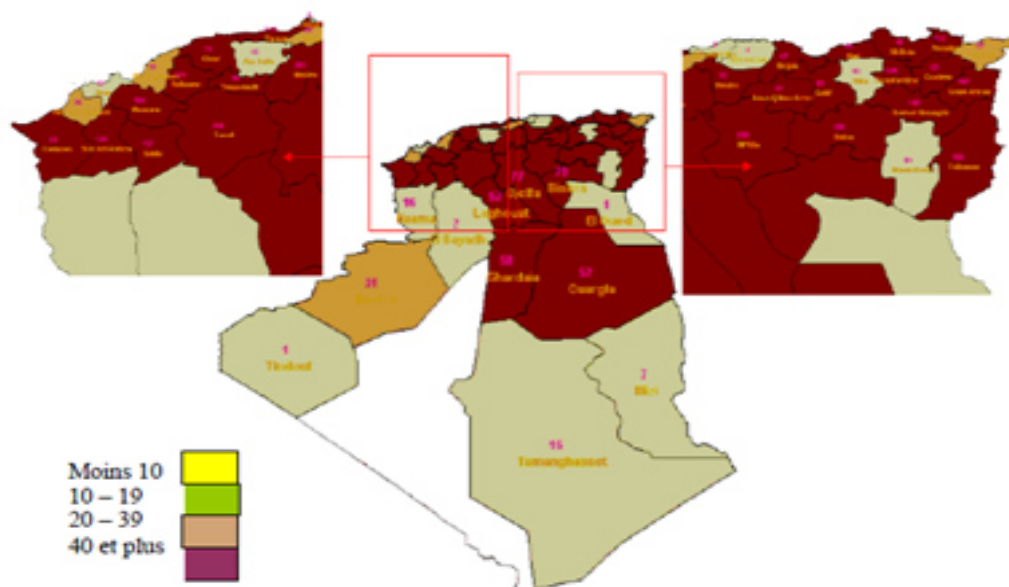
### **I.2.2.1. Aperçu historique**

- Kadi (1915) a mené de nombreuses études depuis le début du siècle dernier.
- Orlandi a compté 222 cas en 17 ans.
- En 1926 et 1937, Senevet et Witas ont mené une étude rétrospective de 75 ans (2078 cas).
- En 1950, la première Conférence internationale d'hydatidologie a eu lieu à Alger.



# Chapitre I : L'hydatidose

-En mai 1966, deuxième journée médicale maghrébine dédiée au Kystes hydatiques hépatiques (Kayoueche, 2009).



**Figure 02 :** La répartition géographique des cas d'hydatidose dans toutes les wilayas d'Algérie 2000 à 2004 (Kayoueche, 2009).

## I.3. La classification de l'*Echinococcus granulosus*

De point de vue taxonomique, l'*Echinococcus granulosus* est un parasite appartenant au :

**Règne :** Animal

**Phylum :** Plathylminthes

**Classe :** Cestoda

**Sous classe :** Eucestoda

**Ordre :** Cyclophyllidea

**Famille :** Taeniidae

**Genre :** Echinococcus

**Espèce :** *Echinococcus granulosus* (Ripoche, 2009).

# Chapitre I : L'hydatidose

---

## I.4. Le cycle parasitaire

L'échinococcose est une cyclozoonose qui demande deux hôtes pour son achèvement. L'hôte définitif (HD) est un chien, il y a peu d'autre canidé comme le loup, le chacal et l'hyène. L'hôte intermédiaire (HI) est un herbivore et avant tout le mouton qui broute au ras du sol ensuite, il y a les vaches, les porcs, les chevaux et les chèvres. L'homme s'insère accidentellement dans le cycle évolutif du ver ; c'est une impasse épidémiologique **(Benhamdane, 2013)**.

Les œufs excrétés par les excréments du chien dans l'environnement extérieur, ils sont ingérés par l'HI herbivore. L'oncosphère éclot de sa coque protectrice sous l'action des sucs digestifs dans l'estomac ou le duodénum. Les sécrétions provenant des glandes de pénétration permettent son entrée dans la paroi digestive, cisailée par les six crochets pourvus d'une musculature propre. Le passage de l'oncosphère et sa diffusion par voie artérielle est empêché à cause de la robustesse de la paroi vasculaire. Il est facilement accessible par le système veineux porte ensuite passe par le foie, où il s'arrête le plus souvent. Il traverse le foie par les veines sus-hépatiques puis par le cœur droit pour atteindre les poumons, il est rarement positionné n'importe où dans le corps humain par la circulation systémique. Un passage lymphatique de l'oncosphère doit exister et expliquerait la localisation pulmonaire ou inhabituelle de certains kystes, sans lésion hépatique simultanée. Une fois fixé dans un viscère, soit l'embryon est rapidement détruit par la réaction inflammatoire et les cellules phagocytaires, soit il se transforme en hydatide par phénomène de vésiculation. Lorsque le chien avale les organes internes de l'œsophage (foie, poumon) d'un herbivore infesté le cycle se termine et les scolex digérés et absorbés deviennent des adultes dans son tube digestif **(figure 03) (Klotz et Nicolas et al., 2000)**.

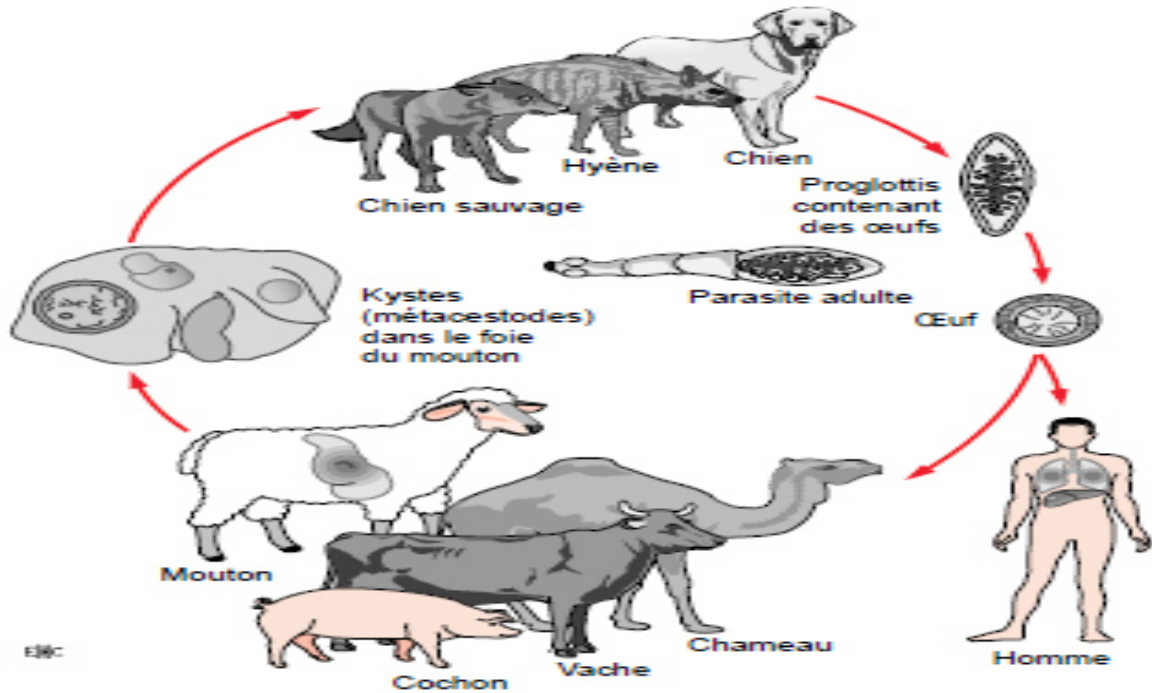


Figure 03 : Cycle évolutif de l'*Echinococcus granulosus* (Klotz et Nicolas et al., 2000).

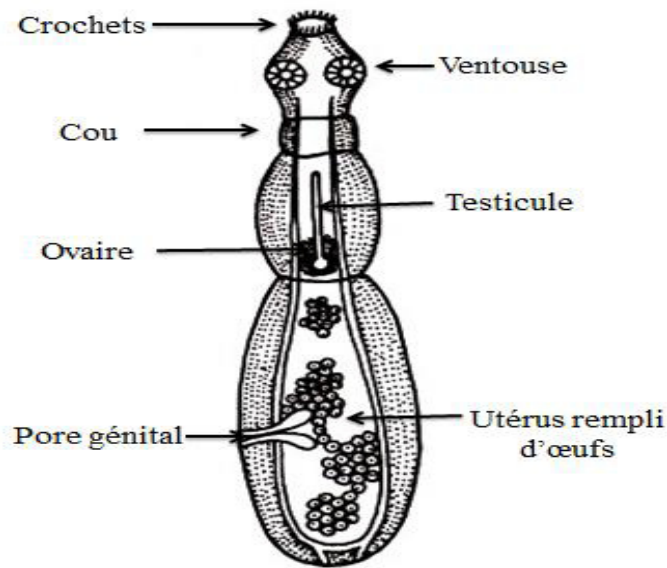
## I.5. Les formes parasitaires

### I.5.1. La forme ver adulte chez le chien

La forme adulte est un ver de 2 à 7 mm de long, vit à l'état saprophyte attaché aux villosités intestinales du chien. Sa longévité varie entre 6 mois et 2 ans (Ziouani, 2015). On lui reconnaît trois segments qui sont la tête, le cou et le corps (figure 04) :

-La tête ou le scolex est en forme de poire équipée de ventouses circulaires et d'un podium saillant avec des crochets à double couronne, ces crochets et ventouses assurent la fixation du parasite à la paroi intestinale de l'hôte.

-Le corps est composé de trois anneaux, le dernier anneau sous forme proglottique est celui de l'utérus gravidés se forme en 6 à 11 semaines et contient jusqu'à 1500 œufs matures également appelés embryophores, en arrivant à la maturité il se sépare du reste du parasite pour être jeté dans les excréments et libérer les œufs. Il est remplacé en 2 à 5 semaines (Rtaili, 2013).

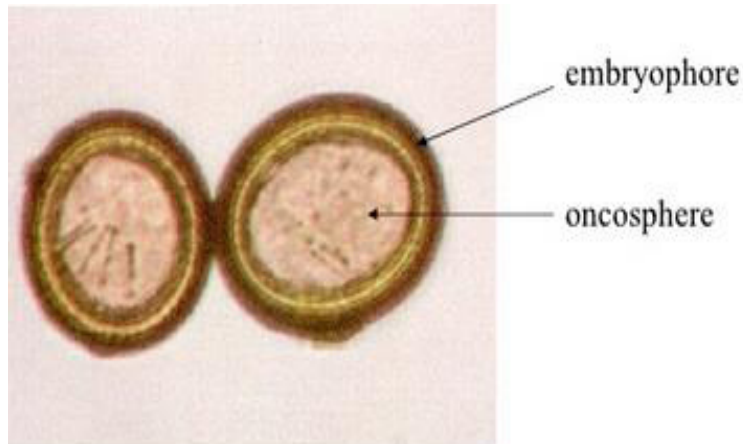


**Figure 04** : Schéma d'un ver adulte d'*Echinococcus granulosus* (Berqdiche, 2011).

### 1.5.2. L'œuf dans le milieu extérieur

Des éléments microscopiques légèrement ovulaires, de forme sphérique à ellipsoïde de 30-50  $\mu\text{m}$  sur 22-24  $\mu\text{m}$  de diamètre (Gaci, 2016), entouré d'une coque (embryophore), contenant un embryon hexacanthé (pourvu de six crochets disposés par paires) ou oncosphère, l'embryophore est un revêtement épais, dur, résistant et imperméable composé d'une protéine similaire à la kératine qui confère à l'œuf sa résistance la résistance d'œufs dans l'environnement externe et lui donne ces bandes sombres visibles au microscope. Les œufs libérés dans le milieu extérieur sont directement infestant pour l'HI. Il a une forte résistance aux substances physiques et peut continuer à infecter de 18 à 24 mois sur la surface du sol si les circonstances d'humidité sont propices, et aux agents chimiques, ils ralentissent l'éclosion, mais ne sont pas assez puissant pour tuer les embryons (figure 05) (Zaghli et Bezghoud, 2019).

## Chapitre I : L'hydatidose



**Figure 05 :** Vue microscopique d'un embryophore (Berqdiche, 2011).

### ***1.5.3. La forme kystique dans l'organe***

La larve d'*E. granulosus* est parfois appelée l'*Econococcus polymorphus* ou bien l'hydatidose, la taille varie considérablement, mais elle a généralement le volume d'une noix, atteignant souvent un volume d'orange, parfois celui de la tête d'un enfant. La forme larvaire d'*Econococcus polymorphus* est également appelée vésicule echinococcique ou hydatide, blanchâtre, sphérique avec une taille variable. Il est formé de trois couches, les deux plus internes appartiennent au parasite et la couche externe appartient à l'hôte (**figure 08**) (Kohil, 2008). On spécifie de l'extérieur vers l'intérieur :

#### ***1.5.3.1. Les parois***

Elles sont composées de trois strates, les deux couches plus internes appartiennent au parasite et la couche externe appartient à l'hôte. On classe de l'extérieur vers l'intérieur :

**a) L'adventice ou péri kyste :** elle appartient au foie : c'est du tissu hépatique refoulé par l'augmentation de volume du kyste, ce tissu est écrasé, laminé, fibrosé et calcifié.

**b) La cuticule :** c'est une membrane feuilletée, anhiste qui sert à la nutrition du kyste.

**c) La membrane proligère :** c'est une membrane blanc jaunâtre qui bourgeonne des vésicules filles de taille variable à l'intérieur desquelles il existe du liquide hydatique et des scolex (Kebir, 2015).

#### ***1.5.3.2. Les vésicules proligères***

La membrane proligère est composée des bourgeons sur sa face interne formant un sac remplie de vésicules proligères (300 à 800  $\mu\text{m}$ ), ces derniers sont en état liquide dépourvues de parois épidermiques et toujours liées à proligère de la vésicule mère à travers

## Chapitre I : L'hydatidose

---

le pédicule syncytial. Chaque vésicule bourgeonne à son tour en protoscolex (munis de ventouses et des crochets) donnant des futurs échinocoques adultes chez le chien.

### *1.5.3.3. Les vésicules filles*

#### *a) Vésicules filles exogènes :*

Elles proviennent des fragments de membrane prolifère de l'hydatide emprisonnées dans la cuticule anhiste pendant sa formation et qui se vésiculisent à leur tour et s'entourent d'une cuticule pour former des proscœlex.

#### *b) Vésicules filles endogènes :*

Elles proviennent de la vésiculation des protoscolex libres dans le liquide hydatique, constituées d'une membrane prolifère, entourées d'une couche cuticulaire qui à leur tour bourgeonnent pour produire de nombreux protoscolex (**figure 06**).



**Figure06 : Vésicules filles (Berqdiche, 2011).**

### *1.5.3.4. Le liquide hydatique*

De couleur Jaune citrin, transparent (eau de roche), il remplit et assure le maintien ; sous tension, l'hydatide, les capsules et les vésicules filles. Ce liquide provient des sécrétions de la membrane prolifère et du plasma de l'hôte, constitué d'éléments à haute propriété anaphylactique (**Berqdiche, 2011**).

### *1.5.3.5. Le sable hydatique*

D'aspect granuleux et blanchâtre sédimenté au fond de l'hydatide suite au détachement des capsules de la paroi kystique. Un kyste détient de 3 à 6 ml, chaque millilitre contenant jusqu'à 400000 scolex (**Tahiri El Ousrouti, 2012**).

## Chapitre I : L'hydatidose

---

### *1.5.3.6. Les protoscolex*

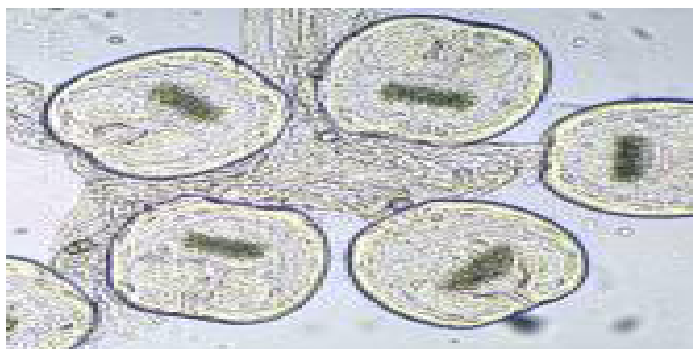
Elles sont de forme ovale de 190 à 120  $\mu\text{m}$  de diamètre tenant une paroi portant des microtriches. Les protoscolex sont fixés à la membrane proligère par un court pédoncule. . Les protoscolex sont liés à la membrane proligère par un petit pédoncule. Il y a une invagination du côté opposé de laquelle sont disposés quatre ventouses et 36 à 42 crochets (origine les microtriches) (**figure 07**) (**Zait, 2017**). Elles ont une résistance solide, même dans les cadavres des animaux : jusqu'à 8 jours à température ambiante, et pendant 3 semaines à 4° C mais les protoscolex sont facilement détruits en 70h à 15°C et en 5min par le formol et l'eau oxygénée qui sont utilisés en chirurgie pour les détruire. Ils sont d'une grande longévité de 16ans chez le cheval et jusqu'à 53ans chez l'homme (**Benammar, 2017**).

Les kystes hydatiques peuvent être:

-Fertile, contient environ des milliers de scolex, selon la taille de l'hydatide, environ 1 à 2 ans d'évolution

-Stérile, dépourvu de vésicules proligères et de vésicules filles.

-Acéphale (acéphalocyste), avec des vésicules mais sans scolex ni vésicules filles (**Bronstein et Klotz, 2005**).



**Figure07** : Sable hydatique avec des protoscolex (**Tahiri El Ousrouti, 2012**).



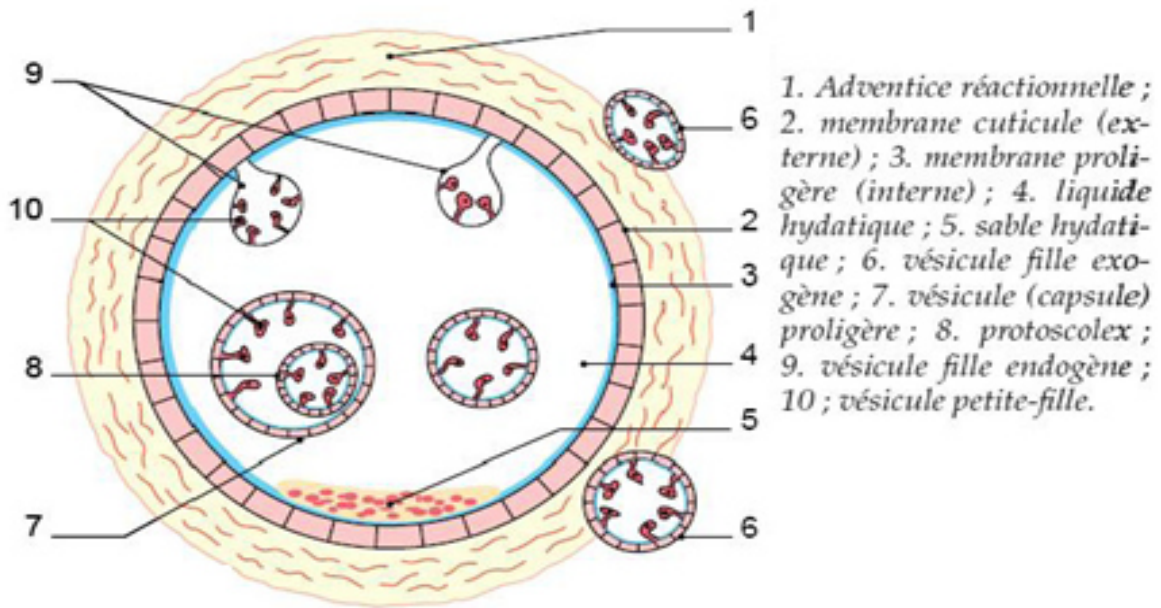


Figure 08 : Structure du kyste hydatidique (Ziouani, 2015).

### I.6. Le mode de contamination

#### I.6.1. L'hôte définitif

L'hôte définitif comme les canidés et les carnivores sauvages s'infectent en mangeant l'hôte médiateur ou en consommant seulement les viscères porteurs de kystes. C'est le cas dans les zones d'élevage rurales très parasitées où il ya encore des abattoirs locaux : les viscères des bêtes sont laissés aux chiens. C'est le cas aussi dans les pâturages à moutons où les bêtes mortes parasitées sont enterrées et les cadavres déterrés sont dévorés par les chiens (Morchid, 2019).

#### I.6.2. L'hôte intermédiaire

L'hôte médiateur s infecte en ingérant les pâturages souillés par les œufs :

- Herbe contaminé dans les pâturages
- Eau des lignes de rivières et d'abreuvoirs des animaux
- Fourrage vert incomplètement séché
- Matières fécales du chien (Issara, 2013).



# Chapitre I : L'hydatidose

---

## ***1.6.3. L'homme***

L'homme se contamine accidentellement et remplace le mouton, son infection se fait par voie digestive de deux façons :

***a) contamination directe*** : contact étroit avec les chiens parasités :

- Souillure des mains
- Caresse du pelage du chien
- Toucher le sol sale avec des excréments de chien

Par conséquent, les enfants, les vétérinaires, les bergers sont particulièrement en risque. Cela explique pourquoi la plupart des infections sont à l'âge de l'enfance.

***b) contamination indirecte*** : ingestion d'aliments souillés :

Il s'agit notamment d'aliments végétaux poussant près du sol : salade, blettes, menthe, persil... (**Issara, 2013**).

## **I.7. L'aspect clinique de l'échinococcose kystique**

### ***1.7.1. Symptomatologie***

Les symptômes de l'hydatide sont variables et ne provoquent jamais de maladie. Les symptômes chez l'homme interviennent tardivement, après plusieurs années de l'ingestion des œufs (période asymptomatique) à cause de développement lent des larves. Ces dernières développent dans différents organes (foie, poumons, cerveau, muscles, os,...) pour former une sorte de tumeur «hydatide». L'aspect clinique dépend de :

- L'organe incriminé.
- La taille du kyste et sa localisation par rapport à l'organe affecté.
- L'interaction entre le kyste hydrique et la structure de l'organe proche.
- Les complications liées à la rupture du kyste, la propagation des protoscolex, l'infection bactérienne (**Gaci, 2016**).

#### ***a) Hydatidose du foie ou kyste hydatique du foie (KHF)***

Environ dans 25% des cas le KHF est symptomatique. Brièvement, la clinique décrite se résume fréquemment à des douleurs abdominales associées ou non à d'autres symptômes (fièvre, ictère, nausées et vomissements). Les complications qui peuvent fréquemment survenir sont la rupture (dans les voies biliaires, dans le péritoine, dans la

## Chapitre I : L'hydatidose

---

plèvre), développement de fistules bronchiques ou biliaires. La rupture spontanée d'un kyste hydatique peut entraîner un choc anaphylactique, parfois mortel.

### *b) Hydatidose pulmonaire*

La symptomatologie est souvent latente des signes non spécifiques retrouvés sont la toux (51,3%), les douleurs thoraciques et l'hémoptysie et une légère dyspnée (42%) alors que le reste des patients étaient asymptomatiques (78%). Les complications possibles sont liées à la rupture du kyste hydatique entraînant une vomique hydatique (dans les bronches), un choc anaphylactique, hémoptysies (dans les vaisseaux), abcès pulmonaire.

### *c) Hydatidose cardiaque*

Les manifestations cliniques peuvent être dyspnées d'effort et palpitations, les complications sont liées à la rupture qui engendre une dissémination voir le décès.

### *d) Hydatidose cérébrale*

L'hydatidose cérébrale représente moins de 1% des localisations et prédomine chez l'enfant ainsi que chez l'adulte jeune. 65 % des kystes siègent en région pariétale ou frontale. Le kyste est souvent indolent. Les désordres neurologiques induits sont surtout à type de crises d'épilepsie ou d'hypertension intracrânienne (Zait, 2017).

## **I.7.2. Le diagnostic et le dépistage**

### *a) Le diagnostic clinique*

Le diagnostic de kyste hydatique repose avant tout sur l'imagerie médicale, l'échographie, la tomodensitométrie (TDM) et l'imagerie à résonance magnétique (IRM). Elle est utilisée dans le diagnostic de l'hydatidose quelle que soit la localisation du kyste. Elle présente l'avantage d'être non invasive et donc facilement acceptée par les populations (Makaci, 2017). L'objectif de l'imagerie est de visualiser le kyste hydatique, les vésicules filles et éventuellement le sable hydatique, les images obtenues sont fortement suggestives (Blibek, 2009).

En l'absence d'accès à l'examen direct, le sérodiagnostic est utilisé pour confirmer les résultats de l'imagerie médicale, il présente un outil important de diagnostic et de suivi post thérapeutique de l'hydatidose (Makaci, 2017).

# Chapitre I : L'hydatidose

---

## *b) Le diagnostic biologique*

Dans la plupart des cas, ce diagnostic de l'hydatidose se base sur des examens biologiques indirects.

**-L'hyperéosinophilie:** L'hyperéosinophilie n'est pas spécifique des infections parasitaires, elle se voit dans de nombreuses maladies cutanées, immuno allergiques et lors de la prise de nombreux médicament (**Bouree et Lancon, 2000**).

**-Élévation d'IgE totales:** Les cestodes causent une augmentation des IgE sériques, toutefois, leur mesure ne peut évaluer qu'indirectement la production des IgE spécifiques.

**-Evaluation biologique des effets et de l'expansion sur d'autres organes:** On peut trouver un syndrome inflammatoire (hyperleucocytose neutrophile, élévation de la VS), une augmentation des enzymes cardiaques en cas de souffrance myocardique, une altération de la fonction hépatique ou rénale en cas de localisation à ces organes (**Salehi et Soleimani et al., 2007**).

**-Les tests sérologiques :** Les tests immunologiques sont basés sur la détection des réponses immunitaires (humorales et cellulaires) de l'hôte vis-à-vis du parasite. Les réactions sérologiques sont nombreuses, leur sensibilité et leur spécificité dépendent de la valeur de l'antigène utilisé, on cite : la réaction d'agglutination, l'hémagglutination indirecte (HAI), l'immunofluorescence indirect, la technique ELISA (Enzyme linked Immunosorbent Assay) (**El Hafidi, 2016**).

### *1.7.3. Le traitement*

Dans les 20 dernières années, le traitement de la maladie hydatique a connu de vrais changements dominés par le développement de nouveaux protocoles contenant des traitements médicaux et des ponctions guidées (**Bouteldja, 2018**).

**-Le traitement chirurgical :** Chez l'homme, le traitement de l'hydatidose est connu depuis très longtemps et fait une place d'honneur à la chirurgie, avec l'ablation du kyste et d'une partie de l'organe environnant. Cette technologie n'implique que les patients en bonne condition physique ayant un seul kyste assez gros à la surface de leurs organes avec une méthode chirurgicale simple. Cependant, il existe toujours un risque de rupture du kyste au cours de la chirurgie (**Ripoche, 2009**).

**-Le traitement percutané (PAIR):** Ce traitement comprend la **ponction** percutanée des kystes par l'échographie ou le scanner, **aspirer** du liquide de kyste et l'**injection** d'un agent

## Chapitre I : L'hydatidose

---

scolicide pendant 10 à 15 min et la **ré-aspiration** du liquide. Il s'agit d'une technique mini-invasive, Comparée à la chirurgie, elle est moins risquée et généralement moins chère. Les agents scolicides les plus utilisés sont les solutions de chlorure de sodium à 25 % et l'alcool à 95 % (**Bouchbout et al., 2018**).

**-Le traitement médical :** Une introduction de mebendazole (MBZ) en 1970 et de l'albendazole (ABZ) en début de 1980 en Algérie a été considérée (**Bouteldja, 2018**). L'antihelminthique de choix actuellement est l'albendazol, la dose orale administrée est de 10 à 15 mg / kg / jour divisée en deux prises continuellement pendant trois à six mois. L'albendazol a un effet direct sur le scolex et les membranes en réduisant leur perméabilité. Son efficacité dépend de la taille du kyste ainsi que du périkyste (**Bouchbout et al., 2018**).

### I.8. La prophylaxie

L'hydatidose ne dissimule que grâce à des mesures prophylactiques sérieuses qui peuvent se mettre en place à condition de l'amélioration de vie des peuples. Ces mesures commencent par l'éducation sanitaire des personnes vivant dans les zones touchées. Les chiens perdus doivent être tués et les chiens domestiques dénombrés et vermifugés. L'abattage du bétail doit être soumis à un contrôle vétérinaire et les résidus viscéraux qu'ils contiennent l'hydatide doivent être brûlés. Les parasites exclus par les animaux doivent être détruits. L'éradication pourra être aidée dans le futur par la vaccination des hôtes médiateurs domestiques comme les bovins, les ovins, les caprins, les équidés, les suidés, les camélidés (**Klotz et Nicolas et al., 2000**).

# Chapitre II

## Chapitre II : Le chitosane

---

### II.1. Aperçu historique

Au cours des quinze dernières années, la possibilité d'une utilisation pratique de polymères organiques abondant dans la nature a suscité un grand intérêt. C'est notamment le chitosane, le dérivé désacétylé de la chitine, qui présente les propriétés les plus intéressantes (**Jeuniaux et Thomé, 1990**).

Le chitosane, décrit pour la première fois par Braconnot en 1811 et nommé par Odier en 1823. La chitine a été isolée en 1884, mais ce n'est qu'en 1930 que Zeichmeister et Zoth ont établi sa structure chimique. Jusqu'à l'année 1970, la chitine et le chitosane seront ignorés et les problèmes de pollution susciteront l'attention des gens. En effet, le rejet massif des coquilles par l'utilisation de crustacés dans les zones industrielles, incite le Massachusetts of Technology (USA) à mener des recherches sur l'efficacité de la récupération de la chitine, au même moment en Alaska, au Japon et en France, de nouvelles expériences ont été commencées (**BENAOUDA, 2018**).

Depuis 1977, quatre conférences internationales ont été organisées pour discuter de la chitine, du chitosane et de leurs applications techniques (**Jeuniaux et Thomé, 1990**).

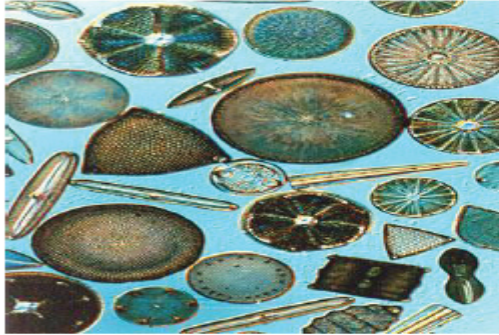
### II.2. les sources de la chitine et du chitosane

La chitine est largement répandue dans la nature (**figure 09**) et va donc constituer la principale source de chitosane. Ce biopolymère se trouve chez la plupart des invertébrés marins (sauf les éponges, les cestodes, les échinodermes et les trématodes) dans la structure cellulaire.

Chez les crustacés, la chitine représente entre 14 à 27 % du poids sec des crevettes et entre 13 à 15% de celui des crabes. De plus, chez les zooplanctons, elle représente 2 à 12 % du poids sec total suivant l'espèce. Chez les invertébrés terrestres (arachnides et myriapodes), la chitine peut représenter de 20 à 80%).

## Chapitre II : Le chitosane

Les épines de diatomées



Exosquelettes d'arthropodes



Parois cellulaires des champignons et des moisissures

Coquillages des mollusques

**Figure 09** : Sources de chitine dans la nature (Hassainia, 2018).

Elle est présente également chez certains organismes unicellulaires tels que les algues, les protozoaires et les chrysoflagelles ainsi que les champignons inférieurs tels que *Aspergillus Niger*, *Penicillium notatum* ou *Mucor rouxii* (Bornet et Teissedre, 2005).

**Le tableau 01** montre le pourcentage de la forme alpha-chitine qui varie entre 7 % chez le Barnacle (*Lepas anatifera*) à 36 % chez les écrevisses (*Astacus fluviatilis*). Parmi les céphalopodes, l'os de seiche (*Sepia officinalis*) contient 20 % de bêta-chitine et le calamar (*Loligo vulgaris*) 40 % (Hassainia, 2018).

## Chapitre II : Le chitosane

**Tableau 01 :** Tableau de pourcentage de chitine dans les êtres vivants marins d'après Tolaimate et *al.* (Hassainia, 2018)

| Sources de chitine                               | Type de chitine | Pourcentage de chitine |
|--|-----------------|------------------------|
| Anatife ( <i>Lepas anatifera</i> )               | $\alpha$        | 7                      |
| Crabe marbré ( <i>Grapsus marmoratus</i> )       | $\alpha$        | 10                     |
| Crabe rouge ( <i>Portunus puber</i> )            | $\alpha$        | 10                     |
| Araignée de mer ( <i>Maia squinado</i> )         | $\alpha$        | 16                     |
| Homard ( <i>Homarus vulgaris</i> )               | $\alpha$        | 17                     |
| Petite cigale de mer ( <i>Scyllarus arctus</i> ) | $\alpha$        | 25                     |
| Langouste ( <i>Palinurus vulgaris</i> )          | $\alpha$        | 32                     |
| Ecrevisse ( <i>Astacus fluviatilis</i> )         | $\alpha$        | 36                     |
| Crevette ( <i>Palaemon fabricius</i> )           | $\alpha$        | 22                     |
| Mante de mer ( <i>Squilla mantis</i> )           | $\alpha$        | 24                     |
| Seiche ( <i>Sepia officinalis</i> )              | $\beta$         | 20                     |
| Calamar ( <i>Loligo vulgaris</i> )               | $\beta$         | 40                     |

Le chitosane se trouve ordinairement dans les parois des zygomycètes, certaines algues vertes et dans les coquilles d'arthropodes pendant la période de mue (Chennit et Nait Yahia, 2015).



## Chapitre II : Le chitosane

### II.3. La chitine

#### II.3.1. La définition

La chitine est, après la cellulose, le polysaccharide le plus répandu dans la nature. Dans le règne animal, elle existe sous forme de composite avec les minéraux et les protéines, elle existe surtout chez les invertébrés marins composant les coquilles de crustacés et de mollusques. La chitine présente également dans l'exosquelette des insectes. Dans le règne végétal, la chitine se trouve dans la majorité des cas dans la paroi des Champignons et certaines algues vertes. Son rôle se traduit par le maintien de la rigidité de la cellule et au contrôle de la pression osmotique. La chitine est présente aussi dans certaines levures et bactéries (Djelad, 2011).

#### II.3.2. La structure

La chitine est un polysaccharide linéaire, sa structure chimique est présentée sous forme d'un enchaînement monomère N-acétyl- $\beta$ -D-glucosamines. Cet enchaînement relié par une liaison glycosidique  $\beta$ -(1-4). Sa formule chimique est poly ( $\beta$ -(1-4)-N-acétyl-D glucosamine) (Mecheddou et Barr, 2018), voir la figure suivante :

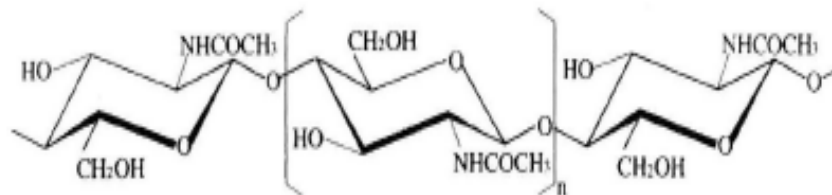


Figure 10 : La structure chimique de la chitine (Alili et Berkane, 2014).

#### II.3.3. La préparation de la chitine

Après avoir lavé les carapaces, séché puis écrasé, la poudre obtenue est utilisée pour acquérir du chitosane en suivant les étapes ci-dessous (Khorrami et al., 2012) :

##### a) La déminéralisation

La déminéralisation consiste à traiter la carapace par un acide durant 1 à 48 heures, à la température ambiante, sous agitation afin de solubiliser le carbonate de calcium et le chlorure de calcium. Les acides les plus fréquemment utilisés sont l'acide chlorhydrique et l'acide formique (Riccardo et al., 2014).

## Chapitre II : Le chitosane

---

### *b) La déprotéinisation*

Dans la situation naturelle, la chitine se trouve attachée avec les protéines (chitinoprotéine), elles sont exclues par un traitement basique, généralement en utilisant des solutions de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, NaOH, NaHCO<sub>3</sub>, KOH, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, Ca(OH)<sub>2</sub>, Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>, CaSO<sub>3</sub>, ou Na<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, la solution d'hydroxyde de sodium (10%) est la plus souvent utilisée pour dissoudre les protéines avec une proportion du solide à la solution alcaline allant 1:10 à 1:20 (m/v) est plus efficace pour dissoudre les protéines. La durée du traitement basique est de l'ordre de 0,5 à 72 heures, à haute températures (65-100°C) (**Suyatma, 2006**).

### *c) Le blanchiment*

La chitine obtenue à partir des ressources crustacées dirigée vers les applications industrielles doit être décolorée après les traitements acido-basiques. Le pigment formé dans les carapaces de crustacées avec la chitine constitue un complexe pouvant être enlevé par des réactifs comme l'éther, l'éthanol, solution d'hypochlorite de sodium, peroxyde d'hydrogène (**Debbaudt et al., 2004**).

Durant le processus de blanchiment, le réactif utilisé ne doit pas avoir un effet sur les propriétés physico-chimiques de la chitine et du chitosane, il doit être effectué pendant plus d'une heure pour obtenir un produit blanc acceptable commercialement, en utilisant l'acétone on peut aboutir à une chitine quasiment blanche (**Karan, 2002**).

## II.4. Le chitosane

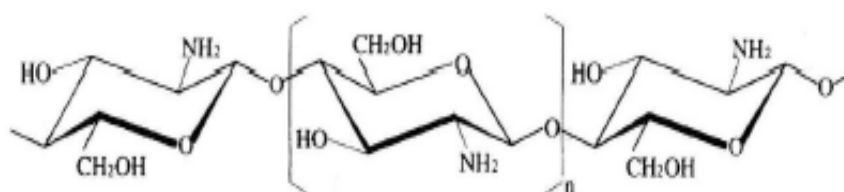
### *II.4.1. La définition*

Le chitosane est un terme général fait la référence à tous les hétéropolymères solubles dérivés de la désacétylation de la chitine. Les polymères de chitosane ont des degrés d'acétylation et des poids moléculaires très variés. On considère que le terme chitosane s'applique lorsque le degré d'acétylation ne dépasse pas 50%. Contrairement à la chitine, le chitosane est peu répandu dans l'autre mais on le retrouve particulièrement dans de la paroi cellulaire de certains mycètes comme élément de résistance contre l'attaque de certaines enzymes chitinolytiques de plantes (**Chennit et Nait Yahia, 2015**).

## Chapitre II : Le chitosane

### II.4.2. La structure

La désacétylation de la chitine en milieu basique permet la formation du chitosane qui est décrit comme un copolymère linéaire composé par deux unités (acétylée et une autre désacétylée) ; N-acétyl-D-glucosamine et D-glucosamine successivement, unies par les liaisons  $\beta$  (1-4). Sa nomenclature est comme suite : poly ( $\beta$  -(1 $\rightarrow$ 4)-2-amino-2-deoxy-D glucopyranose). La structure du chitosane se caractérise par la présence d'un groupement amine au niveau de carbone 2 (C2) et la présence de deux groupements hydroxyle au niveau de carbone 3 et 6 (C3 et C6). Ce polymère se diffère aux autres polysaccharides et à l'autre polymère naturel par ses caractéristiques poly-cationiques qui donnera un fort potentiel pour le chitosane (**Mecheddou et Barr, 2018**), voir la figure suivante :



**Figure 11** : La structure chimique du chitosane (**Alili et Berkane, 2014**).

### II.4.3. L'obtention du chitosane

La désacétylation désigne l'hydrolyse des groupes acétyles présents dans la chitine pour obtenir des groupes amines. D'habitude, la chitine est partiellement désacétylée par N'désacétylation alcaline. La désacétylation se fait habituellement par l'hydroxyde de sodium ou potassium concentré. Il y a beaucoup de facteurs de base affectant le rendement de la désacétylation, tels que la durée de la réaction, la température, la concentration d'alcalin, les traitements primitifs pour l'obtention de la chitine, l'atmosphère (air ou azote), la quantité de chitine par rapport à la solution alcaline, densité de la chitine et la taille des particules. Compte tenu de tous ces paramètres, l'objectif idéal de désacétylation est de préparer un chitosane qui est non dégradé et parfaitement soluble dans l'acide dilué (acides acétique, lactique, citrique,...) (**Haidra, 2018**).

## Chapitre II : Le chitosane

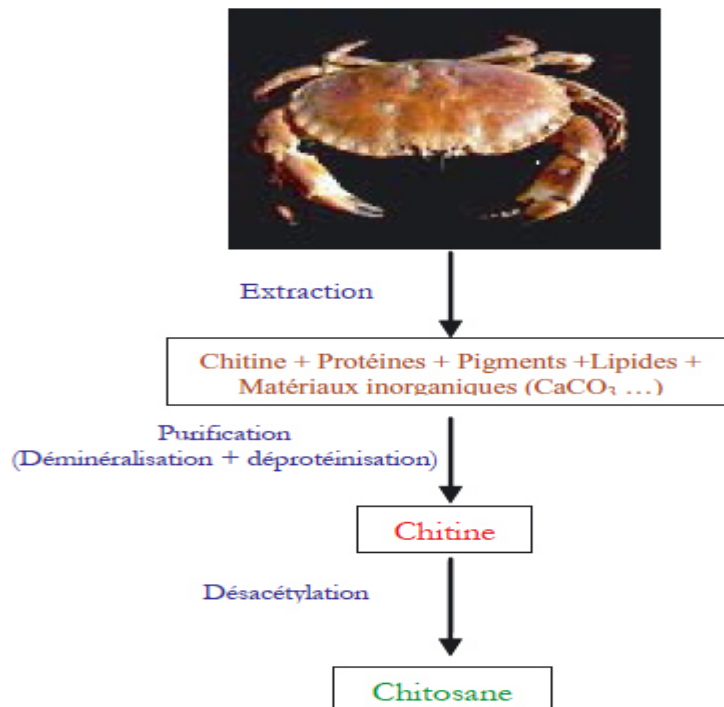


Figure 12 : Production de la chitine et du chitosane (Zemmouri, 2008).

### II.4.4. Les propriétés du chitosane

#### II.4.4.1. Les propriétés physico-chimiques

Le polymère a un caractère cationique, de masse molaire (MM) très élevée : de l'ordre de 38-500KDa. La détermination de la masse molaire peut se faire par des mesures viscosimétriques (Heraoui et Bouziani, 2017).

#### *-Le degré de désacétylation*

La distinction entre la chitine et le chitosane est fondée sur le taux de désacétylation.

Le degré de désacétylation (DDA) dit le rapport des unités amine-D-glucosamine par rapport au nombre total d'unités glycosidiques. Le paramètre DDA est extrêmement important car il influence directement sur les chaînes macromoléculaires des polymères et leur comportement en solution, à savoir: la solubilité du chitosane, la flexibilité des chaînes macromoléculaires, la conformation du polymère, et donc la viscosité des solutions (Amroun et Taharount, 2011).

## Chapitre II : Le chitosane

---

### *-La solubilité*

Le chitosane est soluble dans la majorité des solutions organiques acides, par contre, insoluble dans l'eau et dans les solutions alcalines concentrées ou diluées. L'acide le plus utilisé pour la préparation d'une solution de chitosane est l'acide acétique dilué. Généralement, le chitosane peut être complètement dissous à pH 3 et 4 où le groupe amino est protoné et le polymère chargé positivement devient soluble. D'autre part il est relativement stable en milieu acide concentré même s'il se détériore après une exposition longue.

La solubilité du chitosane dépend généralement de la valeur de DDA, du pH, de la force ionique, de la nature de l'acide utilisé et de la répartition des groupes acétyles sur le long de la chaîne macromoléculaire. Un chitosane avec un DDA supérieur à 70% est souvent utilisé.

### *-La viscosité*

La viscosité est une caractéristique essentielle du comportement du chitosane en solution, elle est liée à la configuration des chaînes macromoléculaires en solution et dépend, non seulement du DDA, du MM, mais encore du pH car ces deux paramètres déterminent la densité de charge sur la chaîne de polymère. Plus le pH est bas, plus la viscosité est élevée. La viscosité augmente proportionnellement avec le DDA car plus le degré de désacétylation du polymère est élevé plus la proportion de groupes aminés libres est élevée et plus soluble. La viscosité augmente aussi avec la concentration et elle est en fonction de la MM des chaînes macromoléculaires. Comme pour les autres polysaccharides, la viscosité chute lorsque la température augmente (**Heraoui et Bouziani, 2017**).

### *-La cristallinité*

La présence des liaisons inter et intra-chaînes et la cristallinité inhérente du polymère limitent la disponibilité et l'accessibilité des groupes amines à l'eau et aux ions métalliques. L'accès de l'eau est limité par des matériaux cristallins, ce qui frontère également la capacité du polymère à gonfler.

La cristallinité est contrôlée selon l'origine du matériau, ainsi la chitine peut exister à l'état natif sous trois formes différentes :

## Chapitre II : Le chitosane

---

-La chitine extraite de la coquille d'un crustacé est constituée des chaînes antiparallèles (chitine  $\alpha$ ) et a la structure cristalline orthorhombique.

-Cependant, les chaînes de la chitine obtenue par extraction du "squelette" de calamar, sont orientées de manière parallèle (chitine  $\beta$ ) et cristallise dans la maille monoclinique.

-Dans certains organes internes de crustacés, il a été identifié un troisième type (chitine  $\gamma$ ) d'agencement des chaînes suivant une distribution alternée (deux chaînes agencées de manière homologue la troisième étant alternée).

Le chitosane est une matière semi-cristalline, il cristallise dans le système orthorhombique et deux types de produits sont connus : le chitosane I (faible DD, est plus décousu que le chitosane II (fort DD) (Djelad, 201).

### *II.4.4.2. Les propriétés biologiques*

#### *a) Les propriétés anti-bactériennes*

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

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 (Aljawish, 2013).

Helander et al. (2001) ont montré que l'utilisation de concentrations élevées en chitosane peut affecter les bactéries à Gram négatif telles que l'*Escherichia Coli* et la *Salmonella typhimurium* (Belalia, 2006).

Dans toutes les conditions utilisées un abaissement du DA apporte un meilleur effet antibactérien. De plus, l'efficacité antibactérienne du chitosane augmente avec l'augmentation de sa masse molaire, de son degré de désacétylation et de sa concentration: le **Tableau 02** montre les concentrations minimales inhibitrices de quelques bactéries par le chitosane. Concernant l'effet du pH, l'activité antibactérienne du chitosane est plus efficace à faible valeur de pH. En effet, le chitosane et ses dérivés n'ont pas d'effet bactéricide à pH 7, dû à la présence d'une proportion importante de groupements amine non chargés et à la faible

## Chapitre II : Le chitosane

solubilité du chitosane. L'activité antibactérienne du chitosane est évaluée à pH 5,5 en mettant les cultures bactériennes à des solutions de chitosane (Aljawish, 2013).

**Tableau 02** : Concentrations minimales inhibitrices de quelques bactéries par le chitosane (Belalia, 2006)

| 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        |

Généralement, l'action du chitosane sur les bactéries Gram négatives est moins importante que celle sur les bactéries Gram positives. Ce résultat est probablement dû à des différences dans la structure de l'enveloppe cellulaire. La paroi cellulaire des bactéries à Gram négatif est constituée d'une fine couche de peptidoglycane et d'une membrane externe composée de lipopolysaccharides, de lipoprotéines et de phospholipides. Contrairement à la paroi cellulaire des bactéries Gram positif, elle est seulement constituée d'une couche dense de peptidoglycane dépourvue d'une membrane externe. Grâce à cette structure, la membrane externe joue le rôle d'une barrière impénétrable 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 (Aljawish, 2013).

### ***b) Les propriétés anti-fongiques***

Le chitosane a été apprécié pour tester la croissance de plusieurs souches fongiques (Aljawish, 2013). Le tableau suivant montre les concentrations minimales inhibitrices de quelques souches fongiques par le chitosane

## Chapitre II : Le chitosane

**Tableau 03** : Concentrations minimales inhibitrices de quelques moisissures par le chitosane  
(Aljawish, 2013)

| Moisissures                 | CMI (ppm) |
|-----------------------------|-----------|
| <i>Botrytis cinerca</i>     | 10        |
| <i>Fusarium oxysporm</i>    | 100       |
| <i>Piricularia oryzae</i>   | 5000      |
| <i>Tichoplyrton equinum</i> | 2500      |

Le mécanisme d'action du chitosane sur les souches fongiques est peu connu jusqu'à aujourd'hui. Cependant, plusieurs éléments peuvent expliquer cette procédure:

- Le chitosane peut modifier la perméabilité de la membrane cellulaire. Par exemple, la fermentation avec la levure de boulanger est inhibée par certains cations qui agissent à la surface des cellules de la levure en empêchant le passage de glucose.

- Le chitosane peut également être utilisé comme agent chélatant qui forme des complexes avec les traces des métaux inhibant la production des toxines et la croissance des champignons. Il peut également assurer certains processus de défense en dehors de la cellule, par exemple, il agit comme un agent absorbant l'eau et inhibe l'activité de distinctes enzymes.

Il est découvert que l'utilisation du chitosane à partir d'une concentration de 1 g/L réduit largement la croissance des souches fongiques suivante : *Cylindrocladium floridanum*, *Cylindrocarpon destructans* et *Fusarium oxysporum* (Laflamme *et al.*, 1999). Les résultats obtenus dans cette étude sont présentés dans le tableau suivant :



## Chapitre II : Le chitosane

**Tableau 04 :** Taux d'inhibition de quelques souches fongiques en fonction de la concentration du chitosane (Aljawish, 2013)

| Souches fongiques                     | Inhibition (%)<br>avec du chitosane<br>à 0,5 g/l | Inhibition (%)<br>avec du chitosane<br>à 1 g/l | Inhibition (%)<br>avec du chitosane<br>à 2 g/l |
|---------------------------------------|--|--|--|
| <i>Cylindrocladium<br/>floridanum</i> | 20   | 41   | 56   |
| <i>Cylindrocarpon<br/>destructans</i> | 23   | 43   | 71   |
| <i>Fusarium<br/>oxysporum</i>         | 25   | 53   | 55   |

Selon Les études faites précédemment, le chitosane est utilisé pour empêcher la croissance de certaines souches fongiques dans les aliments, telles que:

-L'effet antifongique du chitosane sur la croissance *in vitro* de champignons pathogènes dans les cerises *in vitro* (El Ghaouth et al., 1992), selon cette étude, le chitosane ( $DA \leq 7,2\%$ ) pourrait réduire la croissance radiale de *Botrytis cinerea* et *Rhizopus stolonifer*.

-La concentration de chitosane à 1 g/l peut réduire le taux de croissance de *Mucor racemosus*, tandis que la solution de 5 g/l a complètement empêché le développement de trois souches de *Byssochlamys sp.* en culture dans un milieu gélosé à 25 °C pendant 3 semaines.

-L'inhibition de la croissance de huit souches de levures à 25°C dans un jus de pomme (pH 3,4) à des concentrations de chitosane allant de 0,1 à 5 g/l (Roller et Covill, 1999) (Aljawish, 2013).

### **II.4.4.3. Les propriétés de biocompatibilité**

La biocompatibilité d'un polymère est d'une importance nécessaire dans l'utilisation thérapeutique. Le chitosane à son tour est biocompatible c'est-à-dire que son existence dans un organisme provoque des réactions inflammatoires et de rejet très limitées (propriétés immunologiques). La biocompatibilité du chitosane est définie par trois propriétés importantes : la non toxicité, la compatibilité sanguine et la biodégradabilité.

## Chapitre II : Le chitosane

---

### a) Biodégradabilité

L'hydrolase du chitosane en oligomères est fournie par des enzymes. Chez l'Homme et les mammifères, les lysozymes dégradent les liaisons (1-4) glycosidiques des unités N- acétylglucosamine en des résidus N-acétylglucosamine et D-glucosamine, métabolisés ensuite dans l'organisme. Le chitosane à 50% de DDA se dégrade facilement dans l'organisme (le sang et les tissus) ce qui évite son accumulation dans le corps.

La dégradation dépend de l'origine et des propriétés du polysaccharide (DDA, MM...). Des recherches plus poussées ont d'abord montré une élévation de la sensibilité enzymatique pour le DDA inférieure à 50%, puis augmente avec l'augmentation du DDA, et finalement il n'y a pas de dégradation pour un chitosane de DDA 97%. Cet effet de DDA est aussi observé *in vitro* (dégradation via les lysozymes) et *in vivo* (implantation sous-cutanée). Un chitosane de DDA 50 % semble donc permettre une dégradation optimale.

### b) Cytocompatibilité

La cytocompatibilité du chitosane aux fibroblastes, des kératinocytes, chondrocytes et ostéoblastes a été mis en évidence *in vitro*. Lors de cultures cellulaires sur un film de chitosane, la croissance des cellules dépend des caractéristiques et de la source du chitosane. Des travaux montrent que, quel que soit le DA (2-50 %), la mise en lien prolongée de films de chitosane avec les fibroblastes et les kératinocytes (**Yacoub, 2016**).

### II.4.5. Les modifications chimiques du chitosane

Le chitosane avec un degré de polymérisation (DP) inférieur à 20 et un poids moléculaire moyen inférieur à 3900 Da est appelé oligomère de chitosane, chitooligomères ou chitooligosaccharides.

La dépolymérisation du chitosane est effectuée par rupture de la liaison glycosidique. Plusieurs méthodes sont généralement utilisées pour la dépolymérisation de chitosane ou de la chitine (**Frem, 2014**) :

#### a) Dégradation chimique

La méthode la plus importante pour obtenir des chito-oligosaccharides (COS) est l'hydrolyse acide partielle de la chitine ou du chitosane, (**Frem, 2014**).

## Chapitre II : Le chitosane

---

### **-Via une réaction d'hydrolyse**

L'hydrolyse de la chitine ou du chitosane est réalisée en utilisant des acides tels que l'acide chlorhydrique, l'acide nitreux, l'acide phosphorique ou l'acide fluorhydrique.

### **-Via une réaction d'acétolyse**

La réaction d'hydrolyse de l'acétyle de la chitine n'est pas une réaction triviale. Même si les réactifs utilisés sont les mêmes, c'est-à-dire un mélange d'acide sulfurique et d'anhydride acétique, le rendement et la répartition des fragments dépendent largement de la forme de chitine utilisée et des conditions opératoires (température et temps de réaction). Néanmoins, cette réaction est bien documentée dans la littérature car elle permet d'obtenir chitinoooligosaccharide de chitosane en une seule étape.

### **b) Autres méthodes de dépolymérisation**

#### **-Dégradation enzymatique**

La dépolymérisation enzymatique est principalement induite par la chitinase et la chitosanase (enzymes spécifiques). Malgré leur spécificité, elles sont rarement commerciales, ce qui limite leur utilisation. Pour surmonter ce problème, il a été rapporté qu'un mélange d'enzymes avec une solubilité inférieure, comme le lysozyme, la glycanase et la lipase (enzymes non spécifiques), peut dégrader le chitosane, ce qui donne des oligomères avec un degré de polymérisation supérieur à 6 (**Frem, 2014**).

#### **-Dégradation physique**

Plusieurs méthodes physiques ont été développées pour dégrader le chitosane, telles que l'irradiation aux rayons gamma (comme le Co radioactif) et au traitement par ultrasons, cependant, le problème de la dépolymérisation incontrôlée n'est toujours pas résolu avec de telles méthodes (**Zitouni, 2013**).

### ***II.4.6. Les formes physiques du chitosane***

La différence entre le chitosane et la cellulose est qu'il s'agit d'un matériau plus transitoire et facile à modifier ce qui permet la possibilité de produire de diverses formes physiques comme les solutions ou des lyophilisats, des billes de chitosane (hydrogels, particules, microsphères, nanoparticules), des fibres, des films ou encore des membranes (**figure13**).

## Chapitre II : Le chitosane

Les différentes formes sont très utiles aux applications spécifiques surtout dans le domaine biomédical. Ainsi, il faut tenir compte de deux caractéristiques : d'une part, le chitosane n'est soluble qu'en milieu acide, et d'autre part il est inefficace pour interagir ou adsorber des molécules cationiques de fait de sa polycationicité (Crini *et al.*, 2009).



**Figure 13 :** Les différentes formes du chitosane (Cherguia et Mehdi, 2019).

### *II.4.7. L'intérêt du chitosane dans les différents domaines*

Comparé à la chitine, le chitosane a d'une faible cristallinité c'est pour cela qu'il est plus largement utilisé. Ainsi la solubilité du chitosane dans des solutions acides et la présence d'une grande proportion des groupements amines le rendent plus réactif et plus susceptible à subir des modifications chimiques.

#### *a) Domaine pharmaceutique*

La principale utilisation du chitosane dans l'industrie pharmaceutique est en tant que matériau enrobant de micro-capsules ou de micro-sphères contenant les substances à délivrer à l'intérieur de l'organisme (Amroun et Taharount, 2011). De plus, en raison de sa propriété bioadhésive, le chitosane est largement utilisé dans la vaccination comme un adjuvant par voie intraveineuse, il améliore la biodisponibilité des antigènes dans les muqueuses et stimule davantage le système immunitaire (Gogev *et al.*, 2003). Le chitosane accélère la cicatrisation des plaies, ces propriétés cicatrisantes sont également utilisées pour fabriquer des fils de structure et des dispositifs chirurgicaux utilisés comme pansement lors d'opération ou de peaux artificielles utilisables dans le traitement des grands brûlés. Des études récentes tendent à montrer que le chitosane exerce un effet bénéfique sur le

## Chapitre II : Le chitosane

---

renforcement du système immunitaire, le contrôle du niveau de cholestérol et du sucre dans le sang. Le chitosane réduit le risque d'hypertension artérielle et de cancer tout en stimulant les fonctions du foie et du système immunitaire et en régulant le transport intestinal, il possède toutes les propriétés nécessaires pour fabriquer les lentilles de contact parfaites avec un éclat visuel. Dans les crèmes dentaires, il prolonge la durée de conservation de pâte et contribue également à la régénération de gencives défectueuses (**Bellouti et Hadj djilani, 2018**).

### *b) Domaine de traitement des eaux*

Le chitosane est un bon candidat pour l'application environnementale, dans le domaine du traitement des eaux usées grâce à ses propriétés polyélectrolytes, chélatantes et complexantes, il est peut être utilisé à l'état solide et en solution. Le chitosane peut être utilisé seul ou mélangé avec d'autres coagulants comme le fer ou les sels métalliques d'aluminium. Le grand gain de l'utilisation de ce composé d'origine biologique comme agent flocculant vient du fait qu'il soit biodégradable et non toxique (**Amroun et Taharount, 2011**).

### *c) Domaine agriculture*

Le chitosane et ses dérivés sont caractérisés des propriétés antifongiques et phytosanitaires, même à des concentrations très faibles, ils créent des mécanismes de défense chez les plantes contre les Infections et les attaques parasitaires. Il est utilisé comme solution ou en couvrant la graine, il fonctionne à différents niveaux et peut renforcer le système racinaire et augmenter l'épaisseur de la tige aussi, il est utilisé comme engrais favorisant la germination et la croissance des plantes. Nous pouvons résumer l'utilisation du chitosane dans comme suite :

- Additif conservateur de fruits et de légumes.
- Agent antibactérien pour empêcher la nourriture de se gâter.
- Agent moussant dans l'industrie de boissons (**Bellouti et Hadj djilani, 2018**).

### *d) Domaine agro-alimentaire*

La chitine proportionnellement désacétylée est utilisée d'une part dans l'industrie alimentaire pour désacidifier les extraits de café, les jus de fruits ou de légumes, et d'autre part, en raison de sa capacité à fixer les micro-organismes ou les cellules fongiques dans les aliments. Le chitosane peut également séparer les particules colloïdales et dispersées des

## Chapitre II : Le chitosane

---

déchets alimentaires industriels, Grâce à sa propriété coagulante. La chitine et le chitosane peuvent être utilisés comme agents fixateurs de cellules animales, végétales, microbiennes ou d'enzymes..., afin de donner un éclat aux jus de fruits (**Hassainia, 2018**).

### *e) Domaine cosmétique*

Le chitosane forme un film à la surface de la peau qui peut lier d'autres ingrédients actifs pour la peau comme les molécules hydratantes, la crème solaire, l'acide organique, etc. La chitine présente des propriétés similaires. Cela fait d'eux de bons candidats pour des formulations de crèmes et de gels (**Cherguia et Mehdi, 2019**).

# Partie expérimentale

# 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 de l'*échinococcus granulosus* et son effet sur le fluide hydatique. Mais, à cause de la pandémie de Corona virus le stage pratique a été bloqué et nous nous trouvons obligés de voir et faire cette partie à l'aide des expériences réalisées dans la littérature.

### III.1. Matériel

#### III.1.1. Matériel biologique

##### - Les kystes hydatiques

Les kystes hydatiques ont été obtenus à partir des patients atteints de l'échinococcose kystique au niveau de deux hôpitaux.

*a) Kyste 01:* Kyste hydatique du foie d'aspect clair, récidivé, d'un homme âgé de 23 ans, recueilli au niveau de l'hôpital de Thenia- Boumerdès, le 19/02/2020, voir la figure suivante :



**Figure14 :** Liquide hydatique du foie.

*b) Kyste 02 :* Kyste hydatique du foie avec des vésicules filles, récidivé, d'une femme âgée de 65 ans, recueilli au niveau de l'hôpital de Mohammed Boudiaf - BOUIRA, le 09/03/2020, voir la figure suivante :



**Figure15** : liquide hydatique du foie avec des vésicules filles.

- *Les souches fongiques* : *P. aurantiogriseum* et *P. viridicatum*

### **III.1.2. Matériel non biologique**

- *Appareillage et équipement* :

Etuve à 37°C

Autoclave

Microscope optique à phase inversée

Spectrophotomètre

Centrifugeuse

- *Réactifs*

Chitosane fongique (FC) et chitosane commercial (CC).

Eosine à 0,1%

Formaldéhyde

Eau distillée

Solution saline

NaOH

## Chapitre III : Matériel et Méthodes

---

Acide acétique

Hcl

- *Accessoires et verreries*

- Micropipette

- Lame et lamelle

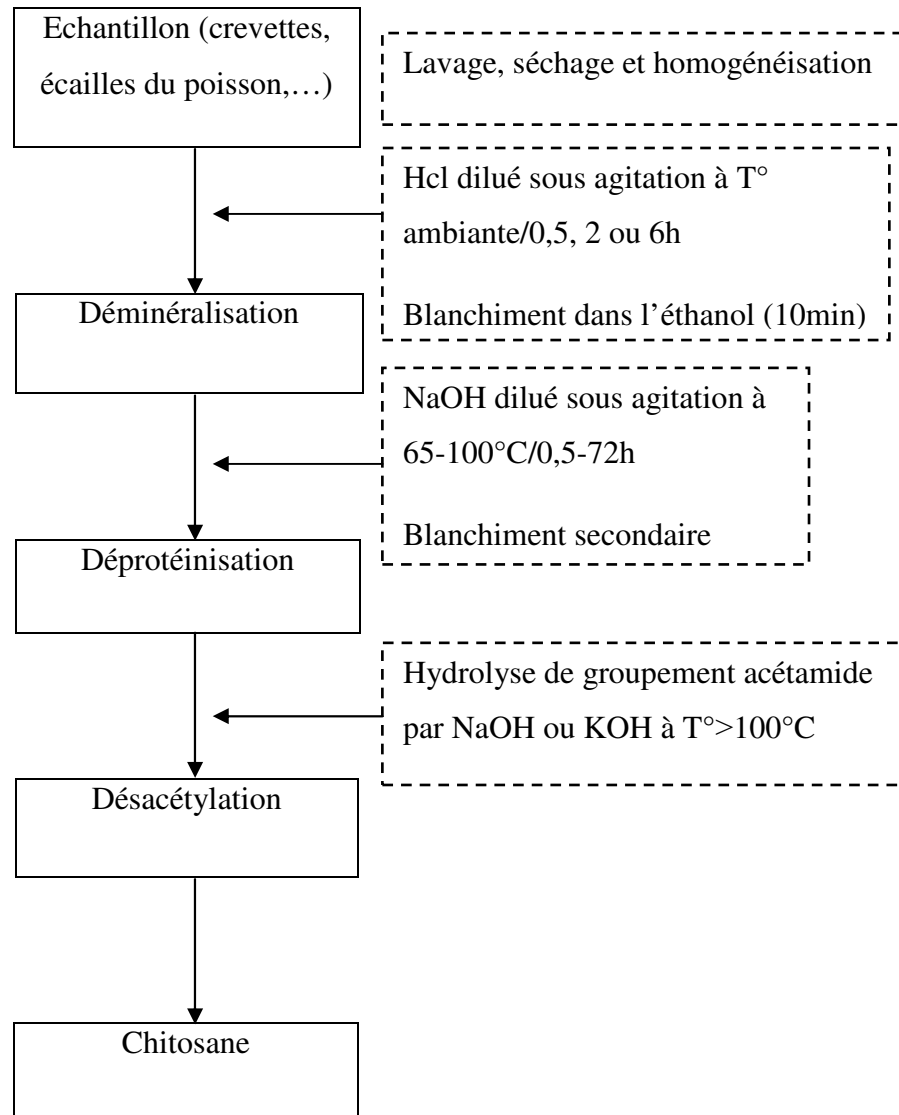
- Bechers

- Tubes à essai

### III.2. Méthodes

#### III.2.1. La méthode d'extraction du chitosane

La démarche expérimentale de production de chitosane est montrée dans l'organigramme ci-dessous.



**Figure 16** : Organigramme représentant le protocole d'extraction du chitosane (De Queiroz et al., 2017).

### *III.2.2. Test de fertilité du kyste hydatique*

Selon **Ould Ahmed Salem et al., 2011**, examiner quelques gouttes de liquide hydatique sous microscope optique pour vérifier la présence de protoscolex. Les kystes hydatiques contenant de sable hydatique (protoscolex) sont considérés comme fertiles, en revanche, ceux qui n'en contiennent pas sont considérés stériles (acéphalocystes).

### *III.2.3. Test de viabilité des protoscolex*

Selon la méthode décrite par **Zeghir-Bouteldja et al., 2009**, la viabilité des protoscolex a été déterminée par observation de leur mobilité au microscope à phase inversée et par le test d'exclusion de colorant vital : l'éosine à 0,1%. Les scolex vivants apparaissent réfringents au microscope photonique, alors que les scolex morts prennent la couleur de l'éosine.

$$\text{Taux de protoscolex morts} = n \times 100 / N$$

**N** : nombre total de protoscolex

**n** : nombre de protoscolex morts

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

### *III.2.4. L'effet scolicide du chitosane*

**Rahimi et al., 2013**, ont fait une étude sur le Traitements in vitro d'Echinococcus granulosus avec du chitosane fongique obtenu à partir de *P. aurantiogriseum* et *P. viridicatum* comme une nouvelle biomolécule.

#### *- Collection de protoscolex*

A l'abattoir de Sari, dans la province de Mazandaran, les protoscolex ont été obtenus à partir des kystes hépatiques de moutons abattus. Dans des conditions stériles, le fluide hydatique a été transféré dans un tube à essai et laissé pendant 30 minutes ensuite, les protoscolex ont été lavés 3 fois avec une solution saline puis laissés sédimenter. La viabilité des protoscolex a été évaluée par l'addition de 0,1% d'éosine sous microscope optique.

### **- Extraction de chitosane**

Le chitosane commercial de bas poids moléculaire (CC) a été acheté auprès de Fluka. Deux types de pénicillium du département de mycologie, Université agricole de Mazandarane ; *P. aurantiogriseum* et *P. viridicatum* sont utilisés comme source de chitosane fongique(FC).

La chitine fongique (FC) est désacétylée par une méthode modifiée de Rane et Hoover (1993). Après culture du mycélium fongique, la biomasse séchée a été mise en suspension dans une solution de NaOH (1 mole) et autoclavée à 121 ° C pendant 20 minutes. Les fractions alcalines non dissoutes étaient recueillies par centrifugation à 12 000 tr / min pendant 20 minutes, lavées avec de l'eau distillée, centrifugées à pH = 7 et le précipité a été extrait avec de l'acide acétique à 2%, placé à 95°C pendant 8 heures, centrifuger la suspension de particules insolubles, puis neutraliser le surnageant avec du NaOH (2 mol / L), la solution centrifugée et le chitosane précipité a été lavé avec de l'eau distillée. Le degré de désacétylation (DD) de FC et CC a été mesuré par spectroscopie FT-IR (Perkin Elmer Pergamon 781, de 4000 à 450) et le calcul proposé comme  $DD = 100 - [(A_{CO} / A_{OH}) \times 100 / 1,33]$ . Pour préparer des solutions de chitosane, chaque échantillon de chitosane préparé à partir d'espèces de *Penicillium* et CC a été dissous dans une solution d'acide acétique à 1% puis la solution a été neutralisée par 1 mole de NaOH (milieu) (Rahimi et al., 2013).

### **- Evaluation de l'activité protoscolicide**

Quatre concentrations de chitosane (50, 100, 200, 400 µg /ml) ont été préparées. Ensuite, 10 000 protoscolex lavés ont été ajoutés à 2 ml de chaque solution de chitosane et mélangées doucement. Incuber la solution mélangée à 37 ° C pendant 10, 30, 60 et 180 minutes. Ensuite, 2 ml d'éosine à 0,1% ont été ajoutés aux protoscolex, le culot a été examiné sous un microscope optique. Le pourcentage de kystes morts a été déterminé en comptant 500 kystes non traités, les kystes ont été considérés comme groupe témoin dans chaque expérience, et l'expérience a été réalisée 3 fois.

#### **III.2.5. L'effet comparatif du chitosane avec d'autres agents scolicides**

Sharafi et al., 2017 ont examiné l'effet de différents composés sur les protoscolex du kyste hydatique *in vitro* à différents temps et de concentrations ; monensin (36h), *Fæniculum vulgare* (5min), solution saline hypertonique (10min), chitosan isolé de *Penicillium viridicatum*, et de *Penicillium aurantiogriweum* et chitosane commercial (180min), eau

chaude (1 à 5min ), extrait métallonique d'*Allium sativum* (10min), Ajowam(*Trachyspermum ammi*) huile essentielle (60min) ...

### ***III.2.6. L'effet du chitosane sur le kyste hydatique***

Selon **Azadi et al., 2018**, le but de la présente étude était de solidifier le liquide du kyste hydatique avec un hydrogel injectable et thermosensible chitosane (CS) / carboxyméthylcellulose (CMC) /  $\beta$ -glycérol phosphate (BGP) *in vitro* pour contrôler les déversements lors de l'aspiration des kystes hydatiques.

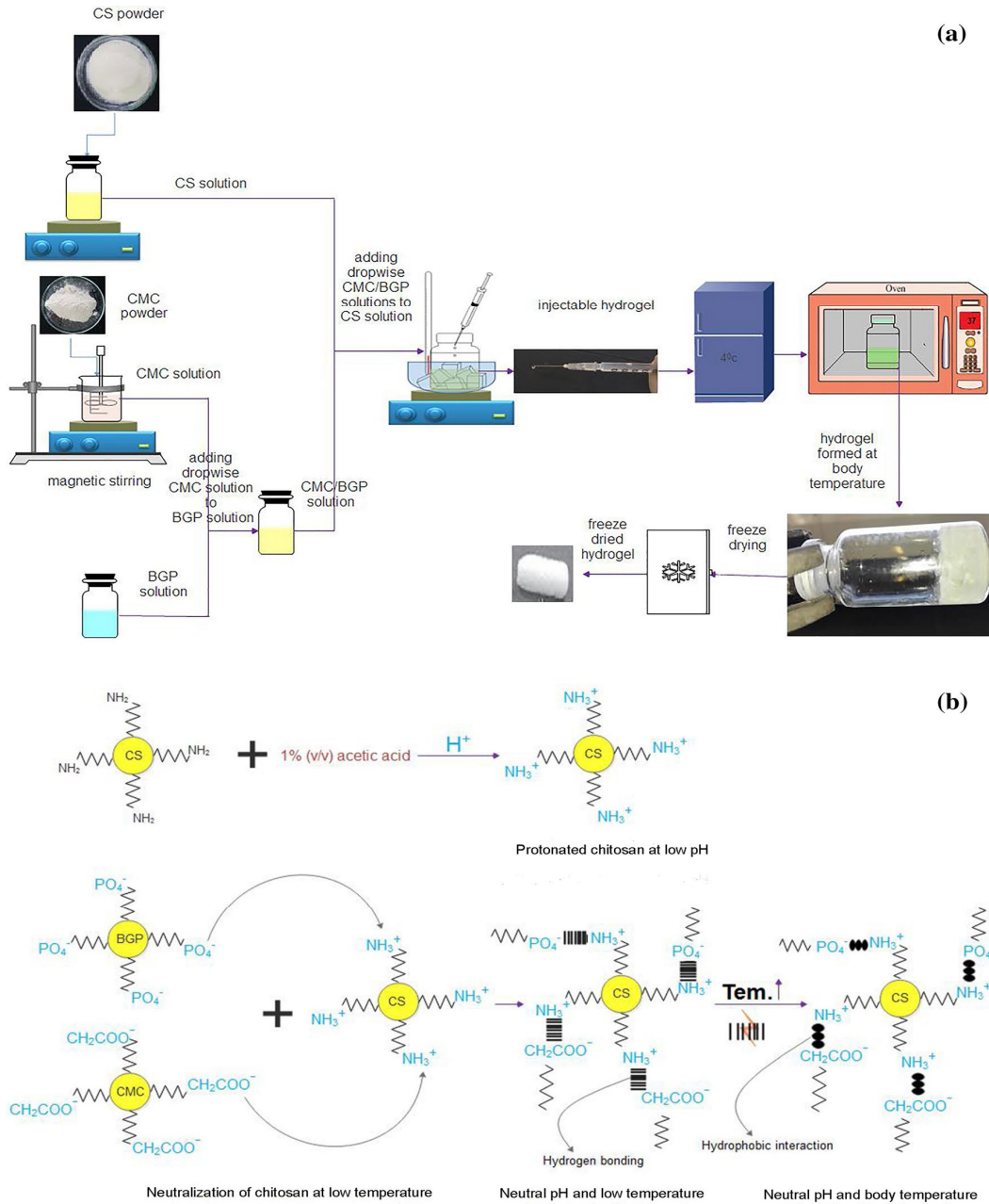
Le liquide hydatique a été aspiré de kystes hydatiques obtenus à partir de foies de moutons abattus à l'abattoir local, centrifugé à 1000g à 4 °C pendant 30 minutes, le surnageant a été retiré et conservé à - 70 °C Avant utilisation.

La solution CS/ CMC / BGP a été injectée avec une aiguille à insuline avec un rapport de 1: 3 (1 ml de solution de polymère pour 3 ml de fluide hydatique) à 37 ° C.

#### ***- Préparation d'hydrogel thermosensible à base du chitosane***

Une série de poudres de chitosane a été dissous dans 1% (v / v) d'acide acétique à température ambiante et agité pendant la nuit par agitation magnétique jusqu'à ce qu'une solution homogène a été observée et réfrigérée dans un bain de glace à 4 °C pendant 30 min. Différentes solutions de carboxyméthyl cellulose (CMC) ont été préparées par dispersion progressive dans l'eau chaude. La dissolution de la CMC a été obtenue par stockage dans un réfrigérateur (4 ° C) pendant 1 jour avant utilisation. Différentes solutions de  $\beta$ -glycerol phosphate (BGP) ont été ajoutées aux solutions de CMC mélangé et refroidi pendant 30 min, les solutions CMC / BGP ont été ajoutées goutte à goutte aux solutions du chitosane (CS) en refroidissant dans un bain de glace sous agitation magnétique pendant 20 min. Les solutions résultantes ont été maintenues à 4 °C pour d'autres études et les valeurs de pH final ont été déterminées à l'approche de la neutralisation à l'aide d'un pH-mètre. Les solutions finales comprenaient CS (1 à 2%), CMC (0,8 à 1,6%) et BGP (2 à 5,9%), la figure suivante montre le protocole expérimental :

# Chapitre III : Matériel et Méthodes



**Figure 17 : a.** Protocole expérimentale de la synthèse de l'hydrogel thermosensible. **b.** Schéma de mécanisme de formation de gel (Azadi *et al.*, 2018).

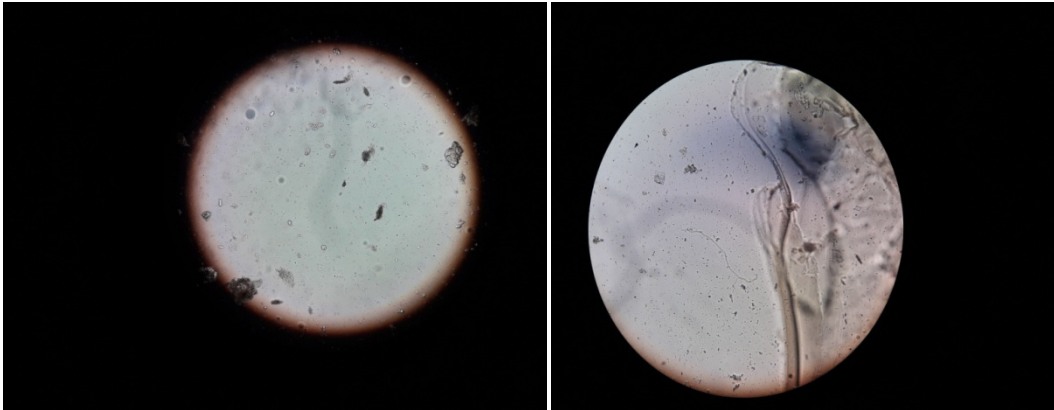


# Résultats et discussion

### IV. Résultats

#### *IV.1. Test de fertilité des kystes hydatiques*

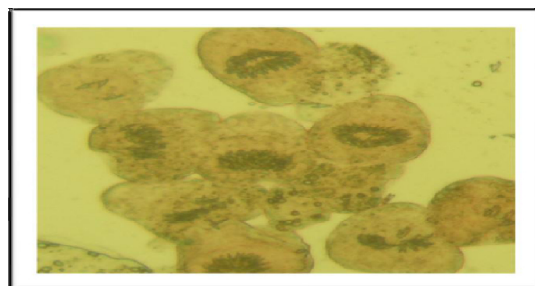
Les kystes recueillis de l'hôpital de Boumerdès et Bouira ont été examinés sous microscope optique au niveau de laboratoire de la recherche de faculté SNVST- Bouira, les résultats montrent l'absence totale des protoscolex dans le liquide hydatiques donc, les kystes sont considérés comme stériles ou acéphalocystes, voir la figure suivante :



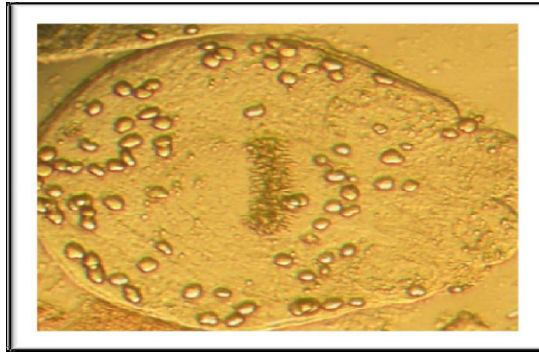
**Figure 18** : Liquide hydatique du kyste 02 observé sous microscope optique au Gx10 (photographie originale)

#### *IV.2. Test de viabilité des protoscolex*

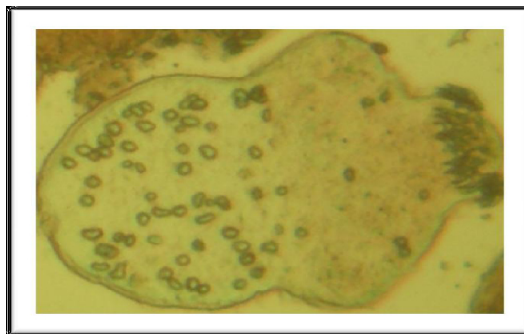
Selon l'étude de **Blibek, 2009**, l'éosine à 0,1% a la propriété de se diffuser à travers la membrane du protoscolex mort qui devient ainsi coloré en orange (**figure 19**). Par contre, lorsque le protoscolex est vivant, sa membrane est imperméable au colorant et apparaît réfringente au microscope photonique. 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 (**figure 20 et 21**) par rapport au protoscolex morts qui sont immobiles et montrent une altération de la double couronne de crochets et une irrégularité de la membrane.



**Figure 19** : Protoscolex morts (Gx20)



**Figure 20** : Protoscolex vivant invaginé (Gx40)



**Figure 21** : Protoscolex vivant dévaginé (Gx40)

### *IV.3. Evaluation de l'effet scolicide du chitosane*

L'activité scolicide de FC et CC à différentes concentrations (50, 100, 200, 400 µg / ml) après 10, 30, 60 et 180 min de temps d'exposition par rapport au groupe témoin sont présentés dans les tableaux suivants :

**Tableau 05** : Effet scolicide de différentes concentrations de chitosane préparé à partir de *P. viridicatum* sur le taux de mortalité des protoscolex de kyste hydatique à divers temps d'exposition (**Rahimi et al., 2013**)

| Temps d'exposition (min) | Concentrations (µg /ml) |     |     |     |                    |
|--------------------------|-------------------------|-----|-----|-----|--------------------|
|                          | 50                      | 100 | 200 | 400 | Groupe de contrôle |
| 10                       | 7                       | 9   | 19  | 27  | 7                  |
| 30                       | 26                      | 35  | 47  | 58  | 7                  |
| 60                       | 47                      | 56  | 66  | 71  | 8                  |
| 180                      | 63                      | 76  | 86  | 100 | 9                  |

## Chapitre IV : Résultats et Discussion

**Tableau 06 :** Effet scolicide de différentes concentrations de chitosane préparé à partir de *P. aurantiogeriseum* sur le taux de mortalité des protoscolex de kyste\_hydatique à différents temps d'exposition (**Rahimi et al., 2013**)

| Temps d'exposition (min) | Concentrations (µg /ml) |     |     |     |                    |
|--------------------------|-------------------------|-----|-----|-----|--------------------|
|                          | 50                      | 100 | 200 | 400 | Groupe de contrôle |
| 10                       | 5                       | 7   | 19  | 28  | 7                  |
| 30                       | 15                      | 25  | 41  | 46  | 7                  |
| 60                       | 49                      | 53  | 62  | 70  | 8                  |
| 180                      | 79                      | 76  | 83  | 100 | 9                  |

**Tableau 07 :** Effet scolicide de différentes concentrations de chitosane commercial sur le taux de mortalité des protoscolex du kyste hydatique à différents temps d'exposition (**Rahimi et al., 2013**)

| Temps d'exposition (min) | Concentrations (µg /ml) |     |     |     |                    |
|--------------------------|-------------------------|-----|-----|-----|--------------------|
|                          | 50                      | 100 | 200 | 400 | Groupe de contrôle |
| 10                       | 8                       | 11  | 16  | 29  | 7                  |
| 30                       | 33                      | 39  | 51  | 59  | 8                  |
| 60                       | 60                      | 63  | 69  | 78  | 9                  |
| 180                      | 89                      | 93  | 97  | 100 | 9                  |

Le DD maximum a été obtenu par CC (54%) et le minimum était de 47,4% pour *P. viridicatum* et *P. aurantiogeriseum* respectivement. En outre, le protoscolex mort après le traitement au chitosane est indiqué dans **la figure 23**. L'efficacité de degré de désacétylation dans la toxicité du chitosane sur kyste hydatique est illustrée à **la figure 24**. Le kyste hydatique était sensible après traitement dans tous les concentrations, le protoscolex était plus sensible au CC que FC cependant, le CC à la plus faible concentration a indiqué un taux de mortalité le plus élevé.

## Chapitre IV : Résultats et Discussion

---

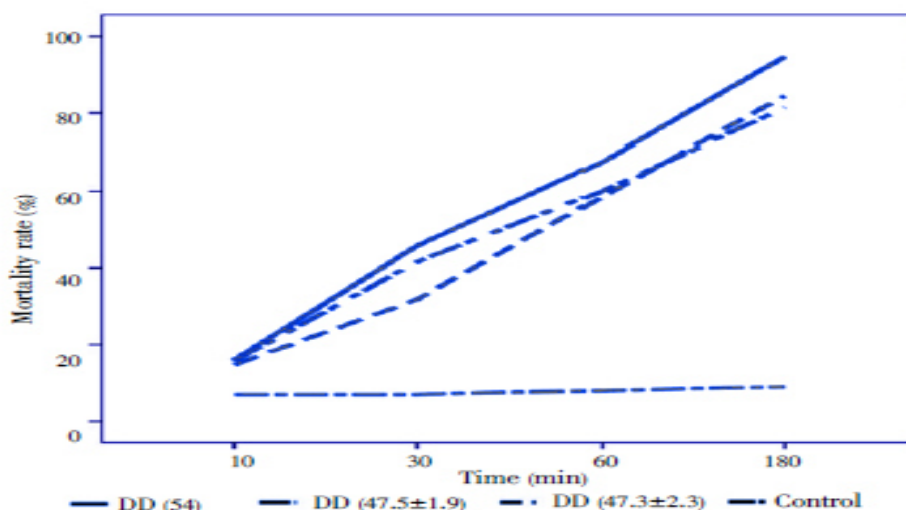
Le résultat de cette étude a démontré que l'effet scolicide à toutes les concentrations de CC et FC montre une différence significative par rapport aux groupes témoins ( $P = 0,033, 0,018, 0,008, 0,006$ ). Aussi, l'activité scolicide de CC et FC après 30, 60 et 180 min était significatif par rapport aux groupes témoins ( $P = 0,016, 0,001, 0,001$ ), mais ce n'était pas significatif après 10 min. Il faut une concentration de 100  $\mu\text{g} / \text{ml}$  de FC et CC après 60 min pour réduire environ 50% des protoscolex viables. Le CC avec DD plus élevé (54%) a montré le taux de mortalité plus élevé par rapport au FC variant de 89% à 100% après 180 min de temps d'exposition à toutes les doses utilisées de chitosane. Le taux de mortalité maximum (100%) a été atteint à 400  $\mu\text{g} / \text{ml}$  après 180 minutes d'exposition.



**Figure 22 :** Protoscolex viables sans colorant absorbé (groupe témoin) (Rahimi et al., 2013)



**Figure 23 :** Protoscolex morts avec colorant absorbé (après traitement au chitosane) (Rahimi et al., 2013)



**Figure 24 :** Effet du DD sur le taux de mortalité des protoscolex (Rahimi et al., 2013).

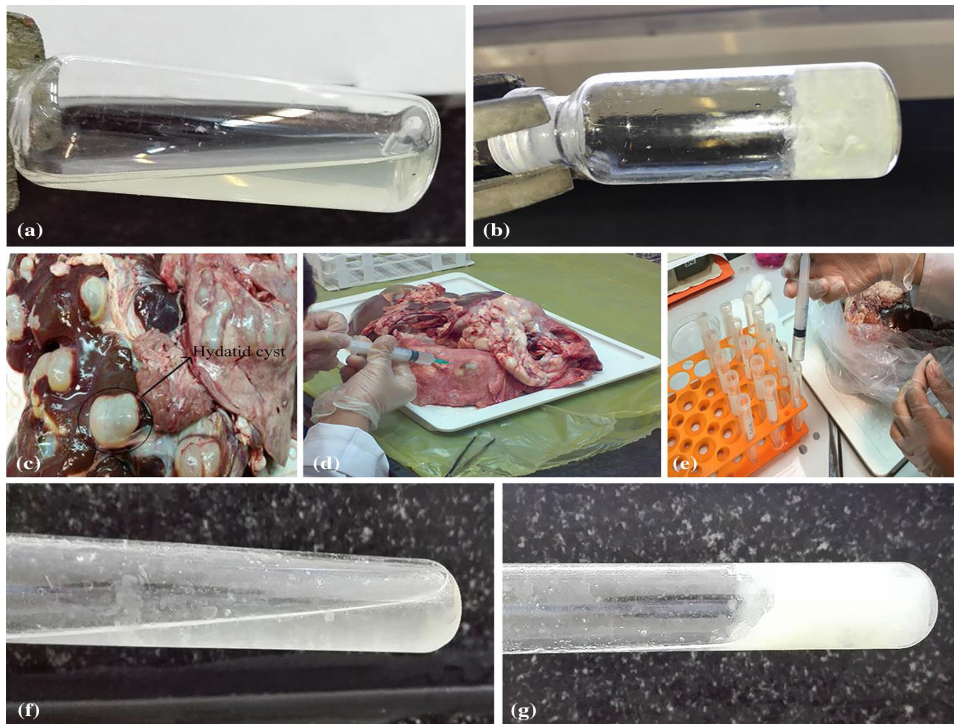
#### IV.4. La comparaison de l'effet du chitosane avec d'autres agents scolicides

**Tableau 08 :** Effet de différents agents scolicides sur les protoscolex du kyste hydatique de l'*E. granulosus in vitro* (Sharafi et al., 2017)

| Agent scolicide   | Concentration           | Temps                                 | Résultats   |
|---|-------------------------|---------------------------------------|---|
| <i>Foeniculum vulgare</i>   | 1 mg/ml                 | 5 min                                 | 100 %   |
| Solution saline hypertonique  | 20 %                    | 10 min                                | 100 %   |
| Chitosane fongique isolé de <i>Penicillium viridicatum</i> , <i>Penicillium aurantiogriseum</i> et chitosane commercial | 50, 100, 200, 400 µg/ml | 10, 30, 60, et 180 min respectivement | Le chitosane commercial avait le degré d'activité scolicide le plus élevé |
| Eau chaude  | 50°C, 55°C et 60°C      | 1, 2, 5 min                           | 100 %   |
| Extrait métallonique d' <i>Allium sativum</i>   | 50mg/ml                 | 10 min                                | 100 %   |
| Huile essentielle Ajowan ( <i>Trachyspermum ammi</i> )  | 5mg/ml                  | 60 min                                | 100 %   |
| Monensin  | 10 µm                   | 36h                                   | 100 %   |

### IV.5. L'effet du chitosane sur le kyste hydatique (solidification du liquide hydatique)

Les résultats ont révélé que la solidification a eu lieu moins de 45 min à 37 °C (**figure 25**). Les tests de cytotoxicité sur les fibroblastes *in vitro* ont montré que la solution de polymère était non toxique. Par conséquent, les auteurs estiment que le mélange CS / CMC / BGP a un grand potentiel en tant qu'hydrogel injectable (**Azadi et al., 2018**).



**Figure 25** : a Solution du polymère de CS/CMC à 4°C avec un ratio de 1,75/1,4 et BGP (2.9%). b Gel formé à 37°C. c Foie atteint de l'hydatidose. d Fluide hydatique aspiré. e Fluide hydatique stérilisé. f Solution du polymère injecté au fluide hydatique (1 :3) de CS/CMC avec un ratio de 1,75/1,4 et BGP (2.9%) à 25°C. g Fluide hydatique solidifié à 25°C (**Azadi et al., 2018**)

### IV. Discussion

La chimiothérapie, la chirurgie et la ponction avec aspiration sont les trois traitements traditionnels des kystes hydatiques hépatiques. Comme le vidage du contenu du kyste hydatique est une cause majeure de retour, il est recommandé d'inactiver les protoscolex avec un agent protoscolicide avant la chirurgie; actuellement, les dérivés du benzimidazole et le mébendazole sont les médicaments les plus utilisés pour la gestion des kystes hydatiques et ils ont réussi dans de nombreux cas. Cependant, comme d'autres agents chimiques, le mébendazole a des effets secondaires dont la toxicité hépatique ou la mauvaise absorption.



## Chapitre IV : Résultats et Discussion

---

Cette étude visait à réduire le risque élevé de problèmes et récidive pendant la chirurgie. La chitine et le chitosane sont des polymères basiques à un large éventail d'utilisations, principalement utilisés dans la préparation de biomatériaux médicaux, ces propriétés, ainsi que le profil de toxicité très sûr, la biodégradabilité et la biocompatibilité font du chitosane un excitant et excipient prometteur pour l'industrie pharmaceutique pour des applications actuelles et futures. Afin de réduire les mauvais effets de l'utilisation du chitosane, des tests de toxicité sont nécessaires, de nombreuses recherches ont été faites pour trouver sa toxicité. Il est approuvé pour des applications diététiques dans le Japon, Italie et Finlande que le chitosane est considéré comme un polymère non toxique, biologiquement compatible. Dans cette étude, c'est la première fois que le chitosane fongique est utilisé comme un agent antiparasitaire et les résultats à différentes concentrations (50, 100, 200, 400 µg / ml) après 10, 30, 60 et 180 min de temps d'exposition ont montré un effet protoscolicide élevé du chitosane par rapport au groupes témoins. Le taux de mortalité maximal (100%) était atteint à une concentration de 400 µg / ml après 180 min de temps d'exposition. L'expérience parallèle a montré que le chitosane à la concentration la plus élevée (1 250 µg / mL) et le temps d'exposition (360 min) pourrait arrêter la viabilité de *Trichomonas gallinae* complètement. Communément, le chitosane le plus dégradé sert un meilleur effet inhibiteur sur *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, *Saccharomyces unisporus*, *Saccharomyces bayanus* et *Porphyromonas gingivalis*. FC et CC semblaient plus efficaces contre le contenu du kyste hydatique plutôt que les composants à base de plantes que discuté ci-dessus à la concentration la plus faible (0,02%) servi un meilleur effet destructeur sur les protoscolex (200 µg / ml après 180 min, 83%, 86% et 96%, respectivement). Les résultats ont indiqué qu'avec l'augmentation de la concentration du chitosane et le temps d'exposition, la viabilité des kystes hydatiques est diminuée. Le DDA comme paramètre principal pourrait réduire le temps d'exposition avec l'action prolongée, quand le DDA de CC était de 54%, l'activité protoscolicide du chitosane était à son point supérieur, tandis que le CF de *P. viridicatum* et *P. aurantiogriseum* avec 47,5% et 47,3% de DDA a indiqué un effet protoscolicide plus faible que le CC, cependant, il n'y a pas de différence significative entre CC et FC. Uchida et al., a constaté que le chitosane avec DDA plus élevé était plus efficace pour inhiber les champignons et les bactéries. Il y a une corrélation entre les effets antiparasitaires et le contenu des groupes amino protonés dans les structures du chitosane cela est peut être attribué à l'existence de groupes NH<sub>3</sub><sup>+</sup> nommé DDA. Ce paramètre a augmenté la charge positive de la molécule de chitosane qui interagit avec la charge négative de la membrane plasmique du parasite, bouleversant la membrane cellulaire et favorisant la fuite du



## Chapitre IV : Résultats et Discussion

---

constituant intracellulaire. Pour administrer du chitosane en combinaison avec d'autres agents, il pourrait réduire la résistance aux médicaments, les complications, et obtenir des périodes de traitement beaucoup plus courtes. En conclusion, les données obtenues ont clairement démontré que le chitosane dérivé de champignons et commercial était protoscolicidal *in vitro*. Le chitosane en tant que naturel cationique, polysaccharide et biopolymère a démontré qu'il est sans danger pour les cellules des mammifères. Par conséquent, le chitosane a été reconnu comme un bon candidat parmi les agents protoscolicidiques naturels. De plus, le chitosane est couramment disponible, facile à préparer et peu coûteux. Par conséquent, cela peut être prometteur pour la maladie hydatique, cependant, l'efficacité *in vivo* de chitosane sur les hydatides et les effets secondaires possibles complètent d'enquête **(Rahimi et al., 2013)**.

Les agents qui ont dans un temps minimum et une concentration minimale une activité scolicide 100% pourraient être de bons candidats pour de plus amples enquêtes. Dans ce contexte, il a été montré que la *Fœniculum vulgare*, solution saline hypertonique, eau chaude tuent tous les protoscolex à une durée qui ne dépasse pas 10min. Donc ces composés peuvent être utilisés comme agents protoscolicidiques, Les autres agents comme Monensin, Ajowan (*Trachyspermum ammi*) huile essentielle, le chitosane isolé de *Penicillium viridicatum* et de *Penicillium aurantiogriseum* et le chitosane commercial ayant des activités protoscolicidiques 100% mais il faut beaucoup de temps pour montrer leurs effets. Par conséquent, ils ne pouvaient pas être considérés comme des candidats à utiliser dans la pratique **(Sharafi et al., 2017)**.

La solution polymère de CS / CMC / BGP avec CS / CMC avec un rapport de 1,75 / 1,4 a été injecté dans le fluide hydatique (1 ml de solution polymère à 3 ml de fluide hydatique) pour atteindre une concentration finale de 2,9% pour BGP pour solidifier HCF.

La solidification a eu lieu pour environ 45 min à 37 ° C ce qui semble raisonnable, mais quelques modifications pour raccourcir le temps de gélification de fluide hydatique sont nécessaires. Le temps de gélification plus long pourrait être lié à la nature physico-chimique du fluide du kyste hydatique. L'hydrogel avait une structure poreuse et le comportement viscoélastique a montré que l'hydrogel préparé avait une transition de phase de sol – gel près de la température corporelle. Résultats d'absorption d'eau a montré qu'un gonflement appréciable avec une bonne résistance était obtenu.

## Chapitre IV : Résultats et Discussion

---

Explorer et avoir les propriétés du fluide hydatique ainsi que le type d'ions de sel et la concentration en sel dans le fluide hydatique contribueraient en effet à réduire le temps de solidification du HCF, parce que les comportements de gélification des polymères thermosensibles sont affectés non seulement par la concentration en polymère, mais type d'ions en solution aqueuse (**Azadi et al., 2018**).

# Conclusion

## Conclusion

---

Cette étude constitue une contribution à la mise en évidence de l'implication du chitosane dans la lutte anti-hydatique. En effet, les résultats soulignent le rôle effecteur du chitosane fongique et commercial dans l'affection de la viabilité des protoscolex. Ainsi, l'hydrogel synthétisé à base de chitosane a montré un effet solidifiant de fluide hydatique.

Les résultats montrent que le chitosane fongique isolé de *Penicillium viridicatum*, *Penicillium aurantiogriseum* et le chitosane commercial affectent la viabilité des protoscolex à 100% à une concentration de 400µg/ml (180 min) et présente un effet solidifiant du fluide hydatique en association avec d'autres composés sous forme d'un hydrogel à une concentration de CS (1,75%) / CMC (1,4%) / BGP (2,9%) (45min).

A regard global de ces résultats, cette étude sera une ouverture vers le développement de nouveaux agents scolicides pouvant être utilisés dans les techniques préconisées dans le traitement chirurgicale de la parasitose afin de prévenir les récurrences et d'empêcher la survenue d'échinococcose secondaire due à la dissémination de vésicules ou de protoscolex.

En perspective, il serait important :

- D'explorer le chitosane comme traitement *in vivo* chez l'homme après avoir testé sa toxicité.
- De valoriser les déchets pour obtenir de nouvelles molécules impliquées dans la lutte contre la parasitose.
- D'associer le chitosane avec d'autres molécules afin d'augmenter l'efficacité en réduisant le temps d'exposition.

# Références bibliographiques

## Références bibliographiques

---

### A

Abulaihaiti, M., Wu, X. W., Qiao, L., Lv, H. L., Zhang, H. W., Aduwayi, N., ... & Peng, X. Y. (2015). Efficacy of albendazole-chitosan microsphere-based treatment for alveolar echinococcosis in mice. *PLoS neglected tropical diseases*, 9(9).

Akebour, K. (2015). Localisations rares du kyste hydatique, expérience du service de radiologie Mohammed VI Marrakech. *Universite Cadi Ayyad, Faculte De Medecine Et De Pharmacie Marrakech*.

Aliane, A., & Atilous, M. (2017). *Kyste hydatique du foie* (Doctoral dissertation, Université de Béjaïa).

Alili, F., Berkane, M. (2014). *Optimisation du procédé de modification de la bentonite sodique par le chitosane* (Doctoral dissertation, Université de Béjaïa).

Aljawish, A. (2013). *Fonctionnalisation enzymatique de chitosane par des composés phénoliques: évaluation des propriétés biologiques et physico-chimiques de ces nouveaux biopolymères* (Doctoral dissertation).

Amroun, D., & Taharount, K. (2011). *Production et utilisation des chitosanes dans les procédés de coagulation-floculation* (Doctoral dissertation, UMMTO).

Azadi, M. D., Hassanjili, S., Zarrabi, K., & Sarkari, B. (2018). Solidification of hydatid cyst fluid with an injectable chitosan/carboxymethylcellulose/ $\beta$ -glycerophosphate hydrogel for effective control of spillage during aspiration of hydatid cysts. *Progress in Biomaterials*, 7(1), 35-54.

### B

Belalia, R. (2006). *Synthèse d'un biocide par modification chimique de chitosane* (Doctoral dissertation, Université de Bordeaux 1).

BENAMMAR, Y. (2017). *L'infestation parasitaire chez les ruminants au niveau de l'abattoir de Berrouaghia wilaya de Medea* (Doctoral dissertation, INSTITUT DES SCIENCES VÉTÉRINAIRE-université blida 1).

## Références bibliographiques

---

BENAOUDA, D. Y. *SYNTHESE ET CARACTERISATION DES BASES DE SCHIFF GREFFEES SUR LE CHITOSANE* (Doctoral dissertation, 16-05-2018).

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).

Bornet, A., & Teissedre, P. L. (2005). Intérêt de l'utilisation de chitine, chitosane et de leurs dérivés en œnologie. *J. Int. Sci. Vigne Vin*, 39(4), 199-207.

Bourée, P., & Lançon, A. (2000). Diagnostic d'une hyperéosinophilie sanguine. *Revue Française des Laboratoires*, 2000(321), 67-71.

Bouteldja, R. (2018). *Etude des effets du monoxyde d'azote in vivo, in vitro et in situ au cours des localisations fréquentes et rares de l'hydatidose" apport de l'analyse protéomique du liquide hydatique"* (Doctoral dissertation).

Bronstein, J. A., & Klotz, F. (2005). Cestodoses larvaires. *EMC-Maladies infectieuses*, 2(2), 59-83.

### C

Chennit, M., & Djidjelli, H. (2015). *Elaboration d'un composite à base de chitosane, le polyacide lactique et cloisite 30b par voie fondue* (Doctoral dissertation, Université de Bejaia).

Cherguia, S., & Mehdi, H. (2019). Elaboration du chitosane à partir de la chitine de crevette rouge *Aristeus antennatus* (Risso, 1816) Appliqué à l'adsorption du Bleu de Méthylène.

Coquery, C. (2018). *Fonctionnalisation du chitosane: vers un nouveau revêtement biosourcé pour la protection des métaux contre la corrosion* (Doctoral dissertation, Montpellier, Ecole nationale supérieure de chimie).

Crini, G., Badot, P. M., & Guibal, E. (2009). Chitine et chitosane: du biopolymère à l'application: Presses Univ.

### D

## Références bibliographiques

---

Debbaudt, A.L.Ferreira,M.L. Gschaidner,M.E. *Theoretical and experimental study of M2 adsorption on biopolymers III, Comparative Kinetic pattern of Pb, Hg and Cd.*(2004). Carbohydrate Polymers, 56, 321-332.

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.

DJELAD, A. (2011). Préparation des matériaux composites Chitosane-Zéolithes: Application dans l'adsorption du cuivre (Doctoral dissertation, Université d'Oran1-Ahmed Ben Bella).

Dumont, M. (2016). *Élaboration et caractérisation de fibres mixtes Alginate/Chitosane* (Doctoral dissertation).

### **E**

EL HAFIDI, N. (2016). *kyste hydatique rénal chez l'enfant: Actualités thérapeutiques et revue de la littérature. À propos de 7 cas* (Doctoral dissertation).

Er Raji, I. (2009). Kyste hydatique du poumon (A propos de 100 cas).

Essabti, F. (2018). *Mise en œuvre de nanocomposites à matrice chitosane pour renforcer l'imperméabilité aux gaz de films d'emballage alimentaire* (Doctoral dissertation).

### **F**

Fatima, B. (2018). Préparation de chitosane à partir des carapaces de crevettes: étude et caractérisations.

Frem, D. (2014). *Catalyse organique énantiosélective par des oligomères bien définis de chitosane* (Doctoral dissertation, Paris 11).

### **G**

GACI, S. (2016). *Situation épidémiologique de l'hydatidose humaine et animale à la wilaya de Bouira et la contribution des abattoirs à sa dissémination* (Doctoral dissertation, INSTITUT DES SCIENCE VETERINAIRE-université blida 1).



## Références bibliographiques

---

Gogev, S., Versali, M. F., & Thiry, E. (2003). Les chitosanes–nouveaux adjuvants pour la vaccination par voie muqueuse chez les animaux. *Ann. Méd. Vét.*, 147, 343-350.

### *H*

Haidra, F. (2018). Préparation de chitosane à partir de crustacés locaux et son emploi dans la coagulation-floculation de suspensions de bentonite.

HALLEUX, D., Juriens, I., Delwaide, J., FRIPPIAT, F., LEONARD, P., BLETARD, N., & DETRY, O. (2018). Prise en charge multidisciplinaire d'une volumineuse hydatidose hépatique. *Revue Médicale de Liège*, 73(2), 65-71.

HASSAINIA, A. (2018). *OBTENTION DU BIOPOLYMERE «CHITINE» A PARTIR DU CHAMPIGNON «AGARICUS BISPORUS»: EXTRACTION ET CARACTERISATION* (Doctoral dissertation).

Heraoui, F et BOUZIANI, S. (2017). *Contribution à la formulation d'une suspension anti-reflux à base d'alginate de sodium et de chitosane*. Mémoire Master en génie des procédés. Blida. 116p.

### *I*

Imane, B., & Amina, O. S. (2018). Prévalence des kystes hydatiques fertiles dans la région de Guelma.

### *J*

Jeuniaux, C., & Thomé, J. P. (1990). Production, extraction et utilisation technologique de la chitine à partir de communautés marines. *Océanis*, 16(5), 375-382.

### *K*

Karan, R. *Application of chitosan and pass for the removal of turbidity and colour from water. Doctor of philosophy.* (2002). School of environmental studies Cochin university of science and technology kochi.

KARIMA, M. I. KYSTE HYDATIQUE CEREBRAL CHEZ L'ENFANT.

## Références bibliographiques

---

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.

Keddou épouse Addar, M. (2008). *Élaboration, caractérisation et application de membranes polymères à base de chitosane* (Doctoral dissertation).

Khorrami, M. Najafpour, D, G . Younesi, H. Housseimpoura. *Production of Chitin and Chitosan from ShrimpShell in Batch Culture of Lactobacillus plantarum. (2012)*. Progress in polymer science, 31, 217-223.

Klotz, F., Nicolas, X., Debonne, J. M., Garcia, J. F., & Andreu, J. M. (2000). Kystes hydatiques du foie. *Encycl Méd Chir*.

Kohil, K. (2008). Etude épidémiologique et moléculaire d'Echinococcus granulosus en Algérie.

Kumari, S., & Rath, P. K. (2014). Extraction and characterization of chitin and chitosan from (Labeo rohita) fish scales. *Procedia Materials Science*, 6, 482-489.

### L

LAYLA, M. T. E. O. LE KYSTE HYDATIQUE RETROVESICAL CHEZ L'ADULTE.

Le Devedec, F. (2008). Séparation des oligomères du chitosane par chromatographie d'affinité sur ions métalliques immobilisés.

### M

MAKACI, N. (2017). *Etude pathobiologique d'Echinococcose kystique: Approche bioinformatique* (Doctoral dissertation, Université de Bouira).

Malki, N., & Benyacoub, H. (2015). *Etude de l'effet combiné de l'acide lactique et du chitosane sur la croissance de quelques bactéries et mycètes pathogènes* (Doctoral dissertation, Université Mouloud Mammeri).

MAZOUNI, M. (2016). *Dépollution des eaux usées par un support naturel Chitosane-polyaniline* (Doctoral dissertation, 03-07-2018).

## Références bibliographiques

---

MECHEDDOU, C., & BARR, K. (2018). Valorisation des carapaces des crevettes dans la dépollution des eaux: Extraction du chitosane et optimisation des procédés.

MECHROUKI, M. N. M. N., & SAIAD, M. O. La prise en charge chirurgicale du kyste hydatique pulmonaire bilatéral chez l'enfant dans le service de chirurgie pédiatrique générale du CHU de Marrakech chirurgie pédiatrique générale du CHU de Marrakech.

### O

OUASSOU, A. (2008). Kyste hydatique a Ouarzazate: approches diagnostiques, épidémiologiques, thérapeutiques et prophylactiques (À propos de 126).

### P

Payet, L. (2005). *Viscoélasticité et structure de gels à base de chitosane-Relations avec les propriétés diffusionnelles de macromolécules dans ces biogels* (Doctoral dissertation).

Pickenhahn, V. (2016). *Transformation régiosélective du chitosane par thioacétylation pour applications biomédicales* (Doctoral dissertation, École Polytechnique de Montréal).

### R

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.

REKIBI, B. (2017). *Étude de l'effet in vitro du Bevacizumab et Trastuzumab sur la viabilité de la larve hydatique d'Echinococcus granulosus* (Doctoral dissertation, Université de Bouira).

Riccardo, A. Muzzarelli, A, Mohamad El Mehtedi and Monika Mattioli-Belmonte : *Emerging Biomedical Applications of Nano-Chitins and Nano-Chitosans Obtained via Advanced Eco-Friendly Technologies from Marine Resources*.(2014). *Marine drugs*, 12, 5468-5502.

Ripoche, M. (2009). *La lutte contre l'hydatidose en Sardaigne* (Doctoral dissertation).

### S

## Références bibliographiques

---

Salehi, M., & Soleimani, A. (2009). Cardiac echinococcosis with negative serologies: a report of two cases. *Heart, Lung and Circulation*, 18(1), 59-61.

Sharafi, S. M., Sefiddashti, R. R., Sanei, B., Yousefi, M., & Darani, H. Y. (2017). Scolicidal agents for protoscolices of *Echinococcus granulosus* hydatid cyst: Review of literature. *Journal of research in medical sciences: the official journal of Isfahan University of Medical Sciences*, 22.

Soukaina, M. M. (1994). KYSTE HYDATIQUE DES PARTIES MOLLES.

Suyatma.N.E. *Développement de films biodégradables à base de chitosane : études du mélange / PLA, de la planification et de la comptabilisation*. Thèse de doctorat. (2006). Université de Reims-Champagne Ardenne école doctorale, sciences exactes et biologie.

### T

Thompson, R. C. A., Lymbery, A. J., & Constantine, C. C. (1995). Variation in *Echinococcus*: towards a taxonomic revision of the genus. In *Advances in Parasitology* (Vol. 35, pp. 145-175). Academic Press.

Traoré, M. (2014). *Conception d'une matrice de nanofibres par électrofilage et étude de son pouvoir adsorbant* (Doctoral dissertation, Université du Québec à Trois-Rivières).

### Y

Yahiaoui, Y., Idir, F., & Senhadji, O. (2017). *Elaboration de billes à base de chitosane pour l'élimination du naphthalène se trouvant en solution aqueuse diluée* (Doctoral dissertation, Université Abderrahmane Mira).

YOUSSEF, M. B. KYSTE HYDATIQUE INTRA-CRANIEN (A propos de 19 cas).

Yacoub,B (2016). Etude de stabilité et rhéologie d'une formulation médicamenteuse à base de chitosane. Mémoire Master en génie des procédés. Blida.104p.

### Z

## Références bibliographiques

---

ZAGHLI, B., & BEZGHOUD, B. H. (2019). *Etude rétrospective de quelques zoonoses parasitaires et leur impacte économique et sur la santé publique* (Doctoral dissertation).

ZAÏT, H., & Hamrioui, B. (2019). *APPORT DES TECHNIQUES HAUTEMENT SPECIFIQUES DANS LE DIAGNOSTIC DE L'HYDATIDOSE ET GENOTYPAGE DES SOUCHES HUMAINES D'ECHINOCOCCUS GRANULOSUS* (Doctoral dissertation).

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

Zeghib, D., & Aoudia, L. (2019). *Etude rétrospective, 2009-2018, de l'hydatidose chez les bovins et les ovins de la Wilaya de Tizi Ouzou* (Doctoral dissertation, INSTITUT DES SCIENCE VETERINAIRE-université blida).

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

Zhao, L. M., Shi, L. E., Zhang, Z. L., Chen, J. M., Shi, D. D., Yang, J., & Tang, Z. X. (2011). Preparation and application of chitosan nanoparticles and nanofibers. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, 28(3), 353-362.

Zitouni, M. (2013). *Sélection et caractérisation d'une nouvelle chitosanase thermostable*. Producteur non identifié.

# Glossaire

**Anthropozoonose :** **Anthropo**= être humain

**Zoonose** = maladie transmissible entre l'animal et l'homme causée par des agents biologiques vivants.

**Pandémie :** épidémie qui affecte une partie significative des populations sur une région importante du globe (plusieurs continents).

**Troupeau :** troupe d'animaux domestiques de même espèce.

**Anaphylaxie :** est une réaction d'hypersensibilité systémique, sévère et potentiellement fatale, survenant brutalement suite à l'exposition à un allergène.

**Les hydrogels :** sont des réseaux tridimensionnels constitués de polymères hydrophiles de haut poids moléculaire naturels ou synthétiques, eau et agents de réticulation. Ils gonflent considérablement dans les environnements aqueux et ont une capacité extraordinaire à absorber des solutions aqueuses d'eau ou de l'eau physiologique dans leur structure de réseau, bien qu'elles ne soient pas solubles dans aucun d'eux.

**Cosmopolite :** Un organisme cosmopolite se dit d'une espèce, végétale ou animal, à distribution géographique très vaste et rependue dans quasiment le monde entier.

**Zoonoses :** Sont des maladies et infections dont les agents se transmettent naturellement des animaux vertébrés à l'homme, et vice-versa. Le terme a été créé au XIXe siècle, à partir du grec zôon, « animal » et nosos, « maladie », par Rudolf Virchow.

**Endémique :** est un terme médical qui qualifie une maladie ou un trouble présent en permanence dans une région particulière ou dans un certain groupe d'individus.

**Le fenouil (*Foeniculum vulgare*) :** est une plante de la famille des apiacées, même famille que la carotte, le persil, cumin, coriandre, angélique, etc. De nombreuses médicinales appartiennent à cette famille qui fait des ombelles, c'est pour cela qu'on les appelait les ombellifères dans le passé.

## Résumé

L'hydatidose est une zoonose cosmopolite qui sévit d'une façon endémique en Algérie. Cette parasitose est causée par la forme larvaire d'un cestode *Echinococcus granulosus*. La chirurgie reste le meilleur choix de traitement de l'hydatidose humaine, cependant la réinfection est possible à la fin de la chirurgie qui résulte de la projection de protoscolex dans la cavité péritonéale. De nombreux agents scolicides ont été utilisés pour inactiver le contenu du kyste hydatique, mais la plupart d'entre eux sont associés à des effets secondaires indésirables. Dans ce contexte, notre étude a pour objectif d'étudier l'effet antiparasitaire du chitosane à différentes concentrations sur la viabilité de la larve hydatique. Les résultats montrent que le chitosane fongique isolé de *Penicillium viridicatum*, *Penicillium aurantiogriseum* et le chitosane commercial affectent la viabilité des protoscolex à 100% à une concentration de 400µg/ml (180 min) et présente un effet solidifiant du fluide hydatique en association avec d'autres composés sous forme d'un hydrogel à une concentration de CS (1,75%) / CMC (1,4%) / BGP (2,9%) (45min).

**Mots clefs :** kyste hydatique , *E.granulosus*, protoscolex, chitosane, effet scolicide.

## المخلص

الهيديات هو مرض عالمي حيواني المنشأ مستوطن في الجزائر. يحدث هذا الطفيل بسبب الشكل البرقي للديدان الخيطية *Echinococcus granulosus*. تظل الجراحة هي الخيار الأفضل لعلاج داء الكريات البيضاء البشري ، ولكن يمكن إعادة العدوى في نهاية الجراحة التي تنتج عن إسقاط البروتوسكولكس في التجويف البريتوني. تم استخدام العديد من العوامل المبيدة للجراثيم لتعطيل محتويات الكيس العداري ، ولكن معظمها يرتبط بآثار جانبية غير مرغوب فيها. في هذا السياق ، تهدف دراستنا إلى دراسة التأثير المضاد للطفيليات للكينتوزان بتركيزات مختلفة على جدوى اليرقات العدارية. *Penicillium viridicatum* و *Penicillium aurantiogriseum* أظهرت النتائج أن الكينتوزان الفطري المعزول من 180 ميكروغرام / مل (400 درجة مئوية بتركيز 100 والكينتوزان التجاري يؤثر على قابلية بقاء البروتوسكولكس عند CS (1.75%) / دقيقة) ويعرض تأثيراً متصلاً للسانال العداري بالاشتراك مع مركبات أخرى على شكل هيدروجيل بتركيز (45 دقيقة). CMC (1.4%) / BGP (2.9%)

**الكلمات المفتاحية:** الكيس العداري، يرقات الدودة الشريطية، بروتوسكولكس، كينتوزان، اثر قاتل للبروتوسكولكس

## Abstract

Hydatidosis is a cosmopolitan zoonosis that is endemic in Algeria. This parasitosis is caused by the larval form of a cestode *Echinococcus granulosus*. Surgery remains the best choice for the treatment of human hydatidosis, however reinfection is possible at the end of the surgery which results from the projection of protoscolex into the peritoneal cavity. Many scolicial agents have been used to inactivate cyst hytatid contents, but most of them associated with unwanted side effects. In this context, our study aims to study the antiparasitic effect of chitosan at different concentrations on the viability of hydatid larvae. The results show that fungal chitosan isolated from *Penicillium viridicatum*, *Penicillium aurantiogriseum* and commercial chitosan affect the viability of protoscolex at 100% at a concentration of 400µg / ml (180 min) and exhibits a solidifying effect of hydatid fluid in association with other compounds in the form of a hydrogel at a concentration of CS (1.75%) / CMC (1.4%) / BGP (2.9%) (45min).

**Keywords:** Hydatid cyst, *E.granulosus*, Protoscolices, Chitosan, Scolicial effect.