

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

المدرسة الوطنية العليا لعلوم البحر وتهيئة الساحل

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



Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme

D'Ingénieur et de Master en Sciences de la Mer

Option : biotechnologie marine

Thème :

Valorisation biotechnologique des coproduits de crustacés : étude de l'efficacité du traitement avec du chitosane et de l'irradiation UV dans l'élimination de *Legionella pneumophila*

Présenté par :

HERGUEMA Yasmine

KHIAT Mayar

Soutenu le 02/07/2022 devant le jury composé de :

Pr. REFES W.	Professeur	(ENSSMAL)	Président
Dr. DRICHE M.	Maître de conférences A	(ENSSMAL)	Examineur
Dr. IGOUD S.	Maître de recherche	(UDES)	Examineur
Dr. AL AMIR H.	Maître de recherche	(IPA)	Promotrice
Mme. AMROUCHE L.	Maître assistante A	(ENSSMAL)	Co-promotrice
Mme. BENABOU A.	Chargée d'études (doctorante)	(IPA)	Invitée

Année universitaire : 2021-2022

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

المدرسة الوطنية العليا لعلوم البحر وتهيئة الساحل

Ecole Nationale Supérieure des Sciences de la Mer et de l'Aménagement du Littoral



Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme d'Ingénieur et de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Hydrobiologie Marine et Continentale

Spécialité : biotechnologie marine

Thème :

Valorisation biotechnologique des coproduits de crustacés : étude de l'efficacité du traitement avec du chitosane et de l'irradiation UV dans l'élimination de *Legionella pneumophila*

Présenté par :

HERGUEMA Yasmine

KHIAT Mayar

Soutenu le 02/07/2022 devant le jury composé de :

Pr. REFES W.	Professeur	(ENSSMAL)	Président
Dr. DRICHE M.	Maître de conférences A	(ENSSMAL)	Examineur
Dr. IGOUD S.	Maître de recherche	(UDES)	Examineur
Dr. AL AMIR H.	Maître de recherche	(IPA)	Promotrice
Mme. AMROUCHE L.	Maître assistante A	(ENSSMAL)	Co-promotrice
Mme. BENABOU A.	Chargée d'études (doctorante)	(IPA)	Invitée

Année universitaire : 2021-2022

Remerciements

Avant toute chose, nous tenons à exprimer nos sincères remerciements aux personnes qui nous ont apporté leur aide et qui ont contribué à la réalisation de ce mémoire.

Nous tenons à remercier chaleureusement nos promotrices. Mme AL AMIR H, pour avoir bien voulu encadrer ce travail. A Mme AMROUCHE L, pour son suivi et pour son énorme soutien, qu'elle n'a cessé de nous apporter tout au long de la période du travail avec une grande patience. Ainsi qu'à Mme BENABBOU A, pour nous avoir consacré son temps et pour son aide précieuse et la richesse de ses connaissances sur les légionelles.

Tout comme nous adressons nos sincères remerciements à :

M. REFES W. pour nous avoir fait l'honneur d'accepter de présider le jury.

M. IGOUD S. et M. DERICHE M. pour avoir bien voulu examiner et juger ce modeste travail.

De vifs remerciements à Mme GUERROUMI H, ingénieur du laboratoire de biochimie de l'ENSSMAL pour son aide et sa grande disponibilité durant les manipulations, ainsi que M. MATOUK Y. et M. DJERRAI N. et tout le personnel de l'ENSSMAL.

Mme FELLAH H, pour nous avoir fait partager ses connaissances pour l'identification de l'espèce.

Mme SAIBI, et tout le personnel du service de bactériologie des eaux et des aliments de l'Institut Pasteur.

M. ALI BILT de la direction de la pêche de l'Alger pour sa contribution à la collecte des échantillons de carapaces de crevettes.

M. BERKANE pour nous avoir permis d'accéder à la terrasse de l'IPA où se sont déroulées les expériences.

Enfin, on tient à exprimer vivement nos remerciements avec une profonde gratitude à toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à sa réalisation.

Dédicace :

*Je Dédie ce modeste travail A mes très chers parents Ali et Nadia,
Pour leur soutien, leur patience, et leurs encouragements durant tout mon parcours scolaire.*

*A mes défunts grands parents Tebassi Mohamed Tayeb (papi) et Soudani Habiba (mémé)
Qui m'ont accompagné autant que mes parents et qui ont tant voulues assister à cet
évènement.*

A mon frère Ryad et ma petite sœur d'amour Selma.

A toute ma famille maternelle :

Mon oncle Mohamed Saleh et son épouse Sihem

Ma tante que je tiens trop Assia et son époux Mustapha.

A mes cousins Reda, Wassim et Rania.

A mes copines : Dounia, Ikram, Mayar et Lina.

Yasmine HERGUEMA

Dédicace :

Je dédie avec beaucoup de plaisir ce modeste travail à la femme la plus chère de ma vie,

Maman GUENDOZI DJAHIDA

*Qui a su me soutenir et m'encourager durant ces années, qu'elle trouve ici le témoignage de
ma profonde gratitude envers sa confiance, ses sacrifices.*

*« Pour ta tendresse, pour tes mille attentions, pour ta force et pour ta présence à mes côtés,
en toutes circonstances...pour le travail de chaque jour que tu fais avec tant d'amour.*

Merci Maman »

Mayar KHIAT.

TABLE DES MATIERES

LISTE DES TABLEAUX

LISTE DES FIGURES

LISTE DES ABREVIATIONS

Introduction.....3

Chapitre I : Revue bibliographique

I.1. Aperçu général sur les crustacés.....6

I.2. Présentation de l'espèce utilisée6

I.2.1. Description et caractéristiques6

I.2.2. Systématique et classification6

I.2.3. Habitat et distribution géographique.....7

I.3. La valorisation des coproduits de crustacés8

I.3.1. Définition8

I.3.2. Importance de la valorisation des coproduits.....9

I.4. Composition biochimique des coproduits de crustacés.....9

I.4.1. L'astaxanthine.....10

I.4.2. Les peptides10

I.4.3. Les substances aromatiques11

I.4.4. La glucosamine11

I.4.5. Les minéraux et les vitamines.....11

I.4.6. Les huiles riches en $\omega 3$ et $\omega 6$11

I.4.7. Phosphatase alcaline12

I.4.8. Chitine et chitosane.....12

I.4.8.1. La chitine.....12

I.4.8.2. Le chitosane.....14

I.4.8.3. Les propriétés de la chitine et chitosane.....	14
I.4.8.4. Procédés d'extraction du chitosane à partir des coproduits de crevettes	17
I.4.8.5. Application du chitosane dans le traitement des eaux.....	18
I.5. Généralité sur <i>Legionella pneumophila</i>	18
I.5.1. Microbiologie et morphologie	18
I.5.2. Taxonomie	19
I.5.3. Ecologie et conditions de croissance	19
I.5.4. Epidémiologie	20
I.5.5. Pathogénicité et toxicité.....	21
I.5.6. Diagnostique	23
I.5.7. Traitement de la légionellose	25
I.5.8. Désinfection des eaux contaminée par la <i>Legionella</i>	26
I.5.8.1. Décontamination physique.....	27
I.5.8.2. Décontamination chimique	28
I.5.8.3. Décontamination biologique	30

Chapitre II : Matériel et méthodes

II.1. Matériel	32
II.1.1. Matériel biologique.....	32
II.1.2. Matériel non biologique.....	32
II.2. Echantillonnage et prétraitement de la matière première	33
II.2.1. Collecte des carapaces de crevettes	33
II.2.2. Prétraitement de l'échantillon.....	34
II.3. Analyses de la composition biochimique globale des coproduits des crustacés.....	34
II.3.1. Matière humide.....	34
II.3.2. Teneur totale en matière minérale	35
II.3.3. Teneur en protéines totales	35
II.3.4. Teneur en lipides totaux	37

II.4. Extraction de la chitine et du chitosane.....	38
II.4.1. Dépigmentation et délipidation	39
II.4.2. Déminéralisation.....	39
II.4.3. Déprotéinisation et déacétylation	40
II.5. Caractérisation du chitosane.....	40
II.5.1. Rendement du massique du chitosane	40
II.5.2. Test de solubilité.....	41
II.5.3. Détermination du degré de déminéralisation.....	41
II.5.4. Détermination du degré de déprotéinisation.....	41
II.5.5. Détermination du degré de déacétylation	42
II.5.5.1. Mesure par Spectroscopie Infrarouge à Transformation de Fourier (FTIR)	42
II.6. Revivification de <i>Legionella pneumophila</i>	42
II.6.1. Préparation de milieu de culture	42
II.6.2. Isolement de <i>L. pneumophila</i>	44
II.7. Etude de l'efficacité du traitement d'une eau contaminée par Legionella par UV solaire et chitosane.....	44
II.7.1 Décontamination par chitosane	45
II.7.2. Décontamination par les UV solaires (SODIS).....	45
II.7.3. Décontamination par Chitosane-SODIS.....	46
II.7.4. Décontamination par les billes à base de chitosane.....	47
II.8. Evaluation de la qualité microbiologique de l'eau traitée.....	47

Chapitre III : Résultats et discussion

III.1. Identification de l'espèce	51
III.2. Composition biochimique globale des coproduits d' <i>Aristeus antennatus</i>	52
III.2.1. Teneur en eau	52
III.2.2. Teneur en minéraux totaux.....	52
III.2.3. Teneur en protéine totales	53

III.2.4. Teneur en lipides totaux	53
III.3. Caractérisation du chitosane	54
III.3.1. Rendement massique.....	54
III.3.2. Solubilité	55
III.3.3. Degré de déminéralisation et déprotéinisation	56
III.3.4. Degré de déacétylation	56
III.5. Efficacité du traitement du chitosane et des UV solaires dans l'élimination de <i>L. pneumophila</i>	57
III.5.1. Etude du taux d'abattement de la legionelle après traitement avec le chitosane	57
III.5.2. Etude du taux d'abattement de la legionelle après traitement avec SODIS.....	59
III.5.3. Etude du taux d'abattement de la legionelle après traitement avec chitosane-SODIS	60
III.5.4. Etude du taux d'abattement après traitement avec les billes de chitosane.....	61
III.6. Etude comparative entre les différentes méthodes de traitement utilisées	62
Conclusion et perspectives.....	67

Références bibliographiques

Annexes

Liste des tableaux

Chapitre I : Revue bibliographique

Tableau 1 : Les différents produits à haute valeur ajoutée issus de co-produits de crevette (Randriamahatody, 2011).....	9
Tableau 2 : Variabilité de la teneur de la chitine chez quelques organismes (Tayel, , et al., 2010)	13
Tableau 3 : Manifestations cliniques des légionelloses (Jarraud, Girardo, Reyrolle, & Etienne, 2002).....	22
Tableau 4 : Posologies recommandées dans le traitement des légionelloses (Stout, Arnold, & Yu, 1998)	26

Chapitre II : Matériel et méthodes

Tableau 5 : Matériel et réactifs utilisés	32
--	-----------

Chapitre III : Résultats et discussion

Tableau 6 : Critères distinctifs pour l'identification d'<i>Aristeus antennatus</i>. Fiche FAO (Fischer, 1987).....	51
Tableau 7 : Composition biochimique globale des coproduits d'<i>Aristeus antennatus</i> (MS).....	52
Tableau 8 : Rendements d'extraction du chitosane extrait des carapaces d'<i>A. antennatus</i>	54
Tableau 9 : Degrés de déminéralisation et de déprotéinisation du chitosane produit.....	56
Tableau 10 : Résultats du traitement par chitosane	58
Tableau 11 : Résultats du traitement SODIS	59
Tableau 12 : Résultats du traitement Chitosane-SODIS.....	60
Tableau 13 : Résultats après traitement par billes de chitosane	61
Tableau 14 : Taux d'abattement de <i>L. pneumophila</i> avec traitement Chitosane, et Chitosane-SODIS	62
Tableau 15 : Moyennes des pourcentages d'élimination de <i>L. pneumophila</i> en fonction des différentes méthodes de traitement utilisés.....	63

Liste des figures

Chapitre I : Revue bibliographique

Figure 1 : <i>Aristeus antennatus</i> (FAO, 2022)	7
Figure 2 : <i>Aristeus antennatus</i> : distribution géographique (Ragonese , Bianchini, Di Stefano, Bertolino, & Campagnuolo, 2018)	8
Figure 3 : Proportion des différentes voies de valorisation des co-produits d'origine marine (Andrieux, 2004).....	8
Figure 4 : La structure chimique de l'astaxanthine (Randriamahatody, 2011).....	10
Figure 5 : Structure de la glucosamine (Randriamahatody, 2011)	11
Figure 6 : Structure chimique de la chitine (forme α et β) (Oulhiz, 2018).....	13
Figure 7 : Structure chimique du chitosane (Beaulieu, 2007)	14
Figure 8 : Désacétylation de la chitine en chitosane (Randriamahatody, 2011)	15
Figure 9 : Effet de la température de l'eau sur les légionelles (Fields, Hoffman, Friedman, & Bendinelli, 2008)	20
Figure 10 : Les tests de diagnostic pour la détection de <i>Legionella pneumophila</i> (Mercante & Winchell, 2015)	25
Figure 11 : Système de chloration de l'eau (Milous , 2011)	29

Chapitre II : Matériel et méthodes

Figure 12 : Prétraitement des carapaces de crevettes, (a) Carapaces lavées, (b) Séchage des carapaces dans l'étuve	34
Figure 13 : Incinération de la poudre de carapaces dans le four à moufle	35
Figure 14 : Gamme étalon BSA	37
Figure 15 : Appareil de Soxhlet	38
Figure 16 : Dépigmentation et délipidation de la poudre de carapaces	39
Figure 17 : Déminéralisation de poudre de carapaces	40
Figure 18 : Déprotéinisation de la poudre de capaces	40
Figure 19 : Préparation du milieu de culture de <i>L. pneumophila</i>	43
Figure 20 : Géloses BCYE et GVPC	44
Figure 21 : (a) Schéma de la technique d'ensemencement par épuisement, (b) souche de référence <i>L. pneumophila</i> ATCC 33152	44
Figure 22 : Décontamination par chitosane	45

Figure 23 : (a) Décontamination par SODIS, (b) Décontamination par chitosane-SODIS	46
Figure 24 : Billes à base de chitosane	47
Figure 25 : Dispositif de l'appareil de filtration sur membrane	48
Figure 26 : Membrane de filtration 0,45µm	49
Figure 27 : Dilutions préparées	49

Chapitre III : Résultats et discussion

Figure 28 : Aspect de l'espèce <i>Aristeus antennatus</i> récoltée au niveau de la pêcherie d'Alger	51
Figure 29 : Composition biochimique globale des coproduits d'<i>Aristeus antennatus</i> en pourcentage	54
Figure 30 : Aspect final du chitosane obtenu	55
Figure 31 : Solubilisation du chitosane produit	55
Figure 32 : Spectre FTIR du chitosane produit	57
Figure 33 : Taux d'abattement de <i>L. pneumophila</i> avec traitement SODIS en fonction des irradiations solaires incidentes sur plan horizontal	59
Figure 34 : Taux d'abattement de <i>L. pneumophila</i> avec traitement Chitosane, et Chitosane-SODIS	62
Figure 35 : Moyennes des pourcentages d'élimination de <i>L. pneumophila</i> en fonction des différentes méthodes de traitement utilisés	63
Figure 36 : Courbe d'étalonnage du dosage des protéines	87
Figure 37 : Evaporateur rotatif	88
Figure 38 : Four à moufle	87
Figure 39 : Spectrophotomètre UV- visible	87
Figure 40 : Poudre de crevette décolorée	88

Liste des abréviations

[C] : Concentration

°C : Degré Celsius

ADN : acide désoxyribonucléique

ADNases : Désoxyribonucléase

Ag : Argent

ARNases : Ribonucléase

As : Arsenic

AST : Astaxanthine

ATCC : American Type Culture Collection

BCYE : Buffered Charcoal Yeast Extract

BSA : Sérum Albumine Bovine

CDC : Center for Disease Control and Prevention

Cl : Chlore

Cs : Chitosane

Ct : Chitine

Cu : Cuivre

DA : Degré d'acétylation

DDA : Degré de désacétylation

DP : Degré de déprotéinisation

DRX : Diffraction des Rayons X

ELISA : Enzyme-Linked Immunosorbent Assay

ENSSMAL : Ecole Nationale Supérieure des Sciences de la Mer et de l'Aménagement du Littoral

FAO : Food and Agriculture Organisation

FTIR : Spectroscopie Infrarouge à Transformation de Fourier

GVPC : Glycine Vancomycine Polymyxine Cycloheximide

HCL : Acide chloridrique

IFI : d'immunofluorescence indirecte

IgA : immunoglobulines A

IgG : immunoglobulines G

IgM : immunoglobulines M

IPA : Institut Pasteur

IV : Intra veineuse

KBr : Bromure de potassium

kDa : Kilodalton

LPS : lipopolysaccharide

M : Concentration molaire

MEB : Microscopie électronique à balayage

McF : McFarland

MM : Masse moléculaire

MS : Matière sèche

N : Normalité

NaOH : Hydroxyde de Sodium

Ni : Nickel

PAL : Phosphatase alcaline

PCR : Polymerase Chain Reaction

PET : Polytéraphthalate d'éthylène

pH : Potentiel hydrogène

PO : Per Os (voie orale)

SODIS : Solar Desinfection

UFC : Unité Formant Colonie

UV : Ultraviolets

W : Watt

Introduction

Introduction

L'environnement marin représente environ la moitié de la biodiversité de la planète, près de 70 % de la surface terrestre est couverte par les océans et les mers. Dans ces dernières décennies, la recherche sur les organismes marins s'est largement développée. En effet, la flore et la faune marines constituent une grande source de nouveaux composés, qu'il s'agisse de petites molécules ou de macromolécules. En effet, ces dernières, notamment les protéines, les glycoprotéines et les polysaccharides, sont dotées d'un potentiel biotechnologique. Parmi les différents polysaccharides provenant du milieu marin, la chitine se distingue particulièrement en raison de sa disponibilité, du fait qu'elle est le deuxième polymère naturel le plus abondant après la cellulose (Silva, et al., 2012).

De nos jours, la chitine est extraite des flux de déchets de carapaces des crustacés à des fins industrielles, ce qui permet, en outre de la protection environnementale, de maximiser les revenus du secteur de la production et de la transformation. Néanmoins, son utilisation a été longtemps réduite à cause de sa faible solubilité (Bedian, Villalba-Rodríguez, Hernández-Vargas, Parra-Saldivar, & Iqbal, 2017; Sayari, et al., 2016; Jayakumar, Prabakaran, Sudheesh Kumar, Nair, & Tamura, 2011). Par conséquent, c'est le chitosane, son principal dérivé, obtenu à la suite de sa déacétylation, qui est le plus utilisé (Lizardi-Mendoza, et al., 2016).

Le chitosane possède un certain nombre de propriétés biologiques, notamment des propriétés antimicrobiennes, anticoagulante, antioxydante, et anti-inflammatoire. Ces propriétés sont utilisées dans une grande variété de domaines industriels tels que la biomédecine, la cosmétologie, la fabrication du papier, l'agriculture, les applications pharmaceutiques, et le traitement des eaux usées, car il s'agit d'une molécule non toxique, biodégradable, non allergène et donc inoffensive en cas de rejet dans l'environnement (Khan, et al., 2020; Natarajan, Kalyanasundaram, & Ravi, 2017; Muxika, Etxabide, Uranga, Guerrero, & de la Caba, 2017).

Par ailleurs, l'efficacité du traitement des eaux demeure incertaine, ou parfois même sans effet dans le temps sur les bactéries hydriques et notamment sur *Legionella* (Mekkour, Khalil, Driss, Tai, & Cohen, 2013).

Actuellement, le traitement dit physico-chimique est le plus répandu pour épurer à la fois l'eau potable ou les eaux de rejet.

Le plus grand inconvénient de l'utilisation des produits de synthèse est évidemment le risque de pollution environnementale. Traiter les eaux par des méthodes plus respectueuses de l'environnement devient donc une nécessité (Beaulieu, 2007).

La présente étude vise la valorisation des coproduits des crustacés, précisément de la crevette *Aristeus antennatus* (Risso, 1816) récoltée au niveau de la pêcherie d'Alger, à travers l'extraction du chitosane. Ensuite, étudier l'efficacité de l'adsorption sur celui-ci sous forme en poudre et en billes dans l'élimination de *Legionella pneumophila*. Le traitement par photolyse (SODIS) a également été utilisé pour optimiser le processus de décontamination de l'eau et pour réaliser une étude comparative.

Ce mémoire est conçu autour de trois volets :

- Le premier chapitre présente l'aspect général de la crevette *Aristeus antennatus* (Risso, 1816), sa distribution géographique, les différentes propriétés du chitosane et ses champs pour son application. Il comprend également quelques généralités sur les légionelles, de même que les méthodes de désinfection des eaux contaminées.
- Le deuxième chapitre comprend le prétraitement et l'échantillonnage de la matière première, l'identification de l'espèce collectée et l'analyse de la composition biochimique globale de ses co-produits, ainsi que l'extraction du chitosane, puis sa caractérisation et son utilisation comme adsorbant dans l'élimination de *Legionella pneumophila* présente dans l'eau.
- Le troisième chapitre est consacré à l'interprétation des différents résultats obtenus et à l'étude comparative avec les travaux antérieurs.
- Enfin, une conclusion générale résume l'essentiel des résultats obtenus et énonce des perspectives de recherche et de développement.

Chapitre I : Revue bibliographique

I.1. Aperçu général sur les crustacés

Les crustacés forment un sous-embranchement de l'embranchement des arthropodes, comprenant notamment les écrevisses, les langoustes, les crabes, les anatifes, les cloportes (Waterman, 1960). Ils peuvent posséder une carapace rigide ou semi-rigide, chitineuse ou calcaire. Ainsi, qu'un corps divisé en trois parties : un céphalothorax non segmenté, un abdomen et un telson.

La présente étude a porté sur une seule espèce de crustacé : *Aristeus antennatus*, appelée également crevette rouge ou crevette royale en Algérie.

Il est vrai que la production de crustacés en Algérie ne représente que 1,8 % de la production halieutique totale et a connu une légère baisse de 5.8 % en 2018 (ONS, 2018). Toutefois, parmi ces crustacés l'espèce *Aristeus antennatus* présente un grand intérêt économique et de véritables possibilités d'exploitation en raison de sa qualité et de son abondance, ce qui fait d'elle l'espèce la plus recherchée et donc ciblée par la pêche (Nouar A. , 2001).

I.2. Présentation de l'espèce utilisée

I.2.1. Description et caractéristiques

L'espèce *Aristeus antennatus* se distingue par une couleur rouge pâle à rouge vif avec un ton bleuâtre sur la carapace. La taille maximale totale est de 22 cm et commune à 10-18 cm de longueur totale (Holtuis, 1987). *A. antennatus* est caractérisée par la présence d'une carapace de nature chitineuse secrétée par l'épiderme qui sert aussi d'exosquelette. De plus, elle est caractérisée par une teneur élevée en chitine, un corps divisé en segments articulés, et la présence d'appendices articulés : les antennes, les antennules, les mandibules (mâchoire antérieure), les maxilles (mâchoires postérieurs), les maxillipèdes (patte mâchoires), les péréiopodes, les ptéropodes et les uropodes (Kherraz, 2006).

I.2.2. Systématique et classification

A. Antennatus a été décrite pour la première fois par (Risso, 1816). Seuls deux synonymes ont été reportés pour cette espèce : *Penaeus antennatus* (Risso, 1816) et *Aristeus antennatus* (Bouvier, 1908). Elle occupe actuellement la position taxonomique décrite ci-dessous proposée par (Bowman et Abeleen., 1982) :

Règne : Animalia

Embranchement : Arthropoda

Sous-embranchement : Crustacea

Classe : Malacostraca

Ordre : Décapoda (Latreille, 1806)

Famille : Aristaeidae (Wood-Mason, 1891)

Genre : *Aristeus* (Duvernoy, 1840)

Espèce : *Aristeus antennatus* (Risso, 1816)

→ **Nom vernaculaire :** crevette rouge (FISCHER, 1987)

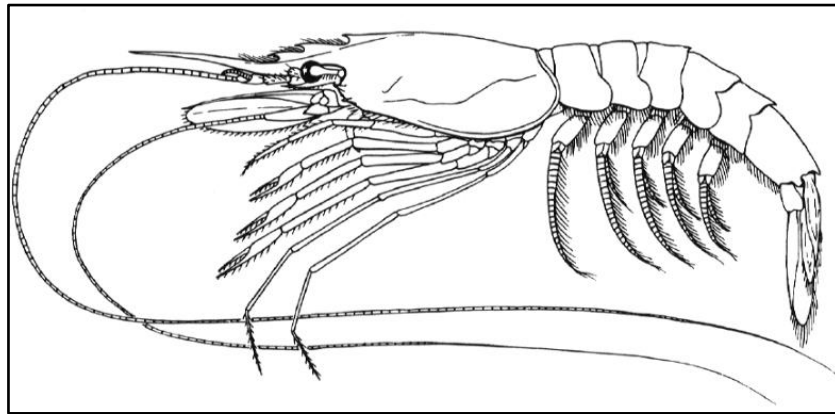


Figure 1 : *Aristeus antennatus* (FAO, 2022)

I.2.3. Habitat et distribution géographique

La crevette rouge, *Aristeus antennatus* (Risso, 1816), se trouve dans l'Atlantique Est, tout le long de la côte sud du Portugal jusqu'aux îles du Cap-Vert et en Méditerranée, à l'exception de la mer Adriatique (Papaconstantinou & Konstantinos, 2001).

L'espèce *Aristeus antennatus* est une espèce démersale, qui vit sur des fonds de vase très peu sableux à *Isidella elongata* et *Funiculina quadrangularise* au-dessus de fonds vaseux de 80 à 1440 m ; plus commune entre 200 et 250m. Elle effectue d'importants déplacements (migration nyctémérale) passant de 80-650 m la nuit à 260-820 m le jour (Kherraz, 2006).

En Algérie, la crevette rouge *Aristeus antennatus* (Risso, 1816) est fréquente sur les fonds chalutables entre 200 et 400 mètres. Elle est le plus souvent pêchée à des profondeurs de 300 à 600 mètres (Nouar & Kennouche, 2013).

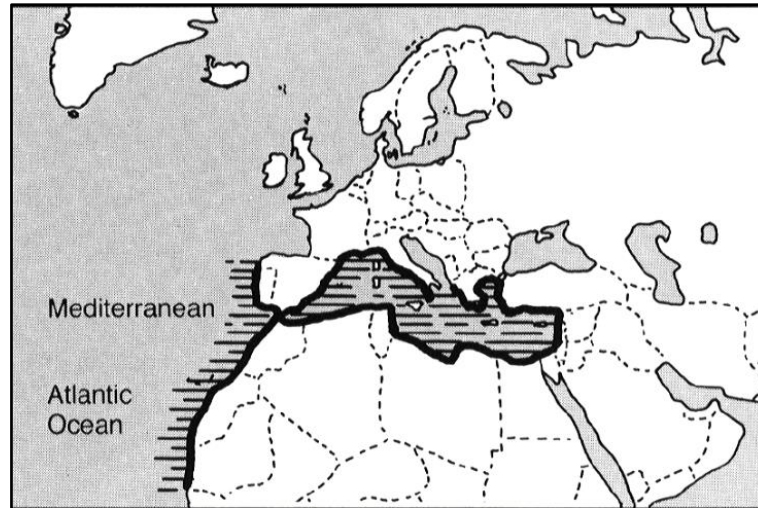


Figure 2 : *Aristeus antennatus* : distribution géographique (Ragonese , Bianchini, Di Stefano, Bertolino, & Campagnuolo, 2018)

I.3. La valorisation des coproduits de crustacés

I.3.1. Définition

Les co-produits sont définis comme les parties non utilisées et récupérables lors des opérations traditionnelles de production (Dumay, 2006). Ce sont généralement les poissons ou parties de poissons (crustacés-céphalopodes) non consommés classiquement (peau, arête, tête, viscères) mais récupérables et utilisés après traitement (Ifremer, 2010).

La valorisation des co-produits conduit à des produits dérivés qui sont utilisés comme matière première ou ingrédient dans d'autres domaines tels que l'agriculture, l'alimentation humaine et animale, la nutraceutique et pharmaceutique, la cosmétique, le médical... A partir d'un même type de co-produit, il est possible d'obtenir différents produits dérivés : farine, huile, hydrolysats... (Dumay, 2006).

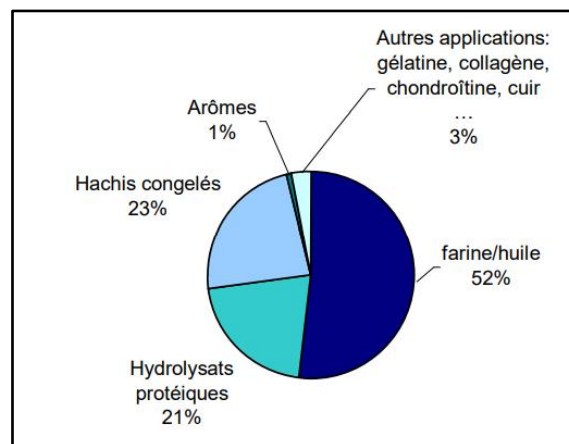


Figure 3 : Proportion des différentes voies de valorisation des co-produits d'origine marine (Andrieux, 2004)

I.3.2. Importance de la valorisation des coproduits

Les coproduits marins représentent en moyenne 50 % du poids du produit pêché. Seuls 50 % sont directement consommés sous forme de filets ou de chair. La valorisation des coproduits marins constitue donc un véritable enjeu (Delannoy & Coquelle, 2017).

Dans le contexte de développement durable mais aussi et surtout dans un souci de rentabilité économique, ces co-produits font depuis plusieurs années l'objet de l'attention des industriels qui aimeraient en tirer bénéfices (Dumay, 2006).

Par ailleurs il est intéressant d'accroître la valeur ajoutée des coproduits, pour assurer une pêche durable et améliorer la rentabilité des activités de la filière par une meilleure valorisation des captures (Oulhiz, 2018).

I.4. Composition biochimique des coproduits de crustacés

Les coproduits des crustacés sont une source précieuse de plusieurs molécules de haute valeur, ces biomolécules ont des applications dans différents domaines en diététique, nutraceutique, pharmaceutique et en cosmétique (Johnson, 2002).

Les principaux produits à haute valeur ajoutée pouvant être issus des coproduits de la crevette, de même que leur intérêt et leur domaine d'utilisation, sont résumés dans le tableau 1 ci-dessous.

Tableau 1 : Les différents produits à haute valeur ajoutée issus de co-produits de crevette (Randriamahatody, 2011)

Produits	Intérêt	Domaine d'utilisation
Chitine et chitosane	Bioactivité Rétention d'eau Chélation de métaux	Agroalimentaire
		Nutraceutique
		Pharmaceutique
		Cosmétique
		Agriculture
Astaxanthine	Bioactivité Pigmentation	Traitement des eaux
		Alimentation animale
		Alimentation humaine
Peptides	Bioactivité Digestibilité élevée	Nutraceutique
		Alimentation animale
		Alimentation humaine

		Nutraceutique
		Milieu de culture microbienne
Substances aromatiques	Aromatisant naturel	Agroalimentaire
Glucosamine	Nutrition	Diététique
Phosphatase alcaline	Enzymatique	Biotechnologie
Éléments minéraux	Nutrition	Agroalimentaire
Huile riche en ω3 et ω6	Nutrition Bioactivité	Agroalimentaire Nutraceutique

I.4.1. L'astaxanthine

L'astaxanthine (AST) est un pigment naturel de couleur rouge-orange et liposoluble. C'est une molécule oxygénée ($C_{40}H_{52}O_4$) ce qui lui permet de se positionner dans la sous-espèce xanthophylle de la famille des caroténoïdes (Brown, Gough, Deb, & Sparks, 2017; Davinelli, Nielsen, & Scapagnini, 2018). Il est présent dans la chair de poissons de la famille des Salmonidés, notamment le saumon et la truite, et dans les crustacés tels que les crabes et les crevettes. L'AST se trouve lié avec des acides gras ou des protéines (Olaizola, 2008).

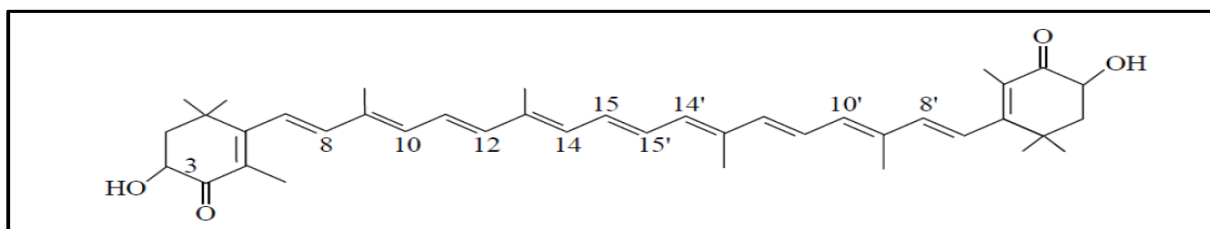


Figure 4 : La structure chimique de l'astaxanthine (Randriamahatody, 2011)

I.4.2. Les peptides

Les peptides sont générés lors de l'hydrolyse enzymatique des protéines. L'avantage de l'hydrolyse enzymatique est la possibilité de la contrôler et ainsi de produire des peptides en fonction de leur taille ou du rôle que l'on cherche (Kristinsson & Rasco, 2000). Les peptides présentent divers intérêts : outre leur haute digestibilité par rapport aux protéines, ils peuvent présenter des propriétés fonctionnelles utiles dans l'alimentation, ainsi que des propriétés biologiques intéressantes en nutraceutique.

I.4.3. Les substances aromatiques

Les extraits et les arômes marins sont de plus en plus demandés dans le monde notamment en Asie (Johnson, 2002). Ils sont extraits par des traitements biotechnologiques comme des hydrolyses enzymatiques suivies de différentes étapes de chromatographie (Randriamahatody, 2011). En outre, les substances aromatiques sont utilisées dans l'industrie agroalimentaire pour améliorer la qualité du goût et de l'odeur des aliments.

I.4.4. La glucosamine

La glucosamine provient de l'hydrolyse de la chitine. Elle possède un rôle fondamental dans le processus de formation et de régénération du cartilage dans l'organisme humain. La glucosamine est commercialisée en diététique et utilisée comme complément nutritionnel pour l'homme et les animaux domestiques (Archer & Russell, 2007).

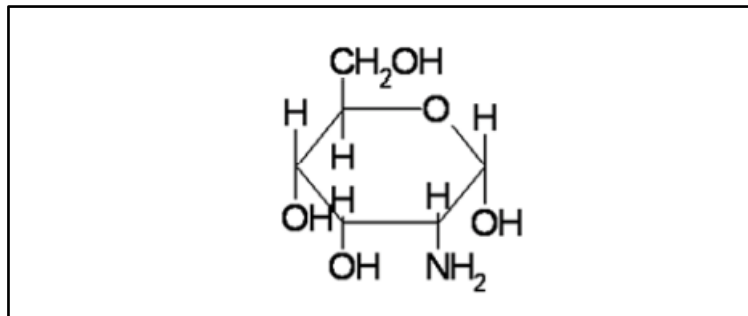


Figure 5 : Structure de la glucosamine (Randriamahatody, 2011)

I.4.5. Les minéraux et les vitamines

Les minéraux et les vitamines sont des éléments indispensables à l'organisme, du fait de leur implication dans les différentes réactions enzymatiques, de même que dans la formation de certains tissus.

L'exosquelette de la crevette est essentiellement constitué de calcium et d'autres minéraux notamment le phosphore, le cuivre, le sélénium, le magnésium, le fer et le zinc. Quant aux vitamines, on peut citer la vitamine B12, qui aide à la fabrication de nouvelles cellules, et la vitamine B13, qui contribue à la production d'énergie. Ces vitamines sont présentes en quantité intéressante dans les crevettes (Randriamahatody, 2011).

I.4.6. Les huiles riches en $\omega 3$ et $\omega 6$

Les espèces marines sont la principale source d'acides gras insaturés $\omega 3$ et $\omega 6$ présents dans leurs huiles.

Les huiles riches en acides gras ω_3 et ω_6 sont obtenues à partir de poissons entiers, mais on utilise de plus en plus des dérivés de poissons, de mollusques et de crustacés (Johnson, 2002). Ces acides gras sont extraits par des étapes de filtration et de concentration et sont commercialisés sous forme de capsule comme additif alimentaire. Ils peuvent être aussi formulés directement dans les aliments pour produire des aliments fonctionnels (Randriamahatody, 2011).

I.4.7. Phosphatase alcaline

La phosphatase alcaline (PAL) est une protéine thermosensible nécessaire à différentes réactions chimiques dans l'organisme, très répandues dans l'organisme : foie, os, intestin, toutefois chez les crustacés, elle est située dans les tissus mous de leurs carapaces.

L'extraction de cette enzyme s'effectue en plusieurs étapes à température contrôlée (Randriamahatody, 2011). Cependant la fabrication de ces enzymes se fait par la technologie de recombinaison (Archer & Russell, 2007).

I.4.8. Chitine et chitosane

La chitine (Ct) et le chitosane (Cs) sont des polymères naturels, connus comme des glycosaminoglycanes, ils sont abondants dans les carapaces des invertébrés marins, notamment les crustacés, qui sont la première source de chitosane (la chitine représente 30-40% de la carapace de la crevette et 15-30% de celle du crabe) (Ganesan, et al., 2020).

I.4.8.1. La chitine

I.4.8.1.1. Définition et structure chimique

La Ct est l'un des polysaccharides naturels les plus abondants au monde et elle est principalement utilisée pour la production de chitosane par un processus de désacétylation (Muxika, Etxabide, Uranga, Guerrero, & de la Caba, 2017). Elle est constituée presque entièrement d'unités de répétition D-glucosamine et N-acétyl D-glucosamine liées par des ponts β (1-4). Conséquemment, la Ct peut être considérée comme un dérivé de la cellulose dans lequel le groupe C-2 hydroxyle a été remplacé par les résidus d'acétamide. Ce polysaccharide est trouvé en énorme quantité dans l'environnement (Freepons, 1989).

Dans sa structure, la Ct est souvent liée aux autres constituants majeurs de la carapace, formant des liens covalents avec les protéines et une matrice complexe renfermant du carbonate et du phosphate de calcium (Muzzarelli & Peter, 1997). La présence de certains pigments, en particulier l'AST, confère la couleur rose-orangée des carapaces.

Structurellement, on peut trouver différentes formes cristallines polymorphes de la Ct. Ce sont la Ct α , β (Fig. 6) et γ . La Ct α correspond à une cellule étroitement compacte formée par des feuillets alternés de chaînes parallèles et antiparallèles. En revanche, la Ct β dans laquelle les chaînes de polysaccharides sont disposées de manière parallèle et les forces intermoléculaires sont beaucoup plus faibles que celles entre les chaînes de la Ct α . La γ -chitine, avec un arrangement de deux feuillets parallèles et un feuillet antiparallèle (Hamed, Özogul, & Regenstein, 2016). Ainsi, la structure de la plupart des chitines naturelles est de type α .

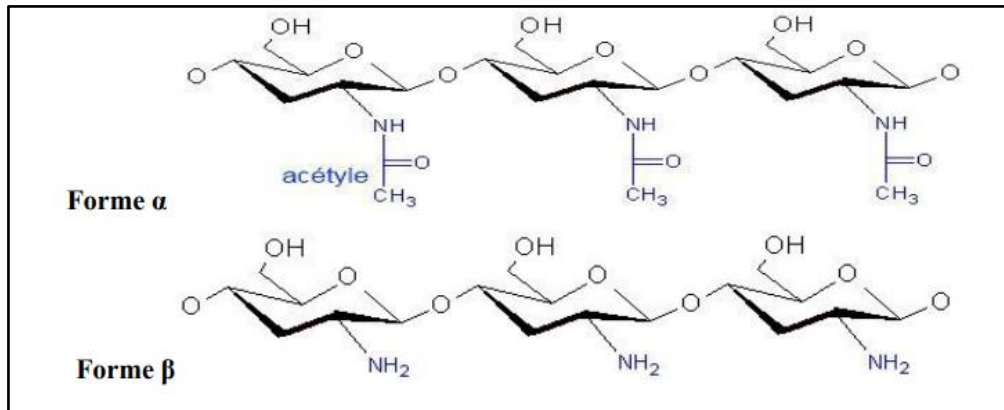


Figure 6 : Structure chimique de la chitine (forme α et β) (Oulhiz, 2018)

I.4.8.1.2. Source de la chitine

La Ct est un composant structural des exosquelettes de crustacés, mollusques et arthropodes. Elle est aussi rencontrée dans la structure de la membrane cytoplasmique de certains champignons et algues (Di Mario, Rapanà, Tomati, & Galli, 2008). Au-delà de son rôle dans le maintien de la rigidité cellulaire, elle contribue également au contrôle de la pression osmotique.

Bien qu'il existe de nombreuses sources potentielles de Ct (Tableau 2), cette dernière est principalement produite aujourd'hui à partir de carapaces de crevettes.

Tableau 2 : Variabilité de la teneur de la chitine chez quelques organismes (Tayel, , et al., 2010)

Source	Chitine (%)	Source	Chitine (%)
Arthropodes	2 à 72	Crabes <i>Chinoecetes</i>	26.6
Mollusques	6 à 40	Crevettes <i>Pandallus borealis</i>	17.0
Ponophores	33	Crevettes <i>Cangron cangron</i>	33
Cnidaire	3 à 30	Crevettes <i>Penaeus monodon</i>	3 à 30

I.4.8.2. Le chitosane

I.4.8.2.1. Définition et structure chimique

Au cours des dernières décennies, de nombreuses recherches ont porté sur le Cs comme source de matériaux bioactifs (Khanafari, Marandi, & Sanatei, 2008).

Le Cs est un polymère semi-cristallin de type polysaccharide qui résulte de la désacétylation de la chitine (Matet, 2014). C'est l'un des rares polyélectrolytes naturels cationiques (Pei Lian, 2010).

Le Cs est un produit non toxique et présente une solubilité dans les acides organiques à pH<6 tels que l'acide acétique, formique, lactique, succinique et malique. En revanche, il est insoluble dans l'eau, les milieux alcalins et les solvants organiques (Rabea, Badawy, Stevens, Smaghe, & Steurbaut, 2003).

À propos de la structure chimique, le Cs est un polymère linéaire ayant une séquence de 2-acétamido-2-désoxy- β -D-glucopyranose (N-acétyl-D-glucosamine, ou unité acétylée désignée par A, et de 2-amino-2-désoxy- β -D-glucopyranose (D-glucosamine, ou unité désacétylée désignée par D, liés entre elles par des liaisons glucosidiques de type β -(1,4) (Pei Lian, 2010).

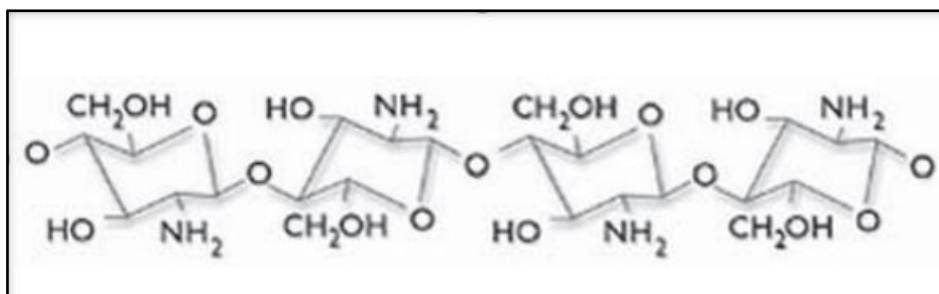


Figure 7 : Structure chimique du chitosane (Beaulieu, 2007)

I.4.8.3. Les propriétés de la chitine et du chitosane

I.4.8.3.1. Propriétés physico-chimiques

Degré de désacétylation :

Une des caractéristiques pour distinguer les deux polymères est le degré de désacétylation (DDA) qui correspond à la proportion d'unités désacétylées par rapport au nombre total

d'unités dans les chaînes, et est nécessaire pour permettre une solubilisation du chitosane dans une solution acide qui est autour de 50% (Lévesque, 1995; Pei Lian, 2010).

Le terme de chitosane n'est attribué qu'aux polymères de Ct désacétylés à plus de 75% (Khan, Peh, & Ch'ng, 2002).

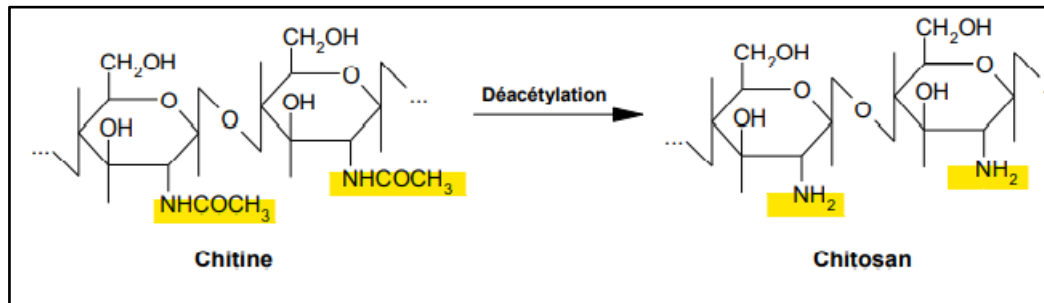


Figure 8 : Désacétylation de la chitine en chitosane (Randriamahatody, 2011)

Cristallinité :

La cristallinité est un paramètre important car elle contrôle un certain nombre de propriétés comme l'accessibilité des sites internes dans les chaînes macromoléculaires, les propriétés de gonflement dans l'eau ou encore les propriétés diffusionnelles (Rinaudo, 2006).

Solubilité :

La chitine est fortement hydrophobe et insoluble dans l'eau et dans la plupart des solvants organiques dû à son fort degré de cristallinité (Di Mario , Rapanà , Tomati , & Galli, 2008).

Le chitosane est soluble dans les solvants acides, généralement, les plus courants sont des mélanges à base d'acide acétique et d'acétate de sodium (Kassai, 2007).

Viscosité :

La viscosité du Cs varie en fonction : de son DDA (elle augmente proportionnellement avec sa solubilité : plus le Cs est désacétylé, plus les groupes aminés libres sont nombreux, plus il est soluble et plus sa viscosité est élevée) ; de sa concentration, de la température et du pH.

La réticulation du Cs en présence d'aldéhyde, tels le formol (CH_2O), le glyoxal ($\text{C}_2\text{H}_2\text{O}_2$) et le glutaraldéhyde ($\text{C}_5\text{H}_8\text{O}_2$) en milieu acide ou basique conduit à la formation d'un gel réversible grâce à la formation de liaisons hydrophobes dues aux groupements acétamide (Payet, 2005).

Masse moléculaire :

La masse moléculaire (MM) est une caractéristique très importante. Sa détermination nécessite la mise en solution du polymère, elle peut se faire par des mesures viscosimétriques (Amroun

& Taharount, 2011). Les Cs obtenus industriellement ont une masse molaire (MM) de l'ordre de 100- 500 kDa (Aljawish, 2013).

I.4.8.3.2. Propriétés biologiques :

Biodégradabilité :

La chitine et le chitosane sont biodégradables et non toxiques, en effet sous l'action de l'enzyme spécifique "la chitosanase". L'action de l'enzyme conduit à la production abondante de glucosamine ce qui indique une coupure des liens glycosidiques β (1-4). Le Cs se décompose en produits inoffensifs (sucres aminés) qui peuvent être absorbés par le corps humain (Fukamizo, Ohkawa, Ikeda, & Goto, 1994).

Biocompatibilité :

Lorsque les cellules du corps et les tissus acceptent une molécule, elle est dite biocompatible (Halim, Keong, Zainol, & Rashid, 2012). Le Cs est biocompatible c'est-à-dire que sa présence dans un organisme entraîne des réactions inflammatoires et des réactions de rejet très limitées (propriétés immunologiques). Il est biorésorbable avec des cinétiques faibles et contrôlées (Shi, et al., 2006). La biocompatibilité du Cs est caractérisée principalement par trois propriétés : sa non-toxicité, sa cytocompatibilité et son hémocompatibilité.

Pouvoir antimicrobien :

Le chitosane présente une activité antimicrobienne face aux différents groupes de microorganismes, bactéries, virus, champignons, et levures (Sagoo, Board, & Roller, 2002). Pour ces raisons, le Cs est largement utilisé dans des domaines très variés, notamment la médecine, les industries agroalimentaire et chimique, les industries pharmaceutiques, la nutrition, et l'agriculture (Chung, Wang, Chen, & Li, 2003). En interagissant avec les charges négatives des membranes cellulaires, les groupes amines du Cs perturbent la structure de la membrane et provoquent la destruction des microorganismes (Kong, Chen, Xing, & Park, 2010).

Pouvoir anti-oxydant :

En raison des atomes d'hydrogène protique des groupements amines au niveau de carbone C2 ou hydroxyles au niveau des carbones C3 et C6 du chitosane, ce biopolymère a une activité antioxydante formant des radicaux macromoléculaires (Jarmila & Vavříková, 2011). De plus, le Cs peut être utilisé pour retarder ou prévenir l'oxydation d'autres composés, principalement les graisses (lipides), ce qui évite le rancissement de certain aliment (Kaminski, Tomczak, & Jaros, 2008; Wydro, Krajewska, & Hąc-Wydro, 2007).

I.4.8.4. Procédés d'extraction du chitosane à partir des coproduits de crevettes

Il existe plusieurs méthodes de préparation du chitosane à partir de la chitine traitée (Roberts, 1992).

Le processus industriel le plus fréquemment employé pour l'extraction de la chitine comprend trois étapes principales : Déprotéinisation de la matière première par l'ajout d'une solution alcaline, déminéralisation par le traitement avec une solution acide et enfin, décoloration du produit obtenu par le traitement avec une solution alcaline (Leceta, Etxabide, Cabezudo, de la Caba, & Guerrero, 2014; Tuyishime, Byong, & Nsanzabera, 2017). Néanmoins, la déminéralisation et la déprotéinisation peuvent être effectués dans n'importe quel ordre. Également, La décoloration qui comprend une dépigmentation et délipidation peut être aussi réalisée en premier avant l'hydrolyse acide et alcalin.

I.4.8.4.1. Dépigmentation et délipidation

Le pigment des carapaces de crustacés se combine avec la chitine (Oulhiz, 2018). Cependant, la chitine provenant des ressources de crustacés doit être décolorée après les traitements acides et alcalins en vue d'applications industrielles (No, Meyers, & Lee, 1989).

La dépigmentation peut se faire par plusieurs méthodes, tel que l'élimination par l'éthanol ; l'éther (Youn, No, & Prinyawiwatkul, 2007) ou encore par le peroxyde d'hydrogène H_2O_2 (Brine & Austin, 1981).

I.4.8.4.2. Déminéralisation

La déminéralisation est une élimination de toute trace de minéraux dans les carapaces de crevettes par un traitement acide permettant le passage des minéraux en solution sous forme de sel.

Pour des raisons économiques ce traitement se fait par l'acide hydro-chloridrique (HCl) (Le Roux, 2012) dont la concentration minimale est déterminée par l'équation chimique de la réaction entre l'élément minéral majoritaire, le carbonate de calcium, et l'acide.

La déminéralisation est achevée une fois que les proportions sont stœchiométriques, elle est suivie par une étape de rinçage car le produit doit atteindre la neutralité avant l'étape suivante de déprotéinisation (Le Roux, 2012).

I.4.8.4.3. Déprotéinisation et déacétylation

Il s'agit d'un traitement basique à double action. Le processus consiste à éliminer les protéines associées à la chitine d'une part et à arracher les groupes acétyles d'autre part.

Les réactifs employés pour cette étape sont des bases fortes comme l'hydroxyde de potassium (KOH) et l'hydroxyde de sodium (NaOH) qui est fréquemment utilisé pour des raisons économiques et techniques (Oulhiz, 2018). Les concentrations utilisées sont comprises entre 0,3 et 2,5 M, avec un rapport solution/solide entre 10 et 40 (ml/g). La température est comprise entre 50 et 110 °C et la durée peut varier de 1 h à plus de 24 h (Tolaimate, Desbrieres, Rhazi, & Alagui, 2003; Al-Sagheer, Al-Sughayer, Shetranjiwalla-Merchant, & Elsabee, 2009).

Ces deux paramètres sont corrélés, par conséquent la durée doit être augmentée si la température est diminuée, et inversement.

I.4.8.5. Application du chitosane dans le traitement des eaux

Le Cs s'avère très efficace dans plusieurs domaines pour ses effets hypocholestérolémiants, ses actions anti-ulcère et antiacide, antitumorale et immuno-activatrices (Shahidi & Abuzaytoun, 2005).

Dans le domaine du traitement des eaux usées, le Cs est l'un des polysaccharides les plus étudiés, il s'est révélé très intéressant dans ce secteur en raison de sa teneur élevée en groupes de terminaison amines (extrémité N-terminale), de son comportement adsorbant efficace des polluants organiques et inorganiques et de sa nature inerte, sûre, non toxique, biocompatible, biodégradable, peu coûteuse, respectueuse de l'environnement et abondante (Li, Xiao, Zhang, Zhao, & Yang, 2017; Oladoja, Unuabonah, AMUDA, & Kolawole, 2017).

La plus grande utilisation du Cs est pour la coagulation / floculation et pour l'adsorption de métaux lourds. Pour capter les métaux lourds en solution dans l'eau, il est souvent conditionné sous forme de billes de quelques millimètres de diamètre, et il joue alors un rôle plus ou moins identique à celui des résines échangeuses d'ions (Crini, Badot, & Guibal, 2009; Wu, Tseng, & Juang, 2010).

I.5. Généralité sur *Legionella pneumophila*

I.5.1. Microbiologie et morphologie

Généralement, les légionelles sont des coccobacilles, à Gram-négatifs, aérobies stricts, et exigeantes sur le plan nutritionnel, elles varient de 0,3 à 0,9 µm de largeur et de 2 à plus de 20

µm de longueur (Garrity, Staley, Krieg, & Brenner, 2005; Burghal, 2020). Elles sont non capsulées et non sporulantes. La majorité des espèces sont mobiles employant un à trois flagelles polaires ou latéraux (Winn, 1988).

Le genre *Legionella* compte actuellement au moins 50 espèces comprenant 70 sérogroupes distincts (Bartram, Chartier, V Lee, Pond, & Surman-Lee, 2007). La *Legionella* produit des acides gras. Elle produit également des protéases possédant des propriétés hémolytiques et cytotoxiques, ainsi que des ADNases, ARNases et lipases, qui constituent tous des facteurs de virulence (Corporation, Moore, & Shelton, 2014; Bartram, Chartier, V Lee, Pond, & Surman-Lee, 2007). Ce sont des bactéries à catalase positive, hippurate positive, uréase négative, oxydase négative, non réductrices de nitrate et peut liquéfier la gélatine.

De plus, *Legionella* est une bactérie dont la coloration de Gram est difficile, contrairement aux autres espèces à Gram négatives car dans sa paroi, elle contient de grandes quantités d'acides gras ramifiés et de grandes quantités d'ubiquinone a des chaînes de 9 à 14 unités isoprènes. Cela rend la coloration des échantillons difficile (Garrity, Staley, Krieg, & Brenner, 2005).

I.5.2. Taxonomie

L'espèce "type" ou représentative de *Legionella* est *L. pneumophila*, car elle a été la première espèce à être décrite. Le nombre d'espèces, de sous-espèces et de sérogroupes de légionelles continue à augmenter (Bartram, Chartier, V Lee, Pond, & Surman-Lee, 2007). La classification simplifiée de ce germe est comme suit :

Phylum : Protéobacteria

Ordre : Legionellale

Famille : Legionellaceae

Genre : *Legionella*

Espèce : *Legionella pneumophila*

I.5.3. Ecologie et conditions de croissance

Les légionelles survivent dans des environnements où se trouvent leurs hôtes primaires, des protozoaires libres tels que les amibes, et dans les cellules macrophagiques chez l'homme. Cependant, les légionelles peuvent être observées dans des eaux allant du froid au très chaud. Elles sont capables de survivre dans des conditions défavorables aux autres organismes (température élevée, présence de biocides...) (Fields, Hoffman, Friedman, & Bendinelli, 2008;

Freney, Doléans-Jordheim, & Pernin, 2006). *Legionella spp* est une bactérie qui aime l'eau douce stagnante. Elle est présente dans les milieux aquatiques, les sols humides, l'air humide, et les eaux artificielles (Costa, Tiago, da Costa, & Veríssimo, 2005; Declerck, Behets, van Hoef, & Ollevier, 2007).

Legionella est une bactérie exigeante et difficile à cultiver. Le monomère de l'acide aminé L-cystéine et les sels de fer sont une condition nécessaire à sa croissance. Il s'agit d'un germe qui ne fermente pas le sucre (Fields, Benson, & Besser, 2002; Morio, et al., 2008). Leur multiplication est limitée à des températures comprises entre 25 et 42°C avec une croissance optimale à 35°C (Fields, Hoffman, Friedman, & Bendinelli, 2008). Elle fait partie des bactéries qui tolèrent l'acidité du milieu, mais le pH optimal pour sa croissance est de 6,9 (Katz & Hammel, 1987).

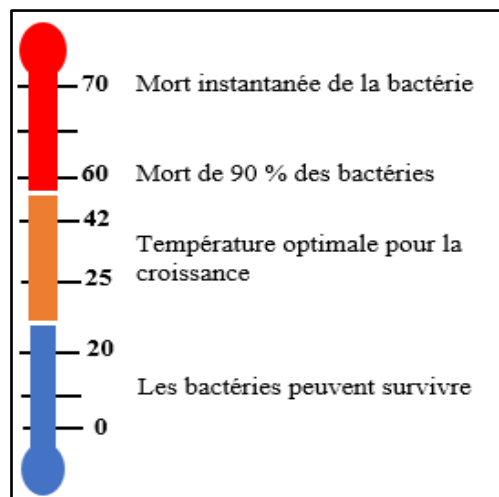


Figure 9 : Effet de la température de l'eau sur les légionelles (Fields, Hoffman, Friedman, & Bendinelli, 2008)

I.5.4. Epidémiologie

Cela fait plus de quarante ans que la bactérie *L. pneumophila* a été isolée pour la première fois. Une grave épidémie de pneumonie est survenue au cours de l'été 1976 parmi les personnes participant à une convention de l'American Legion à Philadelphie, en Pennsylvanie, aux États-Unis. Un total de 221 personnes a été infectées par une pneumonie sévère, et environ 15 % des cas en sont morts. La raison de l'épidémie de Philadelphie est restée inconnue pendant des mois, malgré des examens de laboratoire approfondis (Brenner, 1987; McDade, et al., 1977). À la suite d'une analyse concertée menée par des enquêteurs du Center for Disease Control and Prevention (CDC), l'agent responsable a été identifié comme étant un bacille à Gram négatif qui a été nommé ci-après *L. pneumophila*, son nom reflétant à la fois les victimes et l'infection

pulmonaire ; la maladie du légionnaire a été adoptée (Fraser, et al., 1977; Friedman, Yamamoto, & Klein, 2002). Après ces épidémies, les systèmes de surveillance et les contrôles furent évalués et gérés en cas de futures épidémies.

I.5.5. Pathogénicité et toxicité

La capacité de *Legionella* à infecter à la fois les protozoaires et les macrophages, y compris l'attachement des cellules bactériennes aux cellules hôtes, la réplication intracellulaire et la propagation de cellule à cellule, tout indique une pathogénèse (Zhan, Hu, & Zhu, 2015).

Une personne est atteinte de la maladie des légionnaires à la suite de l'inhalation d'aérosols aquatiques, tels que l'eau potable, les tours de refroidissement, les pommeaux de douche, les spas, les bains à remous et autres dispositifs artificiels générant des aérosols (Mizrahi, Peretz, Lesnik, Aizenberg-Gershtein, & Rodríguez-Martínez, 2017). En outre, de nombreuses personnes infectées par *Legionella*, déclarées séropositives, demeurent asymptomatiques (Glick, et al., 1978).

Selon les données récentes, il ne semble pas y avoir de transmission de l'animal à l'homme ou de l'homme à l'homme (Phin, et al., 2014; Borges, et al., 2016).

Il existe deux formes cliniques liées à l'infection par les légionelles :

- **La maladie des légionnaires** ou légionellose qui se caractérise par une pneumonie aiguë atypique modérée à mortelle (McDade, et al., 1977; Joseph & Ricketts, 2010). Elle est responsable de 1 à 5 % de la totalité des cas causés par *Legionella* (Bartram, Chartier, V Lee, Pond, & Surman-Lee, 2007; Benin, Benson, & Besser, 2002).
- **La fièvre de Pontiac**, une forme épidémiologique spécifique de légionellose, se manifeste par une courte période d'incubation (un à deux jours) et une maladie autolimitée de type grippal sans pneumonie (Kaufmann, et al., 1981).
- **Infections extra pulmonaires** : la présence de la bactérie peut être retrouvée au niveau d'autres organes que les poumons des organes, ce qui est plus fréquemment rencontré chez les personnes immunodéprimées. De plus, cette forme peut selon les cas conduire à une pneumonie ou non.

Ce syndrome était souvent initialement caractérisé par de la fièvre (de haut grade), de la faiblesse (OMS, 2004), une hémoptysie, une douleur thoracique et abdominale avec des symptômes gastro-intestinaux tels que les nausées et la diarrhée (Mulazimoglu & Yu, 2001). Environ la moitié des patients souffrent de troubles neurologiques, tels que maux de tête, délire,

confusion, stupeur, agitation et hallucinations (Jespersen, Søggaard, Schønheyder, Fine, & Østergaard, 2010).

Tableau 3 : Manifestations cliniques des légionelloses (Jarraud, Girardo, Reyrolle, & Etienne, 2002)

	Maladie des légionnaires	Fièvre de Pontiac	Localisations extra pulmonaires
Mortalité	20 %	0 %	Atteintes hématologiques
Période d'incubation	2-10 jours	1-2 jours	Atteintes neurologiques
Symptômes	Fièvre, toux, myalgie, céphalée, douleur thoracique, diarrhée, confusion	Syndrome grippal : fièvre, toux, myalgie	Atteintes cardiaques : myocardite, péricardite, endocardite
Poumon	Pneumonie, pleurésie, abcès pulmonaire	Pas de pneumopathie, pas d'abcès pulmonaire	
Rein	Désordres rénaux : protéinurie, hématurie, insuffisance rénale	Pas de manifestations	Atteintes musculaires, rhabdomyolyse
Foie	Peu d'anomalies de la fonction hépatique	Pas de manifestations	
Tractus gastrointestinal	Diarrhée aqueuse, douleur abdominale, nausées, vomissements	Pas de manifestations	
Système nerveux central	Somnolence, délire, désorientation, confusion	Pas de manifestations	

I.5.6. Diagnostique

La recherche d'un résultat prédictif qui identifie *L. pneumophila* chez chaque patient a échoué, les tests de diagnostic de *Legionella spp* se sont améliorés depuis 1976. Toutefois, il n'existe pas de méthode efficace pour diagnostiquer toutes les espèces de légionnelle. Il n'est pas toujours évident de procéder à un diagnostic précis après en avoir relevé les symptômes, à cause de leur analogie avec les symptômes de diverses maladies provoquées par d'autres virus ou bactéries.

Les légionnelles sont ainsi isolées des échantillons suivants : Lavage broncho-alvéolaire, expectoration, aspiration trachéale, aspiration bronchique, biopsie pulmonaire, liquide pleural, sang et du liquide articulaire, péricardique de façon exceptionnelle en cas de légionellose extra pulmonaire (Jarraud, Girardo, Reyrolle, & Etienne, 2002). Ces échantillons sont par la suite diagnostiqués par l'une des techniques ci-dessous :

La culture de prélèvements respiratoires :

La culture et l'isolement de *Legionella spp* à partir d'expectorations et de sécrétions respiratoires demeurent la méthode de référence pour le diagnostic de la maladie des légionnaires. Bien que la culture exige des milieux spéciaux, cette technique possède une spécificité de 100 % avec un traitement adéquat des échantillons et une expertise technique nécessaire.

Le milieu standard utilisé pour la culture de *Legionella spp* à partir de spécimens cliniques est une gélose au charbon tamponné avec extrait de levure complété par de l'acide céto glutarique, des colorants et des agents antimicrobiens (Jomehzadeh, Moosavian, Saki, & Rashno, 2019).

Cependant, la culture de cette bactérie est lente, les tout premiers résultats apparaissent seulement après 3 jours et peuvent aller par la suite jusqu'à 10 jours.

Les tests d'immunofluorescence directe :

Les tests d'immunofluorescence directe sont fréquemment utilisés pour la détection rapide de *Legionella* dans les échantillons respiratoires et tissulaires.

En revanche, la sensibilité de ce test est faible. Il est techniquement contraignant et des résultats faussement positifs peuvent être provoqués par des réactions croisées avec d'autres bactéries. (Jomehzadeh, Moosavian, Saki, & Rashno, 2019).

La recherche d'antigènes urinaire :

Le test de l'antigène urinaire a considérablement dépassé les autres méthodes de laboratoire pour le diagnostic de la maladie des légionnaires. Jusqu'à aujourd'hui, 97% des diagnostics cliniques sont acquis par ce test en vertu de sa rapidité, de la simplicité de la procédure, de la commodité de la collecte des échantillons, de son faible coût et de son accessibilité commerciale (Jomehzadeh, Moosavian, Saki, & Rashno, 2019).

Les antigènes apparaissent en début de période dans les 48 heures à 72 heures après la manifestation des symptômes chez 88% des patients. L'excrétion est prolongée et variable selon les patients de quelques jours à 2 mois en moyenne et jusqu'à un an chez certains patients. La détection des antigènes est habituellement menée par un test immuno-enzymatique (ELISA) ou par une technique d'immuno-chromatographie sur membrane (Jarraud, Girardo, Reyrolle, & Etienne, 2002).

Le test des antigènes urinaires est crucial pour la détection rapide et précoce des cas de *L. pneumophila* séro groupe 1. Les antigènes détectés sont des lipopolysaccharides (LPS) de la membrane externe de Legionella (Jarraud, Girardo, Reyrolle, & Etienne, 2002).

Sérodiagnostic :

La technique d'immunofluorescence indirecte (IFI) reste la méthode de référence, mais les techniques ELISA sont également proposées. Les anticorps détectés sont majoritairement dirigés contre le LPS de la membrane externe des légionelles. La chaîne polysaccharidique est le support de l'antigénicité O et est spécifique de chaque séro groupe de *L. pneumophila*. Les immunoglobulines totales sont dépistées (IgM, IgG et IgA). Les IgM ont été détectées très tard chez certains patients ; leur détermination ne permet pas de préciser l'ancienneté de l'infection (Jarraud, Girardo, Reyrolle, & Etienne, 2002).

Le test PCR :

La réaction en chaîne par polymérase (PCR) a initialement été utilisée pour détecter la Legionella en 1989 à l'Université de Stanford, quand des chercheurs ont associé la PCR au Southern blot pour détecter l'ADN de Legionella dans l'eau (Starnbach, Falkow, & Tompkins, 1989).

Les tests de dépistage par amplification génique sont conçus pour la détection de Legionella dans les prélèvements urinaires, les lavages broncho-alvéolaires et les sérums (Jarraud, Girardo, Reyrolle, & Etienne, 2002). La figure ci-dessous, résume les tests de diagnostics utilisés pour la recherche de Legionella pour différents types de prélèvement.

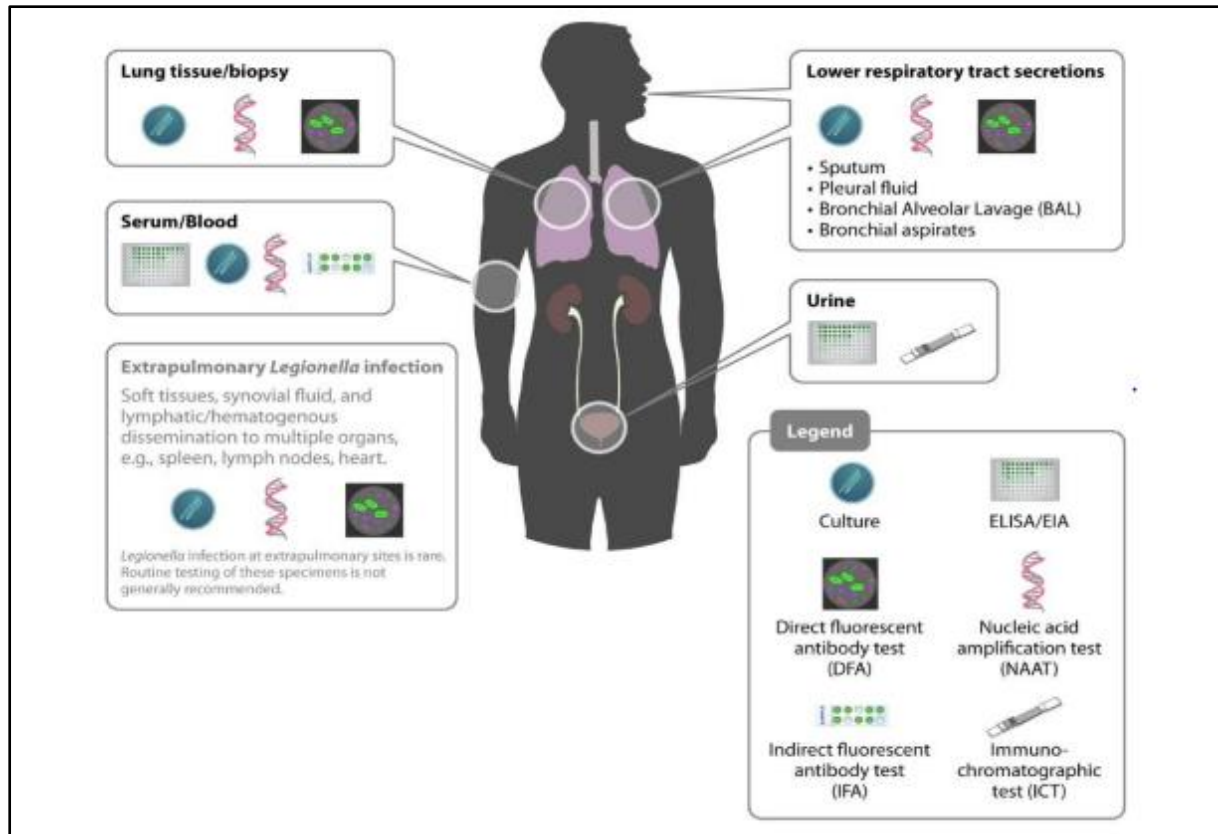


Figure 10 : Les tests de diagnostic pour la détection de *Legionella pneumophila*
(Mercante & Winchell, 2015)

En général, le succès de la détection de *Legionella* dépend de la sévérité de la maladie, de la technicité du laboratoire et des spécificités du test.

I.5.7. Traitement de la légionellose

Le taux de mortalité des légionelloses dépend essentiellement de la mise en place du traitement antibiotique adéquat contre *Legionella spp*, ainsi que de la réalisation de tests de laboratoire rapides. En revanche, lorsque l'administration d'un traitement adéquat est retardée, le taux de mortalité croît (Heath, Grove, & Looke, 1996).

Actuellement, le traitement de la légionellose se fait avec les antibiotiques lévofloxacine ou moxifloxacine de la famille des fluoroquinolones, ou encore l'érythromycine et l'azithromycine qui appartiennent à la famille des macrolides. Dans les cas les plus graves, le traitement consiste à combiner la rifampicine avec des macrolides ou des fluoroquinolones.

Le choix du traitement antimicrobien pour les légionelloses doit être déterminé en fonction de la gravité de la maladie, le degré d'immunodépression, ainsi que la qualité et la toxicité éventuelle des médicaments (Diederens, 2008).

Tableau 4 : Posologies recommandées dans le traitement des légionelloses (Stout, Arnold, & Yu, 1998)

Azithromycine*	500 mg / 24 h PO
Clarithromycine	500 mg / 12 h PO
Roxithromycine	300 mg / 12 h PO
Erythromycine	1g / 6 h IV 500 mg / 6 h PO
Lévofoxacine*	500 mg / 24 h PO ou IV
Ciprofloxacine	400 mg / 8 h IV 750 mg / 12 h PO
Ofloxacine	400 mg / 12 h PO ou IV
Doxycycline*	100 mg / 12 h PO ou IV
Minocycline*	100 mg / 12 h PO ou IV
Tétracycline	500 mg / 6 h PO ou IV

* : Un doublement de la posologie lors de la première administration est recommandé.

PO : Per Os (voie orale).

IV : Intra veineuse.

I.5.8. Désinfection des eaux contaminée par la *Legionella*

Une fois que des taux élevés de *Legionella* sont détectés, une désinfection de l'eau est essentielle afin de lutter contre les épidémies de légionellose. En général, des mesures doivent être prises quand la concentration de *Legionella* dépasse 10^3 UFC/l. Des normes plus restrictives s'appliquent aux zones à haut risque, notamment aux unités de soins intensifs et de transplantation (Exner, Pleischl, Grummt, & Engelhart, 2011). Durant ces dernières années, différentes méthodes ont été décrites pour combattre la prolifération de *Legionella* dans les réseaux de distribution d'eau potable et les tours de refroidissement (rinçage à la chaleur, irradiation par rayons ultraviolets, ozonation, ionisation des métaux, chloration et biocides) (Miyamoto, Yamaguchi, & Sasatsu, 2000). Hélas, la diminution du flux thermique et la formation des biofilms ainsi que la présence des bras morts dans les conduites du réseau d'eau perturbent souvent les tentatives de désinfection. En outre, l'interaction des légionelles avec les amibes entrave la désinfection des systèmes d'eau artificiels. Cette situation est compliquée par le fait que les protozoaires peuvent s'adapter aux biocides (Steinert, Hentschel, & Hacker, 2002; Steinert, Ockert, Lück, & Hacker, 1998; Srikanth & Berk, 1994).

Les méthodes de désinfection comprennent trois catégories : la désinfection chimique, la désinfection physique et la désinfection biologique. Le choix de la méthode de désinfection est généralement effectué en tenant compte des contraintes techniques, économiques et environnementales liées à cette dernière.

I.5.8.1. Décontamination physique

Le choc thermique :

La température est l'un des principaux facteurs de la présence et du développement de *Legionella spp* dans les milieux et les systèmes de distribution d'eau par canalisation. C'est la raison pour laquelle, une hausse de température (supérieure à 50 °C) est hautement recommandée pour l'élimination des légionelles et ainsi la diminution du risque de la légionellose (Girolamini, Salaris, Pascale, Mazzotta, & Cristino, 2022) .

En revanche, la désinfection thermique ne semble pas être suffisamment efficace pour éliminer les légionelles lorsqu'elle est utilisée comme traitement curatif, car cette bactérie est susceptible de développer une thermo-acclimatation (Farhat, et al., 2010).

La filtration :

La filtration est une technique très répandue en milieu hospitalier. Dans le cas de la légionelle on parle de microfiltration (Salvatorelli, Medici, Finzi, Lorenzi, & Quarti, 2005). Cette dernière consiste à filtrer les bactéries en installant des filtres d'une porosité inférieure à 0,45µm à la sortie de chaque lieu de passage d'eau (les robinets, les douches, les sanitaires...). Ces filtres vont retenir les particules dont le diamètre est supérieur à la porosité.

Cependant, cette méthode exige une surveillance permanente pour prévenir les problèmes liés au colmatage des filtres.

L'ozonation :

L'ozone (O₃) constitue une forme de désinfection physique qui peut être utilisée sous forme d'oxygène gazeux ou liquide.

Un des avantages de l'ozone est son efficacité contre les légionelles à des concentrations très faibles comparées aux concentrations de chlore utilisées. Il ne produit pas de sous-produits indésirables lorsqu'il est utilisé pour la désinfection, tels que des substances ayant des effets cancérigènes. Parmi ses inconvénients est sa destruction rapide, puisqu'il désinfecte instantanément les légionelles. Il n'est utilisé que pour désinfecter des parties spécifiques de

l'eau dans les systèmes de distribution (Corporation, Moore, & Shelton, 2014; Sabria & Yu, 2002).

Les Ultraviolets (UV) :

La désinfection par les UV se fait en générant une lumière à ondes courtes sur le site où *Legionella* est suspectée.

Le rayonnement ultraviolet se compose de trois bandes :

- Les UVA qui ont une longueur d'onde de 320 à 400 nm.
- Les UVB dont la longueur d'onde est comprise entre 280 et 320 nm.
- Les UVC avec une longueur d'onde de 100 à 280 nm et constituent les rayons UV les plus énergétiques.

Toutefois, cette méthode présente plusieurs inconvénients : Après l'arrêt du rayonnement, aucun résidu désinfectant efficace contre les légionelles ne persiste. Il est donc nécessaire de répéter l'exposition au rayonnement en continu. Elle n'affecte pas la formation du biofilm, qui doit être éliminé tant qu'il forme une cachette de *Legionella*. Les UV n'ont pas d'effet en cas de turbidité de l'eau, car ils ne peuvent pas la traverser. Leur utilisation nécessite un entretien des systèmes d'eau beaucoup plus important que dans le cas de l'utilisation du chlore ou bien la chloramine (Corporation, Moore, & Shelton, 2014; Dupuy, et al., 2011).

I.5.8.2. Décontamination chimique

I.5.8.2.1. Les biocides oxydants

Les biocides oxydants exercent un effet non sélectif sur les bactéries. Ils interviennent majoritairement sur les constituants cellulaires des micro-organismes via une oxydation chimique et induisent par conséquent l'arrêt de certaines fonctions cellulaires entraînant l'inhibition ou la destruction des micro-organismes.

La chloration :

Le chlore (Cl) affecte la respiration cellulaire, les activités de transport et détruit les acides nucléiques et les enzymes, ce qui entraîne l'inactivation des microorganismes (Kim, Anderson, Mueller, Gaines, & Kendall, 2002). Il est utilisé comme désinfectant sous les formes suivantes : chlore gazeux, hypochlorite de sodium (eau de Javel) et dioxyde de chlore.

Le principe de la désinfection par chloration est basique, et se résume à injecter du Cl dans l'eau à l'aide d'une pompe, puis il suffit d'attendre que celui-ci agisse.

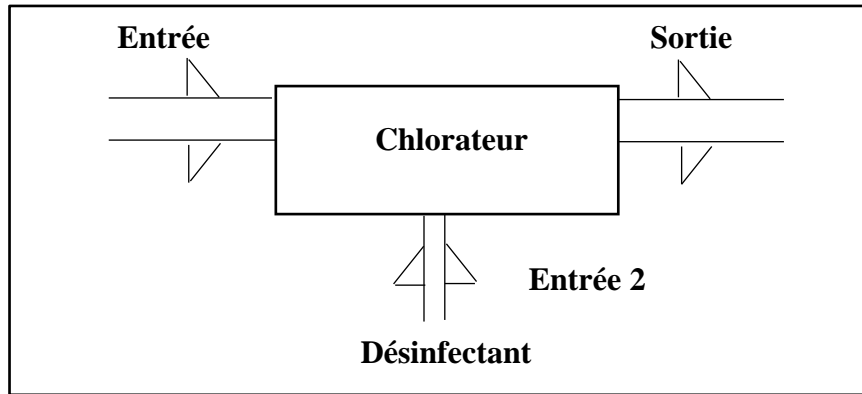


Figure 11 : Système de chloration de l'eau (Milous , 2011)

Par ailleurs, la désinfection par le Cl reste confrontée à 3 principaux inconvénients. Elle est associée à la formation de sous-produits de désinfection, à la corrosion et à l'absence d'effet résiduel à long terme. De ce fait, certaines études se sont intéressées au couplage du Cl avec des biocides permettant de réduire la concentration de Cl_2 . Le chlore couplé à l'argent (Ag) et au cuivre (Cu) permet de modifier la perméabilité de la cellule des légionelles en altérant la nature des protéines causant ainsi la mort des cellules (Pianetti , et al., 2008).

Cependant, le chlore reste le procédé le plus répandue en raison du cout et la facilité de la mise en place du traitement.

La chloramine :

La monochloramine (NH_2Cl) est la chloramine minérale la plus couramment employée pour désinfecter l'eau. Elle est obtenue en combinant du Cl avec de l'ammoniac. Le but de l'ajout d'ammoniac est de garantir la stabilité des résidus du Cl avec des concentrations efficaces contre les légionelles et de minimiser la production des sous-produits de désinfection (Marchesi, et al., 2013).

Le Peroxyde d'hydrogène H_2O_2 :

Le H_2O_2 également appelé eau oxygénée, est un bactéricide, virucide, fongicide et sporicide mais son efficacité dépend beaucoup de son temps de contact avec la contamination et de sa concentration (McDonnell & Russell, 1999; Labas, Zalazar, Brandi, & Cassano, 2008). Il est souvent utilisé en fumigation et associé avec de l'acide peracétique (Otter, et al., 2016). Son utilisation permet de ne laisser aucuns résidus toxiques après traitement et n'est pas dangereuse pour les opérateurs et l'environnement (Ríos Castillo, González Rivas, & Rodriguez-Jerez, 2017).

I.5.8.2.2. Les biocides non oxydants :

Les biocides non oxydants disposent le plus souvent un mode opératoire sélectif contre les bactéries. Pour cette raison, il est recommandé d'alterner deux biocides non oxydants avec un mode de traitement en choc. Cette méthode permet d'éviter le développement de résistances à ces biocides dans les circuits traités. De plus, ils se caractérisent par l'avantage d'avoir un faible pouvoir corrosif. Ces biocides comprennent le DBNPA (2,2-dibromo-3-nitro-propianoamide) en alternance avec l'isothiazolone qui se révèle moins efficace que le chlore ou le dioxyde de chlore contre la *L. pneumophila*.

D'autres biocides non oxydants sont également utilisés, tels que les amines et les aldéhydes. Ils exigent cependant une application à haute dose et une durée suffisamment longue afin d'obtenir des résultats significatifs, notamment contre *L. pneumophila*.

I.5.8.3. Décontamination biologique

L. pneumophila est connue pour sa capacité à se reproduire au sein de certaines souches d'amibes (Yamamoto, et al., 1992; Ohno, Kato, Sakamoto, Kimura, & Yamaguchi, 2008).

Dans une étude récente il a été démontré que *Willaertia magna* C2c Maky, une amibe non pathogène, a la capacité d'éliminer la souche *L. pneumophila* (Paris, Philadelphie et Lens) et il est envisagé pour être proposé en tant que biocide naturel pour le traitement des tours de refroidissement. *L. pneumophila* intracellulaire est efficacement éliminée par *W. magna* C2c Maky à 22 °C et 37 °C. Les résultats des expériences révèlent en effet non seulement la non-réplication, mais encore l'élimination des souches intracellulaires de Lens, Paris et Philadelphie dans cette amibe au bout de 24 h. A noter que la souche Philadelphia est selon la norme européenne EN 13623, la seule souche pour laquelle des tests sont requis pour valider un désinfectant contre les légionelles en Europe (Hasni, et al., 2020). Par ailleurs, *W. magna* C2c Maky n'est associé à aucune infection humaine ou animale, ce qui est cohérent avec l'absence de pathogénicité démontrée in vivo et suggérée par l'analyse génomique (Hasni, et al., 2019). Cet organisme est certainement un candidat sûr et efficace pour la lutte contre les légionelles dans les tours de refroidissement et pourrait constituer une solution alternative aux biocides chimiques.

Chapitre II : Matériel et méthodes

II.1. Matériel

II.1.1. Matériel biologique

Le matériel biologique qui a fait l'objet de la présente étude est :

- BSA (sérum albumine bovine).
- Carapaces de crevette de l'espèce *Aristeus antennatus*.
- Germe pathogène : *Legionella pneumophila*.

II.1.2. Matériel non biologique

Les différents dispositifs et réactifs utilisés sont énumérés dans le tableau ci-dessous :

Tableau 5 : Matériel et réactifs utilisés

Appareils	Réactifs
- Agitateur BIOBLOCK SCIENTIFIC.	- Acétone.
- Agitateur magnétique à 6 postes. (LABINCO BV).	- Acide Acétique.
- Agitateur magnétique chauffant (Fisherbrand™ LAB-MIX 35).	- Acide chloridrique (HCL)
- Agitateur magnétique chauffant (IKA® WERKA RCT basic).	- BCYE (Legionella GrowthSupplement).
- Bacs en inox.	- Eau de javel
- Balance de précision (KERN ABS 220-4N).	- Eau distillée.
- Balance de précision (SHIMADZU AUW220D UNI BLOC).	- Eau du robinet.
- Ballons (250 ml, 2 L)	- Eau physiologique.
- Barreaux magnétiques.	- Ether éthylique
- Bec bunsen.	- GVPC (Legionella SelectiveSupplement).
- Bêchers (25 ml, 50 ml, 100 ml, 2 L).	- Kit agglutination Legionella Latex Test.
- Boîtes de Pétri.	- NaOH (Hydroxyde de Sodium).
- Cartouches en cellulose.	- Réactif de Bradford.
- Ciseaux.	
- Congélateur.	
- Creusets en porcelaine.	
- Cuves de spectrophotométrie en quartz.	
- Densimètre.	
- Dispositif de Soxhlet (huberminichiller).	
- Disques pour antibiogrammes.	
- Etuve (MEMMERT UM 600).	

- | | |
|--|--|
| <ul style="list-style-type: none"> - Epruvettes graduées (10 ml, 500 ml). - Erlenmeyer 2 L. - Evaporateur rotatif (Ika HB10). - Ecouillons. - Entonnoirs en plastique et en verre. - Four à moufle (wise therm). - Fioles jaugés (500ml, 1 L). - Flacons ambrés (1 L). - Flacons en verre stériles (500 ml). - Flacons stériles à usage unique en PET 1 L. - Incubateur (NEW BRUNSWICK SCIENTIFIC G24). - Membranes de filtration (0.45µm) - Micropipettes et cônes stériles. (100-1000 µl). - Mixeur. - Mortier. - Papier absorbant. - Papier pH. - Passoire. - Pincés métalliques. - Pipettes Pasteur. - Pissettes. - Portoirs. - Rampe de filtration à 6 postes. - Seringues 5 ml. - Spatules. - Spectromètre FTIR - Spectrophotomètre UV-Visible (Shimadzu UV 1800). - Tamis de 200 µm. - Thermomètres. - Tubes à essais - Tubes à essais stériles. | |
|--|--|

II.2. Echantillonnage et prétraitement de la matière première

II.2.1. Collecte des carapaces de crevettes

La collecte des échantillons de carapaces de crevettes a été effectuée au mois de décembre 2021 au niveau de la pêche d'Alger.

L'identification de l'espèce a été établie selon les fiches de la FAO (Fischer, 1987), et avec l'aide de Mme Fellah au sein du laboratoire d'aquaculture de l'ENSSMAL à Dely Brahim.

II.2.2. Prétraitement de l'échantillon

Une fois que la matière première a été récoltée, ces coproduits de crevettes ont été débarrassés de leurs chairs. A la suite de ce décorticage, ces carapaces ont été rincées à l'eau du robinet de manière à éliminer les résidus de sable et de chair, puis une seconde fois à l'eau distillée. Ensuite, elles ont été séchées dans une étuve à 30°C pendant 72 h (Figure 12). Enfin, la matière séchée fut broyée à l'aide d'un mixeur et passée au tamis de 200 µm pour obtenir une poudre de granulométrie très fine.



Figure 12 : Prétraitement des carapaces de crevettes, (a) Carapaces lavées, (b) Séchage des carapaces dans l'étuve

II.3. Analyses de la composition biochimique globale des coproduits des crustacés

Les analyses de la composition biochimique globale des coproduits issus de l'espèce étudiée ont été réalisées au sein du laboratoire biochimique de l'ENSSMAL.

II.3.1. Matière humide

Pour déterminer la teneur en eau d'un produit, un échantillon de 2 g est prélevé et pesé dans un creuset de poids connu. Le creuset est ensuite placé dans une étuve à 105 °C pendant 24 heures, puis pesé à nouveau (AOAC, 1980). Le résultat est exprimé en pourcentage.

La teneur en eau est calculée par la perte de masse, après séchage de l'échantillon par la formule suivante :

$$H\% = \frac{M_1 - M_2}{M_1 - M_0} \times 100$$

Avec :

M_0 : poids du creuset vide ;

M_1 : poids du creuset avec l'échantillon avant étuvage à 105 °C ;

M_2 : poids du creuset avec l'échantillon après étuvage à 105 °C.

II.3.2. Teneur totale en matière minérale

La détermination de la teneur en cendres repose sur l'incinération des échantillons dans un four à moufle. Cette méthode consiste à peser 2 g d'échantillon séché dans un creuset puis placé dans le four à moufle à 600 °C pendant 4 h jusqu'à obtenir une cendre blanche. La cendre est placée dans un dessiccateur jusqu'à refroidissement total avant une nouvelle pesée. Le poids de cendre obtenue est équivalent à la teneur en minéraux (AOAC, 1990).

La teneur en minéraux est déterminée suivant la formule ci-dessous :

$$C\% = \frac{M_2 - M_0}{M_1 - M_0} \times 100$$

Avec :

M_0 : poids du creuset vide ;

M_1 : poids du creuset avec l'échantillon sec avant incinération à 600 °C ;

M_2 : poids du creuset avec l'échantillon après incinération à 600 °C.

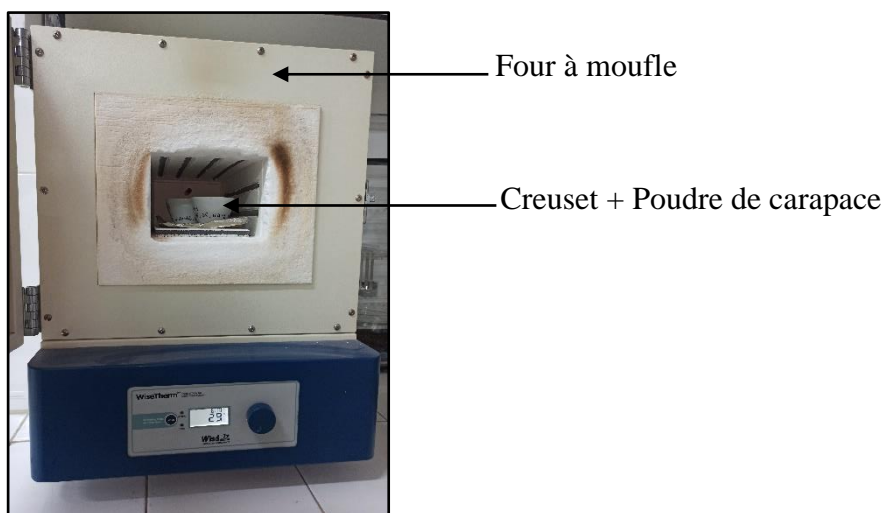


Figure 13 : Incinération de la poudre de carapaces dans le four à moufle

II.3.3. Teneur en protéines totales

La teneur en protéines est déterminée par un dosage colorimétrique selon la méthode Bradford (1976) modifiée, qui se définit par l'introduction de bleu de Coomassie dans un milieu acide. Le colorant se lie par des liaisons ioniques aux acides aminés basiques (l'arginine, la lysine et l'histidine) présents dans les protéines formant un complexe protéine-colorant (réaction de complexation). Cette dernière se manifeste par un virage de la couleur du brun au bleu et une absorbance proportionnelle à la concentration en protéines. Deux formes sont ainsi trouvées :

la forme anionique (liée) du colorant est bleue avec un spectre d'absorption maximal situé à 595 nm et la forme cationique (libre) du colorant de couleur rouge et brune avec un spectre d'absorption compris entre 465 et 470 nm ce qui explique le changement de couleur du brun au bleu en présence de protéines. La protéine albumine bovine sérique est utilisée pour l'élaboration de la courbe étalon.

Le dosage de protéines a été effectué selon le mode opératoire suivant :

- Une série de 14 tubes à essais énumérés pour la gamme et les échantillons a été préparée ;
- Une solution de BSA à 1% a été préparée ;
- Les échantillons (poudre de carapaces de crevettes) ont été dissouts dans un volume d'eau distillée déterminé ;
- Des volumes croissants de BSA ont été introduits dans les tubes de la gamme dans une fourchette de 0 à 100 μ l ;
- Les tubes d'échantillons sont remplis par les échantillons préalablement dissouts ;
- Ajouter un volume déterminé du réactif de Bradford dans chaque tube (gamme étalon et échantillons)
- Le mélange est incubé à l'abri de la lumière à une température ambiante pendant 10 minutes ;
- Un volume de chaque mélange a été prélevé après incubation est mis dans la cuve de photospectromètre ;
- La lecture a été réalisée à une longueur d'onde de 595 nm.

Les valeurs obtenues à partir des tubes de la gamme étalon permettent de tracer une droite étalon $A = f$ [protéines]. Cette proportionnalité nous permet de déduire la proportion de protéines contenue dans les carapaces de crevettes.



Figure 14 : Gamme étalon BSA

II.3.4. Teneur en lipides totaux

La méthode Soxhlet est une méthode gravimétrique sur laquelle repose la détermination des lipides dans les produits solides déshydratés. Le produit sec est pesé et inséré dans une cartouche de cellulose. Cette dernière est placée ensuite dans une chambre d'extraction (Matra). La matière est extraite continuellement avec de l'éther éthylique, à ébullition à 35 °C, qui dissout progressivement les graisses. Le solvant chargé de lipides retourne au ballon par écoulements successifs dus à un effet de siphon dans le coude latéral. Etant donné que seul le solvant est capable de s'évaporer à nouveau, la matière grasse s'accumule dans le ballon et cela jusqu'à ce que l'extraction soit achevée. A la fin de l'extraction, l'éther est évaporé, et la matière lipidique est pesée (Sahoré & Abouattier, 2016).

La détermination de la teneur en lipides totaux dans la poudre de carapaces de crevettes a été réalisée selon le mode opératoire suivant :

- Mettre en marche le refroidisseur à 2 °C ;
- Peser le ballon vide ;
- Peser 2 g de poudre de carapace de crevette dans une cartouche en cellulose ;
- Placer le ballon sur la plaque chauffante et déposer la cartouche dans la chambre d'extraction ;
- Préparer un blanc ne contenant que le solvant afin de vérifier la pureté de ce dernier ;
- Ajouter 160 ml d'éther éthylique ;
- Ajuster la température à 35 °C durant 4 heures afin d'extraire par épuisement tous les lipides présents dans l'échantillon ;
- Eteindre l'appareil et laisser refroidir les ballons ;

- Placer le ballon dans un rotavapeur à 60 °C dans le but de concentrer les lipides obtenus en éliminant le solvant ;
- Peser de nouveau le ballon (P_1).

La teneur en lipides totaux est calculée par la formule qui suit :

$$L\% = \frac{P_1 - P_0}{M} \times 100$$

Avec :

L (%) : La teneur en lipides totaux ;

P_0 : Le poids du ballon vide avant extraction ;

P_1 : Le poids du ballon après extraction.

M : Poids de l'échantillon sec (2g)

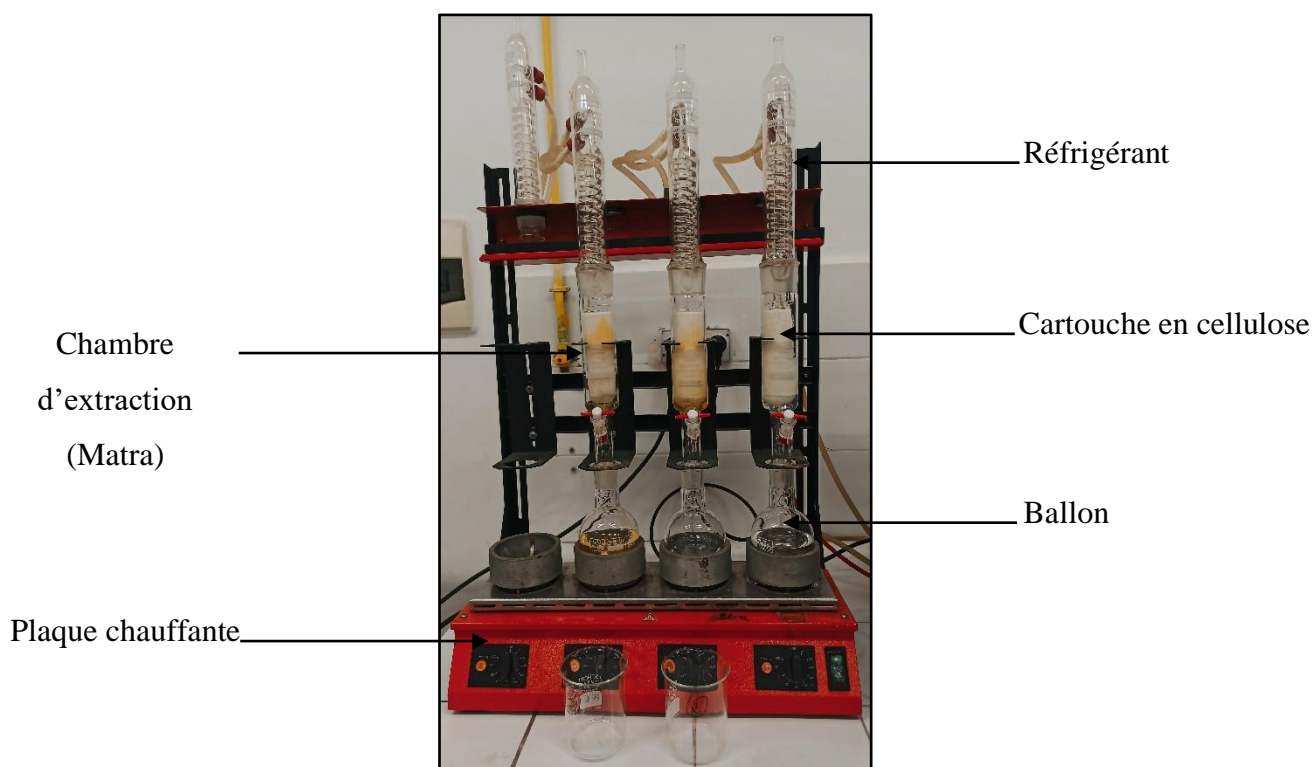


Figure 15 : Appareil de Soxhlet

II.4. Extraction de la chitine et du chitosane

L'extraction de la Ct et la production du Cs à partir de carapaces de crevettes, se fait par deux procédés, un biologique via des enzymes et un autre chimique qui consistant en un traitement acide pour la déminéralisation et un traitement alcalin pour la déprotéinisation (Liu, et al., 2020).

Dans la présente étude, le protocole adopté est celui de l'extraction chimique selon la méthode TROUNG modifiée (Truong, Hausler, Monette, & Niquette, 2007).

II.4.1. Dépigmentation et délipidation

La dépigmentation et la délipidation ont été réalisées dans le but d'éliminer tous les pigments et de lipides contenus dans la poudre de carapaces. Pour ce faire, la poudre de carapaces a été immergée dans un solvant d'acétone dans un flacon ambré de 1 L et ce pendant 48 h à température ambiante. Après la macération du mélange acétone et poudre, cette dernière est filtrée et placée dans une étuve permettant l'évaporation de l'acétone. Il en résulte à la fin une poudre dont la couleur s'est éclaircie.



Figure 16 : Dépigmentation et délipidation de la poudre de carapaces

II.4.2. Déminéralisation

La déminéralisation est classiquement faite par un traitement acide pour enlever toutes traces de minéraux dans la carapace (Caillau, 2017), qui passent en solution sous forme de sels solubles (principalement des carbonates et des phosphates).

Le traitement acide a été fait avec une solution de HCl 0.5 M, soluté/volume (1/10), sous agitation et chauffage à 50 °C pendant 1h. Par la suite, une filtration et un lavage ont été faits avec de l'eau distillée jusqu'à la neutralisation du pH.

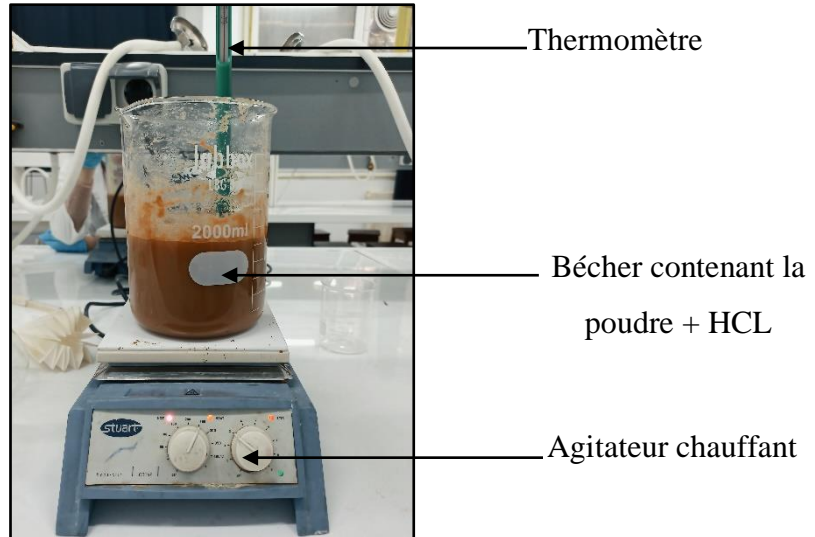


Figure 17 : Déminéralisation de poudre de carapaces

II.4.3. Déprotéinisation et déacétylation

Cette étape a été réalisée au moyen d'un traitement basique de la poudre avec la solution caustique NaOH 6 N soluté/volume (1/10) et sous agitation à 70 °C pendant 1 h. Par la suite, la poudre a été filtrée puis lavée avec de l'eau distillée et ce jusqu'à neutraliser le pH.

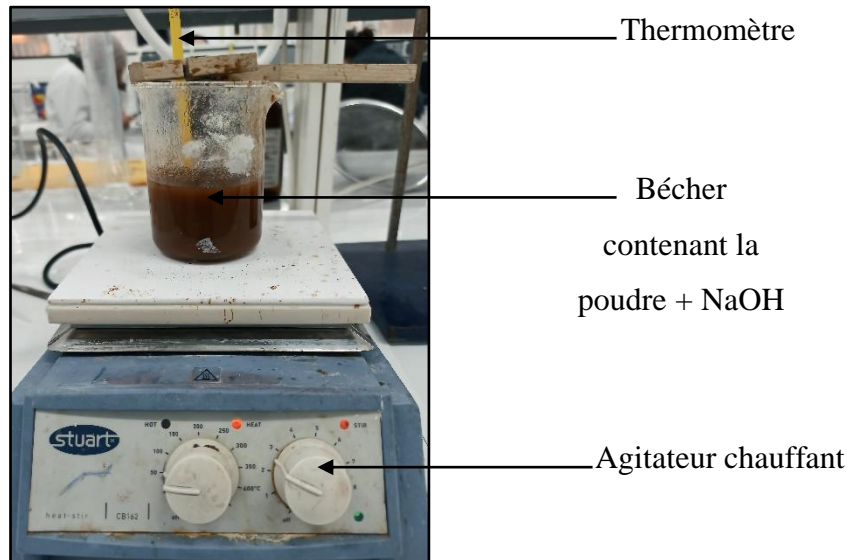


Figure 18 : Déprotéinisation de la poudre de capaces

II.5. Caractérisation du chitosane

II.5.1. Rendement du massique du chitosane

L'extraction du Cs est assurée par l'élimination des groupes acétyles de la chitine. Le rendement massique est déterminé sur la base du rapport entre le poids du Cs obtenu et le poids de la poudre de carapace de base (Le Roux, 2012), conformément à la formule ci-dessous :

$$Ym\% = M_f/M_i \times 100$$

Avec :

M_i : Masse initiale en g ;

M_f : Masse finale en g.

II.5.2. Test de solubilité

Le Cs est entièrement dissous dans 1 % d'acide acétique, en raison de la protonation des groupements amines.

Le test de solubilité a été réalisé en dissolvant 0,1g de poudre de Cs dans 10 ml d'une solution d'acide acétique (1%), sous agitation constante pendant une nuit à température ambiante jusqu'à sa solubilisation (Fernandez-Kim, 2004).

II.5.3. Détermination du degré de déminéralisation

Le degré de déminéralisation est calculé par la formule suivante (Rao, Muñoz, & Stevens, 2000) :

$$DM = (A_0 \times M_0) - (A_r \times M_r) / (A_0 \times M_0) \times 100$$

Avec :

M_0, M_r : Masse initiale et résiduelle du produit hydrolysé ;

A_0, A_r : Pourcentage de cendres dans le produit initial et résiduel respectivement.

Ces taux sont estimés par la méthode (AOAC, 1990) décrite ci-dessus.

II.5.4. Détermination du degré de déprotéinisation

Le degré de déprotéinisation (DP) a été calculé à l'aide de l'équation suivante (Rao, Muñoz, & Stevens, 2000) :

$$DP = (P_0 \times M_0) - (P_r \times M_r) / (P_0 \times M_0) \times 100$$

Où :

M_0, M_r : Masse initiale et résiduelle du produit ;

P_0, P_r : Taux de protéine initiale et résiduelle du produit.

II.5.5. Détermination du degré de déacétylation

II.5.5.1. Mesure par Spectroscopie Infrarouge à Transformation de Fourier (FTIR)

La spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier est une technique utilisée en chimie analytique. Elle est considérée comme un outil analytique rapide, non destructif, puissant qui permet d'étudier la structure et la composition chimique de petites molécules (Abidi, 2021). Elle est liée à la vibration des liaisons interatomiques. Elle consiste à irradier l'échantillon avec un rayonnement infrarouge. Lorsque la fréquence du rayonnement correspond à une fréquence de vibration des molécules exposées, il se produit un phénomène d'absorption. Il en résulte un pic d'absorption sur le spectre d'absorbance (Ahmed Hared , 2007).

Mode opératoire :

1 mg de poudre des polysaccharides séchés est mélangé avec 130 mg de KBr (Bromure de potassium). Le mélange est comprimé en un disque de KBr (8 tonnes pendant 5 minutes). La résolution spectrale est de 4 cm⁻¹ (Sari-Chmayssem, et al., 2019)

Le degré de désacétylation du chitosane a été déterminé par la formule suivante (Brugnerotto, et al., 2001) :

$$A_{1320}/A_{1420} = 0.3822 + 0.03133.DA \text{ avec } DA = 100 - DDA$$

Où :

A_{1320} : l'absorbance au nombre d'onde 1320 cm⁻¹ correspondant à l'amide III ;

A_{1420} : l'absorbance au nombre d'onde 1420 cm⁻¹ correspondant à la déformation symétrique de CH₃ et CH₂ ;

DA : Degré d'acétylation.

II.6. Revivification de *Legionella pneumophila*

II.6.1. Préparation de milieu de culture

La culture des légionelles est lente et difficile (jusqu'à 10 jours). Les légionelles sont des bactéries exigeantes (Jarraud, Girardo, Reyrolle, & Etienne, 2002). Par conséquent, la préparation du milieu de culture spécifique de *Legionella* constitue un préalable indispensable à la revivification de la souche. Le milieu de base des légionelles est autoclavé et le supplément de croissance BCYE et le supplément sélectif GVPC sont ensuite additionnés. Le supplément GVPC regroupe un ensemble d'antibiotiques visant à inhiber la croissance des autres types de bactéries. Une fois le mélange des composants fait, il ne restera plus qu'à couler les boîtes.



Figure 19 : Préparation du milieu de culture de *L. pneumophilla*

Mode opératoire selon le fabricant Mast Group Ltd :

- Mettre dans un bain marie 4 flacons contenant 250ml de milieu BCYE pour le faire fondre ;
- Utiliser de l'eau de javel pour désinfecter la paillasse et allumer le bec bunsen ;
- Préparer 2 flacons de 500 ml en verre stériles ;
- Prévoir 2 flacons de "supplément de croissance Legionella" et de "supplément sélectif Legionella", verser respectivement 25 ml et 10 ml d'eau distillée ;
- Lorsque le milieu est bien liquide, le retirer du bain marie et le laisser tiédir légèrement sous l'eau de robinet ;
- Verser deux flacons de 250 ml de milieu BCYE dans un flacon stérile de 500 ml, ajouter le supplément de croissance et le supplément sélectif, puis compléter les flacons avec du milieu BCYE jusqu'à la jauge ;
- Fermer les flacons et les secouer soigneusement ;
- Couler les boîtes et flamber celles-ci pour éliminer les bulles d'air avant de les fermer ;
- Laisser le milieu se solidifier ;
- Les boîtes préparées sont utilisables immédiatement ou conservables à 2-8 °C dans des sacs en plastique pour une durée pouvant aller jusqu'à plus d'une semaine.

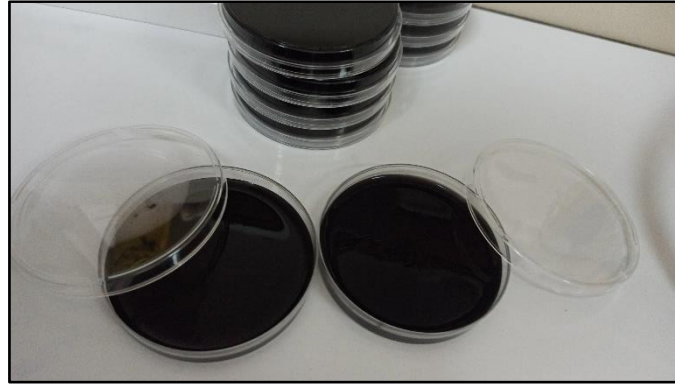


Figure 20 : Géloses BCYE et GVPC

II.6.2. Isolement de *L. pneumophila*

- Décongeler un tube de conservation dans lequel se trouve une suspension déjà inoculée avec *Legionella pneumophila* ATCC 33152 ;
- Homogénéiser la suspension à l'aide d'un vortex ;
- Prendre une goutte de la suspension avec une pipette Pasteur stérile ;
- Ensemencer la gélose BCYE et GVPC ;
- Incuber à $35\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$ pendant 10 jours.

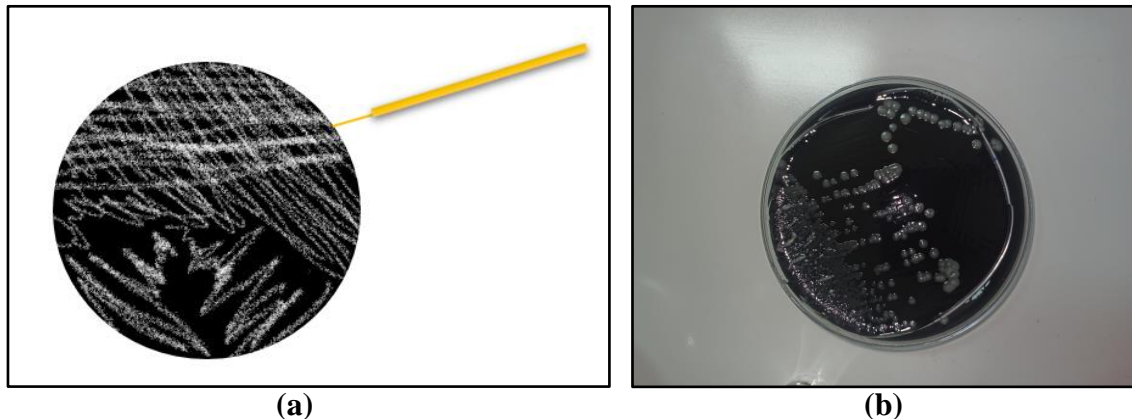


Figure 21 : (a) Schéma de la technique d'ensemencement par épaissement, (b) souche de référence *L. pneumophila* ATCC 33152

II.7. Etude l'efficacité du traitement d'une eau contaminée par Legionella par UV solaire et chitosane

L'efficacité de l'élimination de *L. pneumophila* par le Cs ou/et par irradiation aux UV solaires (SODIS) a été examinée. A cet effet, 500 ml d'eau distillée stérile ont été contaminés avec 0,1 McFarland (McF) d'une culture de légionelles puis placés dans des flacons de 1L en PET stériles à usage unique sous agitation magnétique continue durant 5h. L'expérience a été

réalisée au niveau de l'Institut Pasteur (IPA), en triplicate pour chaque traitement (Cs, SODIS, Cs-SODIS) durant les jours suivant :

- Le 10/04/2022 de 10h30 à 15h30,
- Le 17/04/2022 de 9h36 à 14h36,
- Et le 24/04/2022 de 9h10 à 14h10.

II.7.1 Décontamination par chitosane

La décontamination de l'eau se fait après mise en suspension du Cs dans une solution d'acide acétique à 1% (Fujimoto, Tsuchiya, Terao, Nakamura, & Yamamoto, 2006). Dans cette étude, nous avons cherché à vérifier un éventuel effet d'adsorption du Cs seul vis-à-vis de *Legionella*.

Mode opératoire :

- Contaminer 5L d'eau distillée stérile en introduisant 0.1 McF de *L. pneumophilla* ATCC 33152 ;
- Peser et ajouter 0,75 g de Cs dans chacun des trois flacons stériles ;
- Remplir les 3 flacons avec 500ml d'eau contaminée pour chacun ;
- Soumettre les flacons à une agitation magnétique continue sur une durée de 5h.



Figure 22 : Décontamination par chitosane

II.7.2. Décontamination par les UV solaires (SODIS)

La désinfection solaire de l'eau a incontestablement démontré son efficacité et a fait l'objet de tests approfondis pour une large gamme de micro-organismes, notamment les bactéries, les virus, les phages, les champignons et les protozoaires (Chauque & Rott, 2012; Heaselgrave & Kilvington, 2012; Pichel, Vivar, & Fuentes, 2019). Il a été établi que dans le processus SODIS ordinaire, basé essentiellement sur la synergie de l'effet optique et thermique du rayonnement

solaire, l'accélération de l'inactivation microbienne se produit proportionnellement à l'augmentation de la température de l'eau, en particulier de 30 °C à 45 °C (Rijal & Fujioka, 2001; Berney M. , Weilenmann, Simonetti, & Egli, 2006; Castro-Alferez, Polo-López, Marugán, & Fernández-Ibáñez, 2017; Vivar, Pilar, Fuentes, & López-Vargas, 2017; Nwankwo, Agunwamba, & Nnaji, 2019).

Mode opératoire :

- Contaminer l'eau distillée stérile avec 0,1 McF de *L. pneumophila* ATCC33152 ;
- Remplir les 3 flacons stériles avec 500ml d'eau contaminée pour chacun ;
- Déposer les flacons dans un lieu dont l'intensité lumineuse est maximale sous agitation magnétique continue pendant 5h.

II.7.3. Décontamination par Chitosane-SODIS

Cette manipulation a été faite dans le but de comparer l'efficacité de la désinfection par le chitosane seul et associée aux UV solaires.

Mode opératoire :

- Contaminer 5L d'eau distillée stérile avec 0.1 McF de *L. pneumophila* ATCC 33152 ;
- Peser et ajouter 0,75 g de chitosane dans chacun des trois flacons stériles ;
- Remplir les 3 flacons avec 500ml d'eau contaminée pour chacun ;
- Exposer les flacons à un endroit offrant un maximum d'intensité lumineuse sous agitation magnétique continue pendant 5h.



Figure 23 : (a) Décontamination par SODIS, (b) Décontamination par chitosane-SODIS

II.7.4. Décontamination par les billes à base de chitosane

Fabrication des billes de chitosane

Les billes de Cs ont été élaborées le 25/04/2022 dans le laboratoire de biochimie de l'ENSSMAL après dissolution de 3 g de poudre de Cs dans 100 ml d'une solution d'acide acétique à 2 % en agitant le mélange jusqu'à obtention d'un gel visqueux. Ensuite, le gel a été versé goutte à goutte à l'aide d'une seringue de 5ml dans 500 ml de solution de NaOH (6M) et a été laissé se stabiliser dans l'obscurité pendant une nuit. Les billes obtenues ont été filtrées et rincées avec de l'eau distillée.

La préparation a permis d'obtenir 47 g de billes de Cs de diamètre de 0.4 cm qui ont été réparties sur trois flacons stériles afin de désinfecter l'eau contaminée par les *L. pneumophila*. Donc, un total de 3 flacons contenant chacun environ 15 g de billes de Cs.



Figure 24 : Billes à base de chitosane

Mode opératoire :

- Contaminer 2L d'eau distillée stérile avec 0.1 McF de *L. pneumophila* ATCC 33152 ;
- Repartir 15 g de bille de Cs dans chacun des trois flacons stériles ;
- Remplir les 3 flacons avec 500 ml d'eau contaminée pour chacun ;
- Soumettre les flacons à une agitation magnétique continue durant 5h.

II.8. Evaluation de la qualité microbiologique de l'eau traitée

L'évaluation de la qualité microbiologique de l'eau traitée se fait par le calcul du taux d'abattement de *L. pneumophila* présente dans l'eau avant et après la désinfection par le chitosane, SODIS, chitosane-SODIS et les billes de chitosane.

La recherche et dénombrement de *L. pneumophila* a été réalisée par la méthode de filtration sur membrane (AFNOR, 2014). Cette méthode de concentration est le moyen le plus couramment utilisé dans les laboratoires, en raison de sa simplicité et sa rapidité. Elle correspond à une filtration d'un volume d'eau à travers des membranes stériles de porosité de 0,45 μm susceptibles de retenir les bactéries.

Dans la présente étude, un volume de 500 ml d'eau témoin contaminée est filtré pour estimer la charge bactérienne avant traitement. A la fin de chaque expérience, les volumes traités par les différentes méthodes de décontamination sont filtrés.

Présentation de l'appareil de filtration sur membrane :

Le dispositif est constitué de 6 postes de filtration simples (Figure 25) qui fonctionnent à basse pression via une pompe à vide, il contient également un support de filtre sur lequel est placée la membrane de filtration ainsi que l'entonnoir.



(1) : Support filtre où se place la membrane de filtration + entonnoir

(2) : Bec-bunsen

Figure 25 : Dispositif de l'appareil de filtration sur membrane

Mode opératoire :

Il convient de placer le dispositif entier devant un bec-bunsen et sur une paillasse préalablement nettoyée à l'eau de javel, de sorte à disposer d'une zone de travail stérile.

- Stériliser le dispositif avec de l'alcool suivi d'un flambage ;
- Assembler les différents constituants du dispositif de filtration ;
- Flamber le support de filtre ;

- Prendre la membrane de filtration stérile près du bord et la placer le côté quadrillé vers le haut sur le support de filtre à l'aide d'une pince à mors plat préalablement flambée ;
- Placer l'entonnoir stérile sur le support de filtre et la membrane ;
- Verser l'eau contaminée de chaque échantillon dans un entonnoir ;
- Evacuer le vide en ouvrant le robinet jusqu'à ce que l'échantillon soit complètement filtré ;
- Fermer le robinet une fois la membrane sèche ;
- Détacher l'entonnoir et placer la membrane dans le tube et ensemercer selon les recommandations AFNOR ;
- Flamber le dispositif par le bec Bunsen après chaque échantillon filtré pour empêcher toute contamination éventuelle ;
- Incuber les boîtes pendant (2-10 jours) à 37°C.



Figure 26 : Membrane de filtration 0,45µm

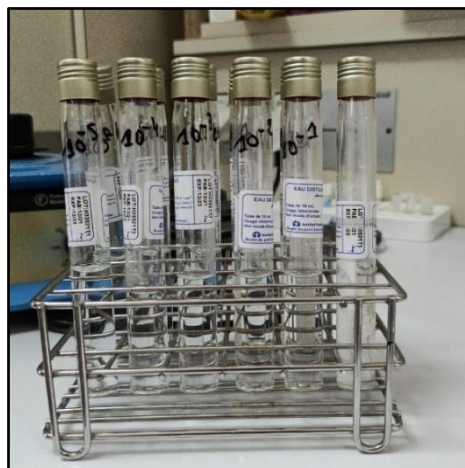


Figure 27 : Dilutions préparées

Chapitre III : Résultats et discussion

III.1. Identification de l'espèce

L'identification de l'espèce *Aristeus antennatus* repose sur des critères spécifiques décrits dans la fiche FAO (Fischer, 1987) et consignés dans le tableau 6 ci-dessous.

La tête (Céphalon) se compose comme chez tous les arthropodes de 2 yeux latéraux, 2 paires d'antennes, 2 paires d'antennules et une bouche entourée de pièces buccales. Le rostre est généralement denté. L'abdomen est plus long que la carapace ou la tête. Il est constitué de 6 segments portant chacun une paire de pattes abdominales qui sont élargies en forme de palettes. On trouve une pièce terminale différente des segments où s'ouvre l'anus ou le telson (Ginet & Roux , 1975).

Tableau 6 : Critères distinctifs pour l'identification de *Aristeus antennatus*. Fiche FAO (Fischer, 1987)





Critères	Rostre	Telson
Caractéristiques	<ul style="list-style-type: none"> Son bord dorsal est armé de 3 dents 	<ul style="list-style-type: none"> Long et très étroit, comprimé latéralement, se termine par une pointe aigue.
Selon la fiche FAO (Fischer, 1987)		
Espèce de la présente étude		



Figure 28 : Aspect de l'espèce *Aristeus antennatus* récoltée au niveau de la pêcherie d'Alger

III.2. Composition biochimique globale des coproduits de *Aristeus antennatus*

La composition biochimique des coproduits issus de la crevette *Aristeus antennatus* a été déterminée et exprimée par rapport à la matière sèche (MS). Les résultats sont présentés dans le tableau 7 et dans la figure 29 ci-dessous. Ces analyses indiquent la présence de 10.11 % d'humidité, 49.5% de minéraux, 7.13% de protéines et 4.82 % de lipides.

Tableau 7 : Composition biochimique globale des coproduits de *Aristeus antennatus* (MS)

Taux (%)	Présente étude	Guesmi et Hennous (2021)	Haddab et Kortbi (2020)	Kefil (2020)	Oulhiz (2018)
Teneur en eau	10.11	11.57	14.61	10.5	10.09 ± 0.09
Teneur en minéraux	49.5	39.88	37.49	32.6	28.09 ± 0.52
Teneur en protéines	7.13	8.3	28.96	24.26	30.63 ± 2.01
Teneur en lipides	4.82	11.04	6.99	8.7	3.22 ± 02.04

III.2.1. Teneur en eau

A la lecture du tableau 7. La teneur en eau, contenue dans les carapaces d'*A. antennatus* est de 10,11%, il s'agit d'une valeur relativement proche de celle rapportée par Oulhiz (2018) qui se trouve aux alentours de 10% chez la même espèce, par Kefil (2020) (10,5%) ainsi que celle enregistrée par Guesmi et Hennous (2021) (11,57%) chez l'espèce *Parapenaeus longirostris*. Quant à Haddab et Kortbi (2020), elles ont relevé des taux légèrement supérieurs (14,61%).

Ces résultats signifient que le séchage de notre échantillon dans l'étuve à 30°C pendant 72h a été efficace.

III.2.2. Teneur en minéraux totaux

Le résultat obtenu pour l'évaluation de la teneur en cendres des coproduits d'*A. antennatus* est de l'ordre de 49,5%.

Cette valeur est plus élevée que celles obtenues par l'ensemble des auteurs : Guesmi et Hennous (2021) (39,88%) pour la crevette *Parapenaeus longirostris*, Haddab et Kortbi (2020) (37,49%), Kefil (2020) (32,6%) pour le mélange de *Parapenaeus longirostris* et *Aristeus antennatus* et Oulhiz (2018) (28,09%) pour *Aristeus antennatus*. Ce qui révèle la richesse en éléments minéraux de notre échantillon.

La composition biochimique globale des coproduits de crustacés fluctue selon l'espèce, le sexe, l'âge, la saison et les conditions environnementales. De plus, ces variations peuvent être observées chez un même individu. Les crevettes perdent progressivement leur carapace au fur et à mesure de leur croissance en raison de la taille de celle-ci devenue inadaptée à leur corps, et à la suite de chaque mue, elles se trouvent alors dans la nécessité de reconstruire leur nouvel exosquelette, constitué à partir des minéraux absorbés dans le milieu naturel.

III.2.3. Teneur en protéine totales

La teneur en protéines de l'échantillon analysé est de 7,13 %. Ce pourcentage avoisine celui révélé par Guesmi et Hennous (2021) soit 8, 11%. En revanche, il est largement inférieur à celui reporté par Haddab et Kortbi (2020) (28,96%), par Kefil (2020) (24,26%) et par Oulhiz (2018) avec une teneur de 30,63 %.

Ce résultat est dû probablement à un décorticage et un nettoyage très poussé de la matière première. En effet, toute la chair collée à la carapace et au telson a été extraite afin de faciliter et d'optimiser l'étape de déprotéinisation. Néanmoins, il est à signaler que dans l'échantillon traité, les têtes étaient prédominantes et il a été démontré dans une étude que les têtes de crevettes ont une teneur en protéines qui atteint 57% (Randriamahatody, 2011).

Ainsi, chez les animaux aquatiques, il arrive fréquemment que des variations de la composition biochimique de la chair et des coproduits soient observées chez un même individu, des différences peuvent être constatées dans la région près de la tête par rapport à celle de la queue.

III.2.4. Teneur en lipides totaux

La teneur en lipides des coproduits de notre échantillon est presque du même ordre que celle trouvée par Oulhiz 2018 (4,82%, 3,22% respectivement) pour la même espèce. En revanche, elle est plus faible que celles relevées par Guesmi et Hennous (2021) pour *Parapenaeus longirostris*, par Haddab et Kortbi (2020), et par Kefil (2020) pour le mélange de *Parapenaeus longirostris* et *Aristeus antennatus* (11,04%, 6,99% et 8,7% respectivement).

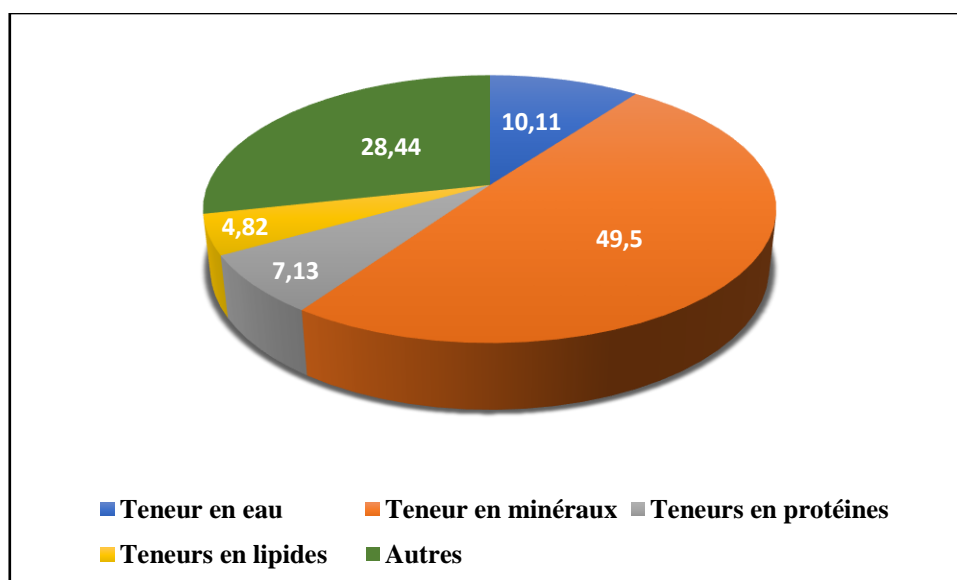


Figure 29 : Composition biochimique globale des coproduits d'*Aristeus antennatus* en pourcentage

III.3. Caractérisation du chitosane

III.3.1. Rendement massique

Tableau 8 : Rendements d'extraction du chitosane extrait des capaces de *A. antennatus*

	Présente étude	(Guesmi & Hennous, 2021)	(Haddab & Kortbi, 2020)	(Kefil, 2020)	(Oulhiz, 2018)
Rendement massique (%)	11	11.13	9.6	6.84	9.02

Le rendement massique du Cs obtenu par extraction à partir des coproduits de la crevette *Aristeus antennatus* est de 11% comme indiqué dans le tableau 8 ci-dessus.

La déminéralisation, la déprotéinisation et la désacétylation de la Ct ont permis d'obtenir un rendement massique assez voisin à celui obtenu par Guesmi et Hennous (2021), Haddab et Kortbi (2020), et Oulhiz (2018) qui est de 11.13 %, 9.6 %, 9.02 % respectivement.

En revanche, la valeur obtenue est plus élevée que celle notée par (Kefil, 2020) (6.84%).

Cette différence entre les résultats est due au fait que les rendements massiques varient en fonction de plusieurs facteurs tels que : la méthode d'extraction, les espèces utilisées, les saisons et les conditions environnementales (zones de pêche) (Özogul, et al., 2019).



Figure 30 : Aspect final du chitosane obtenu

III.3.2. Solubilité

Dans la solution d'acide acétique à 1%, le Cs extrait des coproduits se dissout entièrement, avec une apparence visqueuse et un aspect translucide, ce qui prouve que la désacétylation de la Ct a été bien effectuée.

Le Cs est soluble en milieu acide à $\text{pH} < 6.5$ contrairement à la Ct qui est insoluble. Cependant, il ne peut être dissous dans des solutions aqueuses neutres ou des solvants organiques (Ifremer, 2010). En effet, lorsque le pH est faible, les amines subissent une protonation et deviennent chargées positivement, le Cs devient alors un polyélectrolyte cationique hydrosoluble.

Inversement, lorsque le pH de la solution est élevé, le Cs est insoluble. Ce passage entre l'état soluble et insoluble du Cs se fait autour de la valeur du pKa pour un pH compris entre 6 et 6,5 (Yi, et al., 2005).



Figure 31 : Solubilisation du chitosane produit

III.3.3. Degré de déminéralisation et déprotéinisation

Le calcul du taux de protéines et de cendres résiduelles du chitosane permet d'évaluer l'efficacité des traitements de déminéralisation et de déprotéinisation des co-produits de crevettes. Le tableau 9 ci-dessous rapporte les résultats obtenus :

Tableau 9 : Degrés de déminéralisation et de déprotéinisation du chitosane produit

	Chitosane extrait
DM (%)	100
DP (%)	97.15

Au regard du tableau, le DM a atteint 100%, ce qui correspond à une élimination totale de minéraux dans le chitosane produit, bien que l'échantillon fût très riche en cendres (49,5%). Ce résultat est identique à celui obtenu par Guesmi et Hennous (2021). Pour Haddab et Kortbi (2020), elles ont obtenu un DM faible de 53,31%, probablement lié à la résistance des minéraux constitutifs de la carapace de la crevette aux attaques acides. Les concentrations de minéraux résiduels rapportées par KEFIL (2020) et OULHIZ (2018) sont de 6,36% et 1,53±0,44% respectivement.

Concernant le DP, nous avons enregistré un pourcentage de 97,15% qui se rapproche de celui obtenu par Haddab et Kortbi (2020) qui est de 100%. Kefil (2020) et Oulhiz (2018) ont respectivement enregistré des concentrations en protéines résiduelles de 1,53 % et de 0,04 à 0,88 %. Néanmoins, le taux obtenu est supérieur à celui révélé par Guesmi et Hennous (2021) (63,2%), indiquant ainsi une élimination presque totale des protéines après traitement à la chaleur et avec des bases fortes.

III.3.4. Degré de déacétylation

La spectroscopie FTIR a été effectuée dans une gamme de fréquences de 4000-500 cm⁻¹ sur des pastilles de KBr contenant le chitosane produit. Les résultats de la caractérisation révèlent une série de pics d'absorption qui sont représentés dans la figure 32 ci-dessous :

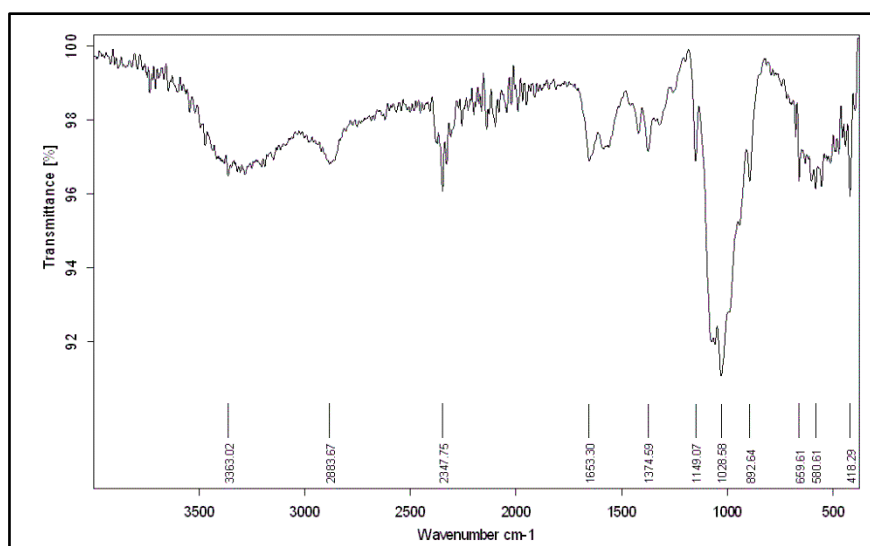


Figure 32 : Spectre FTIR du chitosane produit

Le spectre obtenu par FTIR a mis en évidence les liaisons qui caractérisent le Cs notamment les liaisons (O-H) dans les régions 3300 et 1155 cm^{-1} , les liaisons (C-H) dans les régions 2879 cm^{-1} , 2922 et 2888 cm^{-1} , les liaisons C=O aux pics 1660 , et aussi les liaisons (N-H) dans les régions 1643 , 1594 cm^{-1} .

D'après le spectre FTIR, le DDA du Cs extrait à partir des co-produits d'*Aristeus antennatus* est de 94.4% . Ce degré est légèrement élevé que celui obtenu par Haddab et Kortbi (2020) qui est de 80.31% .

Selon Li et *al* (2005), un DDA élevé ($>70\%$) indique que le chitosane est de bonne qualité. En solution, la viscosité de ce polymère dépend du DD. Plus il est désacétylé, plus il y a de groupements amines libres, plus le chitosane est soluble et par voie de conséquence sa viscosité est plus importante (Zemmouri, 2008).

III.5. Efficacité du traitement du chitosane et des UV solaires dans l'élimination de *L. pneumophila*

III.5.1. Etude du taux d'abattement de la légionnelle après traitement avec le chitosane

Après un traitement par chitosane produit pendant 5 heures d'une eau contaminée par $0,1\text{ McF}$ de *L. pneumophila* ATCC 33152. La moyenne des résultats obtenus pour chaque triplicate est représentée dans le tableau 10 ci-dessous :

Tableau 10 : Résultats du traitement par chitosane

Date	[C]	[C]	Taux d'abattement (%)
	Avant traitement (UFC/L)	Après traitement chitosane (UFC/L)	
10/04/2022	26×10^7	268×10^2	99.99
17/04/2022	44×10^7	2×10^4	99.99
24/04/2022	38×10^7	0	100

Au regard du tableau 10, le chitosane présente une activité antagoniste vis-à-vis de *Legionella pneumophila*. Le traitement par adsorption sur le chitosane semble très efficace puisque des taux d'abattement de 99,99% à 100% ont été enregistrés. Ces résultats sont très prometteurs puisque le chitosane seul semble suffisant pour épurer l'eau contaminée initialement avec des taux très élevées en légionelles.

Sagoo et al (2002) ; Chien et Chou (2006) ont rapportés que ce biopolymère possède une activité antimicrobienne vis-à-vis de différents groupes de microorganismes, bactéries, virus, champignons, et levures. En général, ces deux derniers sont les plus sensibles au chitosane suivies des bactéries.

Par ailleurs, l'activité antibactérienne du chitosane est influencée par de nombreux facteurs incluant l'origine biologique du chitosane, le pourcentage de désacétylation, le degré de polymérisation ou le poids moléculaire (No et al., 2002).

En effet, les propriétés fonctionnelles du chitosane sont également influencées par le matériel brut utilisé pour sa production et peuvent varier, aussi en fonction des espèces, mais également au sein d'une même espèce au cours de variations saisonnières. Le chitosane provenant de crustacés démontre des mécanismes antibactériens plus diversifiés que le chitosane d'origine microbienne. Plus le chitosane est désacétylé, plus son activité antimicrobienne est forte, indiquant que les groupes fonctionnels pour l'inhibition de la croissance sont les groupes aminés cationiques (Song et al., 2002).

III.5.2. Etude du taux d'abattement de la légionnelle après traitement avec SODIS

Après un traitement au SODIS d'une eau contaminée par *L. pneumophila* ATCC 33152 à 0.1 McF pendant 5 heures. La moyenne des résultats obtenus pour chaque triplicate en fonction des irradiations solaires incidentes sur plan horizontal est représentée dans le tableau 11 et la figure 33 ci-dessous :

Tableau 11 : Résultats du traitement SODIS

Date	[C] Avant traitement (UFC/L)	[C] Après traitement SODIS (UFC/L)	(%) d' abattement	Irradiations solaires incidentes sur plan horizontal (W/m ²)
10/04/2022	26×10^7	0	100	708.333333
17/04/2022	44×10^7	0	100	683.333333
24/04/2022	38×10^7	0	100	698.333333

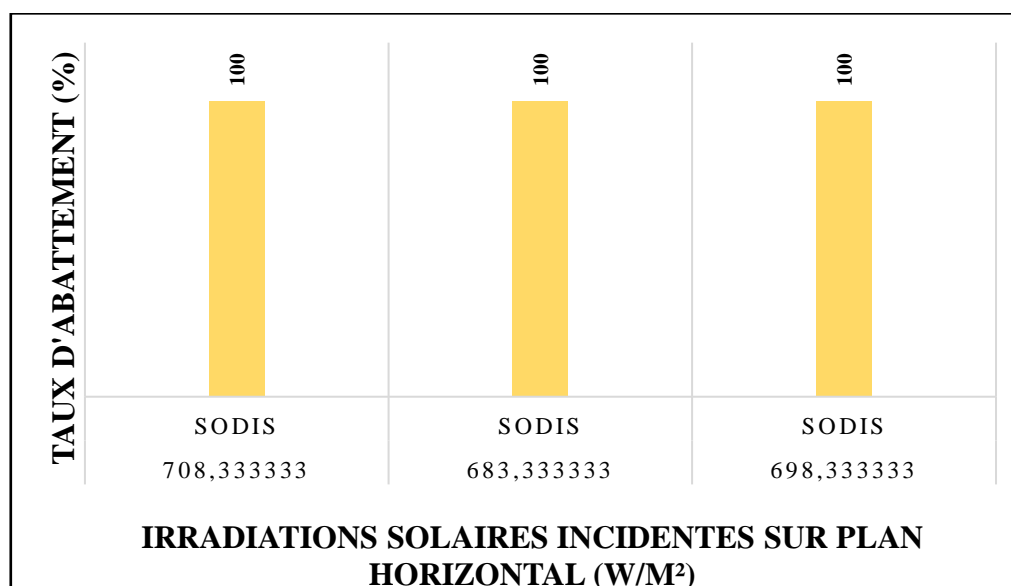


Figure 33 : Taux d'abattement de *L. pneumophila* avec traitement SODIS en fonction des irradiations solaires incidentes sur plan horizontal

Au vu des résultats obtenus après traitement par SODIS des eaux contaminées, nous constatons que cette méthode est très efficace et fiable dans l'élimination de *L. pneumophila*.

En effet, l'expérimentation a été répétée trois fois, à 07 jours d'intervalle, un rayonnement solaire moyen 700 W/M² et l'abattement de ce germe est de 100%.

En effet, il a été démontré que la lumière solaire a des effets néfastes sur les protéines cellulaires et les acides nucléiques. Les photons solaires attaquent les protéines, soit directement, soit indirectement par l'intermédiaire des dérivés réactifs de l'oxygène (DRO), et cela pourrait être le principal mécanisme d'action lors de la désinfection solaire (Berney, Weilenmann, & Egli, 2006; Bosshard, et al., 2010).

III.5.3. Etude du taux d'abattement de la légionnelle après traitement avec chitosane-SODIS

Après un traitement au Chitosane-SODIS pendant 5 h d'une eau contaminée par *L. pneumophila* ATCC 33152 à 0.1 McF. La moyenne des résultats obtenue en fonction de l'irradiation solaire incidente sur plan horizontal pour chaque triplicate est représentée dans le tableau 12 ci-dessous :

Tableau 12 : Résultats du traitement Chitosane-SODIS

Date	[C] Avant traitement (UFC/L)	[C] Après traitement Chitosane-SODIS (UFC/L)	(%) d'abattemen	Irradiations solaires incidentes sur plan horizontal (W/m ²)
10/04/2022	26×10^7	0	100	708.333333
17/04/2022	44×10^7	0	100	683.333333
24/04/2022	38×10^7	0	100	698.333333

Après observation du tableau, nous constatons l'élimination totale (100%) de *L. pneumophila* dans l'eau traitée par Chitosane- SODIS. Il est important de rappeler que les concentrations initiales en ce germe dans les expérimentations sont largement supérieures à celles retrouvées habituellement dans les réseaux hydriques. Ce système est hybride chitosane-SODIS est vrai semblablement très performant et stable puisque les expérimentations ont été répétées trois fois à chaque expérimentation et à 07 jours d'intervalle. En effet, l'adsorption, l'activité antagoniste du chitosane produit ainsi que les UV solaires peuvent se substituer au traitement énergivore, corrosif et polluant qui est celui du chauffage et l'eau de javel.

III.5.4. Etude du taux d'abattement de la légionnelle après traitement avec les billes de chitosane

Après un traitement avec les billes de chitosane sans soleil pendant 5 heures d'une eau contaminée par 0,1 McF de *L. pneumophila* ATCC 33152. La moyenne des résultats des triplicate obtenus pour chaque triplicate est représentée dans le tableau 13 ci-dessous :

Tableau 13 : Résultats après traitement par billes de chitosane

Date	[C]	[C]	Taux d'abattement (%)
	Avant traitement (UFC/L)	Après traitement Billes de chitosane (UFC/L)	
26/04/2022	112×10^7	490×10^6	56.24

Le taux d'abattement après traitement par les billes de chitosane à labri de la lumière et sans chauffage est de 56,24 % comme le montre le tableau 13 ci-dessus. Ce faible pourcentage résulte probablement d'une part à la faible quantité de billes utilisées (15 g de billes humides correspondant à 0.5 g de poudre de Cs mis en jeu) et d'autre part à la très forte concentration initiale en *Legionella* dans l'eau, ce qui limite l'efficacité d'adsorption et d'élimination. Alors que pour le Cs en poudre, la concentration idéale, relevée dans des travaux antérieurs, est de 1.5 g (Fujimoto, Tsuchiya, Terao, Nakamura, & Yamamoto, 2006).

Par ailleurs, il a été démontré dans plusieurs études que le conditionnement du chitosane sous forme de billes de gel augmente les capacités maximales d'adsorption. Elles pouvaient être considérées comme un biosorbant efficace pour l'élimination des métaux lourds tels que l'arsenic (As), le cuivre (Cu), et le nickel (Ni) et le chrome hexavalent (Cr VI) dans l'eau (Ayub, Raza, Majeed, Tariq, & Irfan, 2020; Ngah & Fatinathan, 2008; Eser, Nüket Tirtom, Aydemir, Becerik, & Dinçer, 2012). Néanmoins, il a été démontré que la taille des billes, la réticulation et la concentration initiale en ces métaux sont des paramètres cinétiques importants qui influent sur les performances de l'adsorption et donc du traitement appliqué.

De ce fait, pour optimiser l'élimination de *L. pneumophila* par les billes de chitosane, il convient de bien étudier les quantités exactes à mettre en œuvre pour une adsorption de la bactérie étant donné que dans la présente étude, le traitement par billes de chitosane est considéré comme un test préliminaire.

III.6. Etude comparative entre les différentes méthodes de traitement utilisées

Le tableau 14 et la figure 34 représentent respectivement les taux d'élimination de *Legionella* par le traitement au chitosane, et Chitosane-SODIS en fonction de l'irradiation solaire.

Tableau 14 : Taux d'abattement de *L. pneumophila* avec traitement Chitosane, et Chitosane-SODIS

Date	[C] Avant traitement (UFC/L)	[C] Après traitement Chitosane	% d' abattement	[C] Après traitement Chitosane-SODIS	% d' abattement
10/04/2022	26×10^7	268×10^2	99.99	0	100
17/04/2022	44×10^7	2×10^4	99.99	0	100
24/04/2022	38×10^7	0	100	0	100

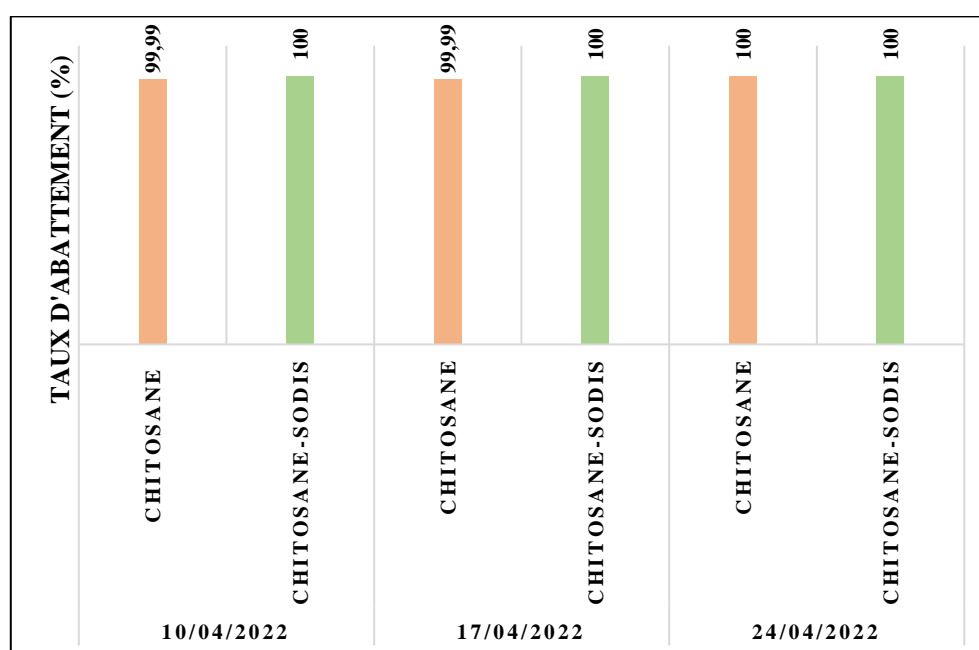


Figure 34 : Taux d'abattement de *L. pneumophila* avec traitement Chitosane, et Chitosane-SODIS

Comme représenté sur la figure 33 ci-dessus, les traitements chitosane et chitosane-SODIS pour les essais du 10 avril, 17 avril et 24 avril ont entraînés une réduction de *L. pneumophila* avec un taux d'abattement de 99.99 % pour le traitement avec le chitosane à l'abri du soleil et 100 % pour le traitement chitosane-SODIS avec un rayonnement solaire global qui se situe entre 698 et 708 W/m² (tableau 11).

Le traitement au Cs a permis de réduire la charge bactérienne en légionelles dans l'eau mais n'a pas atteint 100% dans le cas des deux tests effectués le 10 et le 17 avril. Seul le test du 24 avril a enregistré un abattement de 100%. En revanche, une élimination totale (100 %) de *Legionella* par le traitement Chitosane-SODIS a été observée, ce qui est probablement dû à son effet germicide basé sur l'effet combiné du chauffage thermique et de la lumière solaire provoquant l'élimination de l'agent pathogène.

Par conséquent, la combinaison du traitement chitosane avec les UV solaires semble être une bonne solution pour augmenter le taux d'abattement de *L. pneumophila* à 100%.

Tableau 15 : Moyennes des pourcentages d'élimination de *L. pneumophila* en fonction des différentes méthodes de traitement utilisés

Différents traitement utilisés	Chitosane	SODIS	Chitosane-SODIS	Billes de chitosane
Moyenne du taux d'abattement (%)	99,99	100	100	56,24

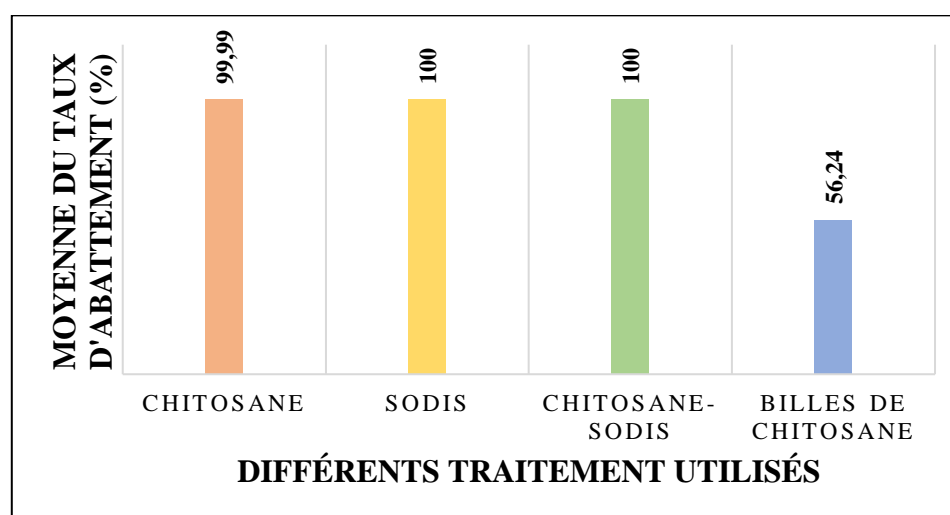


Figure 35 : Moyennes des pourcentages d'élimination de *L. pneumophila* en fonction des différentes méthodes de traitement utilisés

Au terme de l'étude et de l'observation des tableaux et figures ci-dessus, nous constatons que l'élimination de *L. pneumophila* dans l'eau au moyen du traitement chitosane est de 99,99%. Ce taux atteint les 100% en combinant le chitosane aux UV solaires ou en utilisant uniquement ces derniers, permettant ainsi un abattement total de la bactérie. Or, selon la réglementation, le

taux maximal de *L. pneumophila* admis dans les réseaux est de 10^3 UFC/L (Exner, Pleischl, Grummt, & Engelhart, 2011).

De ce fait, les résultats obtenus se sont avérés très satisfaisants puisque les concentrations initiales utilisées dans les expériences sont nettement plus élevées que les valeurs généralement observées dans les réseaux d'eaux. En effet, dans une étude réalisée en Allemagne par Lück et al (1999) les concentrations des légionelles dans les réseaux d'eau étaient comprises entre 10^3 et 10^5 UFC/L. Guesmi et Hennous (2021) ont enregistré également un taux d'abattement de 100 % en utilisant le traitement chitosane-SODIS.

Il est donc recommandé de recourir au procédé chitosane-SODIS pour le traitement des eaux chargées étant donné qu'il a démontré son efficacité. Néanmoins, le Cs seul reste une alternative pour le traitement de l'eau des tours de refroidissement pour les pays qui ne disposent pas d'un ensoleillement important, sans avoir recours à la chaleur.

En ce qui concerne le traitement par billes de chitosane, le taux d'abattement enregistré est plus faible (56,24%) par rapport aux autres traitements utilisés en raison de la faible quantité et la petite taille des billes (0.4 cm), et à la charge très élevée en légionelles dans l'eau durant l'expérience (112×10^7 UFC/L). Par ailleurs, ces résultats sont encourageants et le traitement avec les billes de chitosane est très intéressant car elles engendrent moins de turbidité dans l'eau à traiter que la poudre, ce qui permet une plus grande pénétration des rayons UV ; en outre les billes peuvent être récupérées après traitement plus facilement et recyclées.

Igoud et al (2014) ont démontré l'efficacité du processus de désinfection des eaux par les UV solaires et artificielles par rapport à celui de la chloration. Ainsi, les processus de désinfection solaires des eaux sont des traitements appropriés pour améliorer leur qualité microbienne et leur réutilisation

Igoud et al (2015), Moussaoui et Boumrar (2011) ont également démontré que la photolyse avec un temps d'exposition de 8 h, a permis une désinfection complète de tous les agents pathogènes à savoir les coliformes totaux, les coliformes fécaux, les streptocoques, les staphylocoques et les levures du seuil de détection de l'analyse microbienne, à l'exception des spores sulfito-réductrices.

Dans la présente étude, la durée d'exposition a été réduite à 5 h et les résultats obtenus se sont révélés très satisfaisants, démontrant qu'une élimination totale de *L. pneumophila* est possible à cette durée avec un rayonnement solaire compris entre 698 et 708 W/m². Ces résultats peuvent

être expliqués par l'inactivation des bactéries sous l'effet des rayonnements solaires. L'inhibition serait due à l'action des UVA, du visible et surtout des UVB via une action directe sur l'ADN des microorganismes (Ben Messaoud, 2009; Malato, Fernandez-Ibanez, Maldonado, Blanco Galvez, & Gernjak, 2009). En général, les micro-organismes présentent une sensibilité variable aux rayonnements UV. Les bactéries à Gram négatif résistent plus longtemps que les bactéries à Gram positif grâce au rôle protecteur assuré par le lipopolysaccharide, de la paroi des bactéries à Gram négatif, qui constitue une barrière pour les composés toxiques générés lors de la photolyse de l'eau (Maiga, Wethé, Ouattara, & Traoré, 2018).

Ces différentes méthodes de traitement ont toutes une performance remarquable. Par conséquent, le choix du traitement reposera essentiellement sur le type de contaminant, sa toxicité et sur sa résistance à la méthode choisie.

Conclusion et Perspectives

Conclusion et perspectives

Cette étude visait d'une part la valorisation biotechnologique des coproduits de crustacés en vue d'obtenir une biomolécule à haute valeur ajoutée (chitosane) et d'autre part d'étudier l'efficacité du traitement avec le chitosane dans l'élimination des légionelles présentes dans l'eau.

Une seule espèce a été identifiée dans les coproduits de crevettes collectées : *Aristeus antennatus*. Il ressort de la composition biochimique des coproduits de celle-ci, une richesse en minéraux (49.5%), en protéines (7.13%), en lipides (4.82%) et en polysaccharides dont la chitine (28.44%).

La caractérisation biochimique du chitosane produit a révélé que ce biopolymère est de très bonne qualité : une totale solubilité dans l'acide acétique avec un aspect visqueux, une importante déminéralisation et déprotéinisation ont été enregistrées (100% et 97,15% respectivement) ainsi qu'un fort degré de désacétylation (94.4 %). Cette dernière caractéristique serait à l'origine de son activité antagoniste et antibactérienne.

Plus le chitosane est désacétylé, plus son activité antimicrobienne est forte, indiquant que les groupes fonctionnels pour l'inhibition de la croissance sont les groupes aminés cationiques

Le traitement de l'eau contaminée par *L. pneumophila* par la méthode SODIS (photolyse), et la méthode Chitosane-SODIS ont fourni un très bon résultat, avec un taux d'abattement de 100% correspondant à une élimination totale de ce pathogène.

Le traitement chitosane sans exposition au soleil a permis d'obtenir des résultats remarquables avec une élimination presque totale de 99,99%.

Le traitement avec des billes de chitosane a enregistré un taux d'abattement de 56,24%, ce faible taux est probablement dû à la faible quantité de billes par rapport au volume d'eau à traiter et la forte charge microbienne.

Pour la décontamination des eaux chargées, il est recommandé d'utiliser le traitement par photolyse ou de lui associer le chitosane puisqu'ils ont fait preuve de leurs performances durant l'expérimentation.

On peut conclure ; d'après les résultats obtenus, la valorisation biotechnologique des coproduits de crevette ainsi que l'utilisation de l'irradiation UV dans le domaine de la décontamination des

eaux méritent un intérêt particulier. Elles constituent des solutions alternatives intéressantes et s'intègrent dans le concept du développement durable.

A plus long terme et pour approfondir et compléter ce travail, certaines pistes semblent prometteuses :

- Evaluer la rentabilité de l'extraction de chitosane à partir de coproduits de crevettes.
- Optimiser le traitement avec les billes de chitosane en employant les concentrations adéquates.
- Procéder à la caractérisation physico-chimique des billes, notamment leur surface et leur diamètre, par MEB et DRX.
- Développer des membranes de filtration à base de chitosane destinées à la microfiltration.
- Etudier le mécanisme et la cinétique d'adsorption de ce germe sur le chitosane produit.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- Brown, D., Gough, L., Deb, S., & Sparks, S. (2017). « Astaxanthin in Exercise Metabolism, Performance and Recovery: A Review », *Frontiers in Nutrition*, 4, 76. doi:10.3389/fnut.2017.00076.
- Abidi, N. (2021). Introduction to FTIR Microspectroscopy. Dans *FTIR Microspectroscopy : Selected Emerging Applications* (pp. 1-12). Cham, Switzerland: Springer. doi:10.1007/978-3-030-84426-4_1
- AFNOR. (2014). Qualité de l'eau - Recherche et dénombrement de *Legionella spp* et de *Legionella pneumophila* - Méthode par ensemencement direct et après concentration par filtration sur membrane ou centrifugation (NF T90-431 Novembre 2014). [En ligne]. [Consulté le : 28/05/2022]. Disponible sur le site web : <https://www.boutique.afnor.org/fr-fr/norme/nf-t90431/qualite-de-leau-recherche-et-denombrement-de-legionella-spp-et-de-legionell/fa182801/44017>
- Ahmed Hared , I. (2007). Optimisation d'un procédé de pyrolyse en four tournant: application à la production de charbons actifs». Thèse de doctorat. Energétique et Transferts. France : Institut national polytechnique, Toulouse, 10p. [en ligne]. [Consulté le : 22/04/2022]. Disponible sur le site web : <https://core.ac.uk/download/pdf/19938199.pdf>
- Aljawish, A. (2013). Fonctionnalisation enzymatique du chitosane par des composés phénoliques : évaluation des propriétés biologiques et physico-chimiques de ces nouveaux biopolymères. [En ligne]. Thèse de doctorat. Procédés biotechnologiques et alimentaires. France : Université de Lorraine, 37p. [Consulté le : 09/04/2022]. Disponible sur le site web : http://docnum.univ-lorraine.fr/public/DDOC_T_2013_0089_ALJAWISH.pdf
- Al-Sagheer, F., Al-Sughayer, M., Shetranjiwalla-Merchant, S., & Elsabee, M. (2009). Extraction and characterization of chitin and chitosan from marine sources in Arabian Gulf *Carbohydr. Carbohydrate Polymers*, 77, 410-419. doi:10.1016/j.carbpol.2009.01.032
- Amroun, D., & Taharout, K. (2011). Production et utilisation des chitosanes dans les procédés de coagulation-floculation. [En ligne]. Mémoire de master. Chimie de l'environnement. Algérie : Université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou, 10p. [Consulté le : 19/04/2022]. Disponible sur le site web : <https://www.ummo.dz/dspace/handle/ummo/2506>
- Andrieux, G. (2004). Rapport sur la filière française des coproduit de la pêche et de l'aquaculture : état des lieux et analyse. Ofimer (devenu France AgriMer). Paris. p. 1-59. [En ligne]. [Consulté le : 24/03/2022]. Disponible sur le site web : <http://bibliomer.ifremer.fr/consult.php?ID=2004-2795>
- AOAC. (1980). *AOAC: Official Methods of Analysis, 1980*. Washington DC,: Association of official analytical chemists. [En ligne]. [Consulté le : 15/05/2022]. Disponible sur le site web : <https://archive.org/details/gov.law.aoc.methods.1980/page/n13/mode/2up>

- AOAC. (1990). *AOAC : Official Methods of Analysis (Volume 1)*. Washington DC: Association of Official Analytical Chemists. [En ligne]. [Consulté le : 24/03/2022]. Disponible sur le site web : <https://law.resource.org/pub/us/cfr/ibr/002/aoac.methods.1.1990.pdf>
- Archer, M., & Russell, D. (2007). *Crustacea processing waste management*. [En ligne]. [Consulté le : 01/04/2022]. Disponible sur le site web : Seafish Research & Development, 60 : <https://www.seafish.org/document/?id=A8C385D7-0CDD-4074-A1F0-72A41474EE64>
- Ayub, A., Raza, Z., Majeed, M., Tariq, M., & Irfan, A. (2020). Development of sustainable magnetic chitosan biosorbent beads for kinetic remediation of arsenic contaminated water. *International Journal of Biological Macromolecules*, 163, 603-617. doi:10.1016/j.ijbiomac.2020.06.287
- Bartram, J., Chartier, Y., V Lee, J., Pond, K., & Surman-Lee, S. (2007). Legionella and the prevention of legionellosis. World Health Organization. [En ligne]. [Consulté le : 24/04/2022]. Disponible sur le site web : https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/43233/9241562978_eng.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Beaulieu, C. (2007, 07). Les effets multiples du chitosane. *Phytothérapie*, 5, 38-45. doi:10.1007/s10298-007-0233-7
- Bedian , L., Villalba-Rodríguez, A., Hernández-Vargas, G., Parra-Saldivar, R., & Iqbal, H. (2017). Bio-based materials with novel characteristics for tissue engineering applications. *International Journal of Biological Macromolecules*, 98, 837-846. doi:10.1016/j.ijbiomac.2017.02.048
- Ben Messaoud, A. (2009). Etude expérimentale et modélisation d'un procédé de désinfection par rayonnement UV. thèse de doctorat. Génie des procédés et de l'environnement. France : Institut National des Sciences Appliquées de Toulouse, 25p. [En ligne]. [Consulté le : 30/05/2022]. Disponible sur le site web : <https://docplayer.fr/18405747-Etude-experimentale-et-modelisation-d-un-procede-de-desinfection-par-rayonnement-uv.html>
- Benin, A., Benson, R., & Besser, R. (2002). Trends in legionnaires disease, 1980-1998: declining mortality and new patterns of diagnosis. *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America*, 35, 1039-1046. doi:10.1086/342903
- Berney, M., Weilenmann, H.-U., & Egli, T. (2006). Flow-cytometric study of vital cellular functions in Escherichia coli during solar disinfection (SODIS). *Microbiology*, 152(6), 1719-1729. doi:10.1099/mic.0.28617-0
- Berney, M., Weilenmann, H.-U., Simonetti, A., & Egli, T. (2006). Efficacy of solar disinfection of Escherichia coli, Shigella flexneri, Salmonella Typhimurium and Vibrio cholerae. *Journal of Applied Microbiology*, 101(4), 828-836. doi:10.1111/j.1365-2672.2006.02983.x
- Borges, V., Nunes, A., Sampaio, D., Vieira, L., Machado, J., Simões, M., . . . Gomes, J. (2016). *Legionella pneumophila* strain associated with the first evidence of person-to-person

- transmission of Legionnaires' disease: a unique mosaic genetic backbone. *Scientific Reports*, 6, 26261. doi:10.1038/srep26261
- Bosshard, F., Riedel, K., Schneider, T., Geiser, C., Bucheli, M., & Egli, T. (2010). Protein oxidation and aggregation in UVA-irradiated *Escherichia coli* cells as signs of accelerated cellular senescence. *Environmental Microbiology*, 12(11), 2931-2945. doi:10.1111/j.1462-2920.2010.02268.x
- Boualem, Z., & Hocine, A. (2018). Valorisation biotechnologique des coproduits de crevette rouge *Aristeus antennatus* (Risso, 1816): Etude du pouvoir antioxydant et antimicrobien du chitosane. [En ligne]. Mémoire de master. Hydrobiologie marine et continentale. Algérie : Université Abdelhamid Ibn Badis-Mostaganem, 40p. [Consulté le 01/04/2022] disponible sur le site web : <http://e-biblio.univ-mosta.dz/bitstream/handle/123456789/4109/m%c3%a9moire%20master%202018.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Brenner D. J. (1987). Classification of the legionellae. *Seminars in respiratory infections*, 2(4), 190–205. [En ligne]. [Consulté le : 27/04/2022]. Disponible sur le site web : <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3328889/>
- Brine, C., & Austin, P. (1981). Chitin isolates: Species variation in residual amino acids. *Comparative Biochemistry and Physiology -- Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 70(2), 173-178. doi: 10.1016/0305-0491(81)90031-6
- Brugnerotto, J., Lizardi, J., Goycoolea, F., Argüelles-Monal, W., Desbrières, J., & Rinaudo, M. (2001). An infrared investigation in relation with chitin and chitosan characterization. *Polymer*, 42(8), 3569-3580. doi:10.1016/S0032-3861(00)00713-8
- Mathieu Caillau. Nanotechnologie verte : des polymères de la biomasse comme résines éco-efficientes pour la lithographie. Autre. Université de Lyon, 2017. Français. ffNNT : 2017LYSEC037ff. fftel01661444f
- Castro-Alfárez, M., Polo-López, M., Marugán, J., & Fernández-Ibáñez, P. (2017). Mechanistic modeling of UV and mild-heat synergistic effect on solar water disinfection. *Chemical Engineering Journal*, 316, 111-120. doi:10.1016/j.cej.2017.01.026
- Chaúque, B., & Rott, M. (2012). Solar disinfection (SODIS) technologies as alternative for large-scale public drinking water supply: Advances and challenges. *Chemosphere*, 281, 130754. doi:10.1016/j.chemosphere.2021.130754
- Chien, Po-Jung & Chou, Cheng-Chun. (2006). Antifungal activity of chitosan and its application to control post-harvest quality and fungal rotting of Tankan citrus fruit (*Citrus tankan* Hayata). *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 86(12). 1964 - 1969. doi:10.1002/jsfa.2570.
- Chung, Y.-C., Wang, H.-L., Chen, Y.-M., & Li, S.-L. (2003). Effect of abiotic factors on the antibacterial activity of chitosan against waterborne pathogens. *Bioresource Technology*, 88(3), 179-184. doi:10.1016/s0960-8524(03)00002-6

- Corporation, R., Moore, M., & Shelton, S. (2014). Updated Guidelines for the Control of Legionella in Western Pennsylvania: Allegheny County Health Department Pittsburgh Regional Health Initiative. [Consulté le : 25/04/2022]. Disponible sur le site web : https://www.alleghenycounty.us/uploadedFiles/Allegheny_Home/Health_Department/Resourcess/Data_and_Reporting/Infectious_Disease_Epidemiology/2014_FINAL_Legionella_Guidelines_for_Western_PA.pdf
- Costa, J., Tiago, I., da Costa, M., & Veríssimo, A. (2005). Presence and Persistence of Legionella spp. in Groundwater. *Applied and Environmental Microbiology*, 71(2), 663-671. doi:10.1128/AEM.71.2.663-671.2005
- Grégorio Crini, Pierre-Marie Badot, Eric Guibal. (2009) Chitine et chitosane - du biopolymère à l'application. presses universitaires de franche-comté, pp.208. [en ligne]. [Consulté le 26/03/2022]. Disponible sur le site web : <https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-00355301>
- Davinelli S, Nielsen ME, Scapagnini G. (2018). Astaxanthin in Skin Health, Repair, and Disease: A Comprehensive Review. *Nutrients*. 10(4), 522. doi: 10.3390/nu10040522
- Declerck, P., Behets, J., van Hoef, V., & Ollevier, F. (2007). Detection of Legionella spp. and some of their amoeba hosts in floating biofilms from anthropogenic and natural aquatic environments. *Water Research*, 41(14), 3159-3167. doi:10.1016/j.watres.2007.04.011
- Delannoy, C., & Coquelle, M. (2017). Valorisation des coproduits marins. *Techniques de l'ingénieur Agroalimentaire*. [en ligne]. [Consulté le 30/03/2022]. Disponible sur le site web : doi:10.51257/a-v1-bio9150
- Di Mario , F., Rapanà , P., Tomati , U., & Galli, E. (2008). Chitin and chitosan from Basidiomycetes. *International Journal of Biological Macromolecules*, 43(1), 8-12. doi:10.1016/j.ijbiomac.2007.10.005
- Diederer, B. (2008). Legionella spp. and Legionnaires' disease. *Journal of Infection*, 56(1), 1-12. doi:10.1016/j.jinf.2007.09.010
- DuBois, M., Gilles, K., Hamilton, J., Rebers, P., & Smith, F. (1956). Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances. *Analytical Chemistry*, 28(3), 350-356. doi: 10.1021/ac60111a017
- Dumay, J. (2006). Extraction de lipides en voie aqueuse par bioreacteur enzymatique combine à l'ultrafiltration : Application à la valorisation de co-produits de poisson (*Sardina pilchardus*). Thèse de doctorat. Bioprocédés et biotechnologies marines. France : Ecole Polytechnique de l'Université de Nantes, 36p. [en ligne]. [Consulté le 04/04/2022]. Disponible sur le site web : <https://archimer.ifremer.fr/doc/2006/these-1556.pdf>
- Dupuy, M., Mazoua, S., Berne, F., Bodet, C., Garrec, N., Herbelin, P., . . . Héchard, Y. (2011). Efficiency of water disinfectants against *Legionella pneumophila* and Acanthamoeba. *Water Research*, 45(3), 1087-1094. doi:10.1016/j.watres.2010.10.025
- Eser, A., Nüket Tirtom, V., Aydemir, T., Becerik, S., & Dinçer, A. (2012). Removal of nickel(II) ions by histidine modified chitosan beads. *Chemical Engineering Journal*, 210, 590-596. doi:10.1016/j.cej.2012.09.020

- Exner, M., Pleischl, S., Grummt, H.-J., & Engelhart, S. (2011). [Experience with prevention and control of legionellosis in Germany : plea for proactive risk management]. *Bundesgesundheitsblatt, Gesundheitsforschung, Gesundheitsschutz*, 54(6), 699-708. doi: 10.1007/s00103-011-1286-1
- FAO. (2022). *Aristeus antennatus* Risso, 1816. Fisheries and Aquaculture Division. Rome. [en ligne]. [Consulté le 25/03/2022]. Disponible sur le site web : <https://www.fao.org/fishery/en/aqspecies/3422/en>
- Farhat, M., Trouilhé, M.-C., Briand, E., Moletta-Denat, M., Robine, E., & Frère, J. (2010). Development of a pilot-scale 1 for Legionella elimination in biofilm in hot water network: heat shock treatment evaluation. *applied microbiology*, 108(3), 1073-1082. doi:10.1111/j.1365-2672.2009.04541.x
- Fernandez-Kim, S.-O. (2004). Physicochemical and functional properties of crawfish chitosan as affected by different processing. *LSU Master's Theses*, 1338. [en ligne]. [Consulté le 20/05/2022]. Disponible sur le site web : https://digitalcommons.lsu.edu/gradschool_theses/1338
- Fields, B., Hoffman, P., Friedman, H., & Bendinelli, M. (2008). Legionella in the Environment. Dans *Legionella pneumophila : Pathogenesis and Immunity* (pp. 85-94). Boston, MA: Springer US. [en ligne]. [Consulté le 27/04/2022]. Disponible sur le site web : https://doi.org/10.1007/978-0-387-70896-6_5
- Fischer, W. (1987). Fiches FAO d'identification des espèces pour les besoins de la pêche. (Révision 1). Dans *Méditerranée et mer Noire. Zone de pêche 37* (Vol. 2, p. 760). Rome: FAO.
- Fraser, D., Tsai, T., Orenstein, W., Parkin, W., Beecham, H., Sharrar, R., . . . Brachman, P. (1977). Legionnaires' disease: description of an epidemic of pneumonia. *The New England Journal of Medicine*, 297(22), 1189-1197. doi:10.1056/NEJM197712012972201
- Freepons, D. (1989). Plant growth regulators derived from chitin. United States Patent, 4 : 812-15.
- Freney, J., Doléans-Jordheim, A., & Pernin, P. (2006). Legionelle et l'environnement. Dans *Legionella* (pp. 27-50). Paris: Lavoisier.
- Friedman, H., Yamamoto, Y., & Klein, T. (2002). *Legionella pneumophila* pathogenesis and immunity. *Seminars in Pediatric Infectious Diseases*, 13(4), 273-279. doi:10.1053/spid.2002.127206
- Fujimoto, T., Tsuchiya, Y., Terao, M., Nakamura, K., & Yamamoto, M. (2006). Antibacterial effects of Chitosan solution® against *Legionella pneumophila*, *Escherichia coli*, and *Staphylococcus aureus*. *International Journal of Food Microbiology*, 112(2), 96-101. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2006.06.003
- Fukamizo, T., Ohkawa, T., Ikeda, Y., & Goto, S. (1994). Specificity of chitosanase from *Bacillus pumilus*. *Biochimica Et Biophysica Acta*, 1205(2), 183-188. doi:10.1016/0167-4838(94)90232-1

- Ganesan, A., Saravana Guru, M., Balasubramanian, B., Mohan, K., Chao Liu, W., Valan Arasu, M., . . . Seedeve, P. (2020). Biopolymer from edible marine invertebrates: A potential functional food. *Journal of King Saud University - Science*, 32(2), 1772-1777. doi:10.1016/j.jksus.2020.01.015
- Garrity, G., Staley, J., Krieg, N., & Brenner, D. (2005). *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* (Vol. 2). 15-20p. Boston, MA: Springer. doi:<https://doi.org/10.1007/0-387-28021-9>
- Ginet, R., & Roux, A.-L. (1975). Les plans d'organisation du règne animal. *Bulletin mensuel de la Société linnéenne de Lyon*, 44(2), 38-39. [en ligne]. [Consulté le 29/04/2022]. Disponible sur le site web : https://www.persee.fr/doc/linly_0366-1326_1975_num_44_2_14145_t1_0038_0000_7
- Girolamini, L., Salaris, S., Pascale, M., Mazzotta, M., & Cristino, S. (2022). Dynamics of Legionella Community Interactions in Response to Temperature and Disinfection Treatment: 7 Years of Investigation. *Microbial Ecology*, 83(2), 353-362. doi:10.1007/s00248-021-01778-9
- Glick, T., Gregg, M., Berman, B., Mallison, G., Rhodes, W., & Kassanoff, I. (1978). Pontiac fever. An epidemic of unknown etiology in a health department: I. Clinical and epidemiologic aspects. *American Journal of Epidemiology*, 107(2), 149-160. doi:10.1093/oxfordjournals.aje.a112517
- Guesmi, K., & Hennous, M. (2021). Valorisation biotechnologique des coproduits de crustacés : étude du pouvoir antimicrobien du chitosane et traitement d'une eau contaminée par *Legionella pneumophila*. Mémoire d'ingénieur et de master en sciences de la mer, option : Biotechnologie Marine, Ecole Nationale Supérieure des Sciences de la Mer et de l'Aménagement du Littoral. 99p.
- Haddab, M., & Kortbi, R. (2020). Extraction de biomolécules à haute valeur ajoutée à partir des coproduits de crustacés en vue d'une valorisation comme ingrédients fonctionnels dans les domaines alimentaire et pharmaceutique. Mémoire d'ingénieur et de master en sciences de la mer, option : Biotechnologie Marine, Ecole Nationale Supérieure des Sciences de la Mer et de l'Aménagement du Littoral. 98p.
- Halim, A., Keong, L., Zainol, I., & Rashid, A. (2012). Biocompatibility and Biodegradation of Chitosan and Derivatives. Dans *Chitosan-Based Systems for Biopharmaceuticals* delivery, targeting and polymer therapeutics Hoboken: John Wiley & Sons. (pp. 57-73). [en ligne]. [Consulté le 09/04/2022]. Disponible sur le site web : <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/9781119962977.ch4>
- Hamed, I., Özogul, F., & Regenstien, J. (2016). Industrial applications of crustacean by-products (chitin, chitosan, and chitoooligosaccharides): A review. *Trends in Food Science & Technology*, 48, 40-50. doi:10.1016/j.tifs.2015.11.007
- Hasni, I., Chelkha, N., Baptiste, E., Mameri, M., Lachuer, J., Plasson, F., . . . La Scola, B. (2019). Investigation of potential pathogenicity of *Willaertia magna* by investigating the transfer of bacteria pathogenicity genes into its genome. *Scientific Reports*, 9(1), 18318. doi:10.1038/s41598-019-54580-6

- Hasni, I., Jarry, A., Quelard, B., Carlino, A., Eberst, J.-B., Abbe, O., & Demanèche, S. (2020). Intracellular Behaviour of Three Legionella pneumophila Strains within Three Amoeba Strains, Including Willaertia magna C2c Maky. *Pathogens*, 9(2), 105. doi:10.3390/pathogens9020105
- Heaselgrave, W., & Kilvington, S. (2012). The efficacy of simulated solar disinfection (SODIS) against coxsackievirus, poliovirus and hepatitis A virus. *Journal of Water and Health*, 10(4), 531-538. doi:10.2166/wh.2012.128
- Heath, C., Grove, D., & Looke, D. (1996). Delay in appropriate therapy of Legionella pneumonia associated with increased mortality. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 15(4), 286-290. doi:10.1007/BF01695659
- Holtuis, L. (1987). Crevettes. In : Fiches FAO d'identification des espèces pour les besoins de la pêche. (Révision 1). Méditerranée et Mer Noire. Zone de pêche 37, vol I. Végétaux et Invertébrés. Eds. W Fischer, M.-L. Bauchot et M.Scheider.
- Ifremer. (2010). La valorisation des co-produits. *Que sont les co-produits?*. 1p. [en ligne]. [Consulté le 01/04/2022]. Disponible sur le site web : http://bibliomer.ifremer.fr/documents/fiches/Coproducts_vf.pdf
- Igoud, S., Souahi, F., Chitour, C., Amrouche, L., Lamaa, C., Chekir, N., & Chouikh, A. (2014). Wastewater disinfection using ultraviolet (UVA, UVC) and solar radiation. *Desalination and Water Treatment*, 56(6), 2646-2652. doi:10.1080/19443994.2014.968909
- Igoud, S., Souahi, F., Chitour, C., Amrouche, L., Moussaoui, A., Boumrar, H., . . . Chouikh, A. (2015, février 20). Efficiency evaluation of solar photolysis and solar photocatalysis processes used for the wastewater disinfection. *Desalination and Water Treatment*, 53(8), 2049-2058. doi:10.1080/19443994.2013.862866
- Jarmila, V., & Vavříková, E. (2011). Chitosan derivatives with antimicrobial, antitumour and antioxidant activities--a review. *Current Pharmaceutical Design*, 17(32), 3596-3607. doi:10.2174/138161211798194468
- Jarraud, S., Girardo, P., Reyrolle, M., & Etienne, J. (2002). Legionella. *Espace Professionnel des Biologie Médicale*. [en ligne]. [Consulté le 11/05/2022]. Disponible sur le site web : <http://www.microbes-edu.org/professionnel/Legionella/legion.html>
- Jayakumar, R., Prabakaran, M., Sudheesh Kumar, P., Nair, S., & Tamura, H. (2011). Biomaterials based on chitin and chitosan in wound dressing applications. *Biotechnology Advances*, 23(3), 322-337. doi:10.1016/j.biotechadv.2011.01.005
- Jespersen, S., Søgaaard, O., Schønheyder, H., Fine, M., & Østergaard, L. (2010). Clinical features and predictors of mortality in admitted patients with community- and hospital-acquired legionellosis: A Danish historical cohort study. *BMC Infectious Diseases*, 10(1), 124. doi:10.1186/1471-2334-10-124
- Johnson, H. (2002). Perspectives de marché dans le secteur international du poisson et des fruits de mer Autres produits/usages et questions de salubrité alimentaire. Bureau du Commissaire au développement de l'aquaculture. [en ligne]. [Consulté le 02/04/2022]. Disponible sur le site web : <https://waves-vagues.dfo-mpo.gc.ca/Library/272066.pdf>

- Jomehzadeh, N., Moosavian, M., Saki, M., & Rashno, M. (2019, janvier 11). Legionella and legionnaires' disease: An overview. *Journal of Acute Disease*, 8(6), 221. doi:10.4103/2221-6189.272853
- Joseph, C., & Ricketts, K. (2010). Legionnaires' disease in Europe 2007–2008. *Eurosurveillance*, 15(8), 19493. doi:10.2807/ese.15.08.19493-en
- Kaminski, W., Tomczak, E., & Jaros, K. (2008). Interactions of metal ions sorbed on chitosan beads. *Desalination*, 218(1), 281-286. doi:10.1016/j.desal.2007.02.023
- Kassai, M. (2007). Calculation of Mark–Houwink–Sakurada (MHS) equation viscometric constants for chitosan in any solvent–temperature system using experimental reported viscometric constants data. *Carbohydrate Polymers*, 68(3), 477-488. doi:10.1016/j.carbpol.2006.11.006
- Katz, S., & Hammel, J. (1987). The effect of drying, heat, and pH on the survival of *Legionella pneumophila*. *Annals of Clinical and Laboratory Science*, 17(3), 150-156. Consulté le Avril 27, 2022, sur <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3606021/>
- Kaufmann, A., McDade, J., Patton, C., Bennett, J., Skaliy, P., Feeley, J., . . . Brachman, P. (1981). Pontiac fever: isolation of the etiologic agent (*Legionella pneumophila*) and demonstration of its mode of transmission. *American Journal of Epidemiology*, 114(3), 337-347. doi:10.1093/oxfordjournals.aje.a113200
- Kefil, S. (2020). Valorisation biotechnologique des coproduits de crevettes : Etude du pouvoir antimicrobien et anti-inflammatoire du chitosane. Mémoire d'ingénieur et de master en sciences de la mer, option : Biotechnologie Marine, Ecole Nationale Supérieure des Sciences de la Mer et de l'Aménagement du Littoral. 70p.
- Khan, F., Pham, D., Oloketuyi, S., Manivasagan, P., Oh, J., & Kim, Y.-M. (2020). Chitosan and their derivatives: Antibiofilm drugs against pathogenic bacteria. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 185, 110627. doi:10.1016/j.colsurfb.2019.110627
- Khan, T., Peh, K., & Ch'ng, H. (2002). Reporting degree of deacetylation values of chitosan: the influence of analytical methods. *Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences: A Publication of the Canadian Society for Pharmaceutical Sciences, Societe Canadienne Des Sciences Pharmaceutiques*, 5, 205-212. [en ligne]. [Consulté le 08/04/2022]. Disponible sur le site web : https://www.researchgate.net/publication/10929107_Reporting_degree_of_deacetylation_values_of_chitosan_The_influence_of_analytical_methods
- Khanafari, A., Marandi, R., & Sanatei, S. (2008). Recovery of chitin and chitosan from shrimp waste by chemical and microbial methods. *Journal of environmental health science and engineering*, 5(1), 1-24. [en ligne]. [Consulté le 10/04/2022]. Disponible sur le site web : <https://ijehse.tums.ac.ir/index.php/jehse/article/view/145>
- Kherraz, A. (2006). Premières données sur la crevette rouge, *Aristeus antennatus* (Risso, 1816) de la région oranaise. Biologie-Ecologie. [en ligne]. Mémoire de magister. Sciences de l'environnement, option : halieutique. Algérie : Université d'Oran Es-Senia, 149p. [Consulté le 29/03/2022]. Disponible sur le site web : <https://theses.univ-oran1.dz/document/TH2323.pdf>

- Kim, B., Anderson, J., Mueller, S., Gaines, W., & Kendall, A. (2002). Literature review-- efficacy of various disinfectants against *Legionella* in water systems. *Water Research*, *36*(18), 4433-4444. doi:10.1016/s0043-1354(02)00188-4
- Kong, M., Chen, X., Xing, K., & Park, H. (2010). Antimicrobial properties of chitosan and mode of action: a state of the art review. *International Journal of Food Microbiology*, *144*(1), 51-63. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2010.09.012
- Kristinsson, H., & Rasco, B. (2000). Biochemical and functional properties of Atlantic salmon (*Salmo salar*) muscle proteins hydrolyzed with various alkaline proteases. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *48*, 657-666. doi: 10.1021/jf990447v
- Labas, M., Zalazar, C., Brandi, R., & Cassano, A. (2008). Reaction kinetics of bacteria disinfection employing hydrogen peroxide. *Biochemical Engineering Journal*, *38*(1), 78-87. doi:10.1016/j.bej.2007.06.008
- Le Roux, K. (2012). Purification de la chitine par hydrolyse enzymatique à partir de coproduits de crevette *Penaeus vannamei*. Caractérisations des produits et optimisation du procédé. [en ligne]. Thèse de doctorat. Biochimie et biotechnologie des produits marins. France : Université de Nantes, 222p. [Consulté le 06/04/2022]. Disponible sur le site web : <https://archimer.ifremer.fr/doc/00087/19828/>
- Leceta, I., Etxabide, A., Cabezudo, S., de la Caba, k., & Guerrero, P. (2014). Bio-based films prepared with by-products and wastes: environmental assessment. *Journal of Cleaner Production*, *64*, 218-227. doi:10.1016/j.jclepro.2013.07.054
- Lévesque, M. (1995). Extraction de caractérisation de la chitine des résidus de la transformation. [en ligne]. Mémoire de maîtrise. Canada : Université Laval. [Consulté le 12/04/2022]. Disponible sur le site web : <http://hdl.handle.net/20.500.11794/62939>
- Li, G., Xiao, Q., Zhang, L., Zhao, Y., & Yang, Y. (2017). Nerve growth factor loaded heparin/chitosan scaffolds for accelerating peripheral nerve regeneration. *Carbohydrate Polymers*, *171*, 39-49. doi:10.1016/j.carbpol.2017.05.006
- Li, Jin & Du, Yumin & Yang, Jianhong & Feng, Tao & Li, Aihua & Chen, Ping. (2005). Preparation and characterisation of low molecular weight chitosan and chito-oligomers by a commercial enzyme. *Polymer Degradation and Stability*. *87*(3). 441-448. doi:10.1016/j.polymdegradstab.2004.09.008.
- Liu, Y., Xing, R., Yang, H., Liu, S., Qin, Y., Li, K., . . . Li, P. (2020). Chitin extraction from shrimp (*Litopenaeus vannamei*) shells by successive two-step fermentation with *Lactobacillus rhamnoides* and *Bacillus amyloliquefaciens*. *International Journal of Biological Macromolecules*, *148*, 424-433. doi:10.1016/j.ijbiomac.2020.01.124
- Lizardi-Mendoza, J., Argüelles Monal, W., Goycoolea Valencia, F., Bautista-Baños, S., Romanazzi, G., & Jiménez-Aparicio, A. (2016). Chapter 1 - Chemical Characteristics and Functional Properties of Chitosan. Dans *Chitosan in the Preservation of Agricultural Commodities* (pp. 3-31). San Diego: Academic Press. [en ligne]. [Consulté

- le 20/05/2022]. Disponible sur le site web : doi:10.1016/B978-0-12-802735-6.00001-X
- Lück, P. C., Leupold, I., Hlawitschka, M., Helbig, J. H., Carmienke, I., Jatzwauk, L. (1999). Prevalence of Legionella species, serogroups, and monoclonal subgroups in hot water systems in south-eastern Germany. *Zentralblatt für Hygiene und Umweltmedizin = International journal of hygiene and environmental medicine*, 193(5), 450-460.
- Maiga, Y., Wethé, J., Ouattara, A.-S., & Traoré, A. (2018). Predicting attenuation of solar radiation (UV-B, UV-A and PAR) in waste stabilization ponds under Sahelian climatic conditions. *Environmental Science and Pollution Research*, 25(22), 21341-21349. doi:10.1007/s11356-017-9668-z
- Malato, S., Fernandez-Ibanez, P., Maldonado, M., Blanco Galvez, J., & Gernjak, W. (2009). Decontamination and Disinfection of Water by Solar Photocatalysis: Recent Overview and Trends. *Catalysis Today*, 147, 1-59. doi:10.1016/j.cattod.2009.06.018
- Marchesi, I., Ferranti, G., Bargellini, A., Marchegiano, P., Predieri, G., Stout, J., & Borella, P. (2013). Monochloramine and chlorine dioxide for controlling Legionella pneumophila contamination: biocide levels and disinfection by-product formation in hospital water networks. *Journal of Water and Health*, 11(4), 738-747. doi:10.2166/wh.2013.079
- Matet, M. (2014). Préparation de films à base de chitosane par voie fondue. [en ligne]. Thèse de doctorat. Génie chimique. Canada : Université de Montréal, Ecole Polytechnique de Montréal, 170p. [Consulté le 13/05/2022]. Disponible sur le site web : https://publications.polymtl.ca/1451/1/2014_MarieMatet.pdf
- McDade, J., Shepard, C., Fraser, D., Tsai, T., Redus, M., & Dowdle, W. (1977). Legionnaires' disease: isolation of a bacterium and demonstration of its role in other respiratory disease. *The New England Journal of Medicine*, 297(22), 1197-1203. doi:10.1056/NEJM197712012972202
- McDonnell, G., & Russell, A. (1999). Antiseptics and Disinfectants: Activity, Action, and Resistance. *Clinical Microbiology Reviews*, 12(1), 147-179. doi:10.1128/cmr.12.1.147
- Mekkour, M., Khalil, E., Driss, B., Tai, J., & Cohen, N. (2013). Legionella pneumophila: An Environmental Organism and Accidental Pathogen. *Maejo international journal of science and technology*, 2, 187-196. [en ligne]. [Consulté le 17/05/2022]. Disponible sur le site web : https://www.researchgate.net/publication/235891238_Legionella_pneumophila_An_Environmental_Organism_and_Accidental_Pathogen
- Mercante, J. W., & Winchell, J. M. (2015). Current and Emerging Legionella Diagnostics for Laboratory and Outbreak Investigations. *Clinical Microbiology Reviews*, 28(1), 95-133. doi:10.1128/CMR.00029-14
- Milous, H. (2011). Modélisation par la méthode numérique de la dynamique des fluides du procédé de désinfection des eaux par les rayonnements ultraviolets (UV). [en ligne]. Mémoire de magister. Chimie analytique et physique. Algérie : Université Mentouri-Constantine, 108p. [Consulté le 11/05/2022]. Disponible sur le site web : <http://archives.umc.edu.dz/handle/123456789/12448?locale-attribute=en>

- Miyamoto, M., Yamaguchi, Y., & Sasatsu, M. (2000). Disinfectant effects of hot water, ultraviolet light, silver ions and chlorine on strains of *Legionella* and nontuberculous mycobacteria. *Microbios*, *101*(398), 7-13. [en ligne]. [Consulté le 10/05/2022]. Disponible sur le site web : <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10677839/>
- Mizrahi, H., Peretz, A., Lesnik, R., Aizenberg-Gershtein, Y., & Rodríguez-Martínez, S. (2017). Comparison of sputum microbiome of legionellosis-associated patients and other pneumonia patients: indications for polybacterial infections. *Scientific Reports*, *7*(1), 40114. doi:<https://doi.org/10.1038/srep40114>
- Morio, F., Corvec, S., Caroff, N., Le Gallou, F., Drugeon, H., & Reynaud, A. (2008). Real-time PCR assay for the detection and quantification of *Legionella pneumophila* in environmental water samples: utility for daily practice. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, *211*(3-4), 403-411. doi:10.1016/j.ijheh.2007.06.002
- Moussaoui, A., & Boumrar, H. (2011). Désinfection des eaux usées épurées par la méthode "SODIS" pour l'amélioration de la qualité microbiologique des eaux rejetées en mer. Mémoire d'ingénieur et de master en sciences de la mer, option : Environnement, Ecole Nationale Supérieure des Sciences de la Mer et de l'Aménagement du Littoral, 120p.
- Mulazimoglu, L., & Yu, V. (2001). Can Legionnaires disease be diagnosed by clinical criteria? A critical review. *Chest*, *120*(4), 1049-1053. doi:10.1378/chest.120.4.1049
- Muxika, A., Etxabide, A., Uranga, J., Guerrero, P., & de la Caba, K. (2017). Chitosan as a bioactive polymer: Processing, properties and applications. *International Journal of Biological Macromolecules*, *105*. 1358-1368. doi:10.1016/j.ijbiomac.2017.07.087
- Muzzarelli, R., & Peter, M. (1997). *The chitin Handbook*. In : *Grottoammare.*, Ed. Atec, Haly , pp 528.
- Natarajan, T., Kalyanasundaram, N., & Ravi, S. (2017). Extraction and Characterization of Chitin and Chitosan from Achatinodes. *Natural Products Chemistry & Research*, *5*(6), 281. doi:10.4172/2329-6836.1000281
- Ngah, W., & Fatinathan, S. (2008). Adsorption of Cu(II) ions in aqueous solution using chitosan beads, chitosan–GLA beads and chitosan–alginate beads. *Chemical Engineering Journal*, *143*(1), 62-72. doi:10.1016/j.cej.2007.12.006
- No, H., Meyers, S., & Lee, K. (1989). Isolation and characterization of chitin from crawfish shell waste. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *37*(3), 575-579. doi:10.1021/jf00087a001
- No, H., Park, NY., Lee, SH., Meyers, S. (2002). Antibacterial activity of chitosans and chitosan oligomers with different molecular weights. *International Journal of Food Microbiology*. *74*(1-2), 65-72. doi: 10.1016/s0168-1605(01)00717-6.
- Nouar, A. (2001). Bio-écologie de *Aristeus antennatus* (Risso, 1816) et de *Parapeneaeus longirostris* (Lucas, 1846) des côtes algériennes. *Rapp. Comm. int. Mer Médit*, *36*, 304.

- Nouar, A., & Kennouche, H. (2013). Régime alimentaire de la crevette rouge *Aristeus antennatus* (Risso, 1816) (Decapoda, Penaeoidea) dans la région algéroise (Algérie centre). *Crustaceana*, 86(5). 553-563. doi:10.1163/15685403-00003189
- Nwankwo, E., Agunwamba, J., & Nnaji, C. (2019). Effect of Radiation Intensity, Water Temperature and Support-Base Materials on the Inactivation Efficiency of Solar Water Disinfection (SODIS). *Water Resources Management*, 33(13), 4539-4551. doi:10.1007/s11269-019-02407-4
- Ohno, A., Kato, N., Sakamoto, R., Kimura, S., & Yamaguchi, K. (2008). Temperature-dependent parasitic relationship between *Legionella pneumophila* and a free-living amoeba (*Acanthamoeba castellanii*). *Applied and Environmental Microbiology*, 74(14), 4585-4588. doi:10.1128/AEM.00083-08
- Oladoja, N., Unuabonah, E., AMUDA, O., & Kolawole, O. (2017). *Polysaccharides as a Green and Sustainable Resources for Water and Wastewater Treatment*. Cham, Suisse: Springer. 122p.
- Olaizola, M. (2008). The Production and Health Benefits of Astaxanthin. Dans *Marine Nutraceuticals and Functional Foods* (pp. 322-342). CRC Press. [en ligne]. [Consulté le 03/04/2022]. Disponible sur le site web : doi:10.1201/9781420015812.ch13
- OMS. (2004). *Guidelines for drinking-water quality. Vol. 1, Recommendations*. apps.who.int. [en ligne]. [Consulté le 20/04/2022]. Disponible sur le site web : <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/42852/9241546387.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- ONS. (2018). Les principaux indicateurs du secteur de la pêche (2018), N°875. [en ligne]. [Consulté le 24/03/2022]. Disponible sur le site web : https://www.ons.dz/IMG/pdf/indicateurs_peche2018.pdf
- Otter, J., Mepham, S., Athan, B., Mack, D., Smith, R., Jacobs, M., & Hopkins, S. (2016). Terminal decontamination of the Royal Free London's high-level isolation unit after a case of Ebola virus disease using hydrogen peroxide vapor. *American Journal of Infection Control*, 44(2), 233-235. doi:10.1016/j.ajic.2015.08.025
- Oulhiz, A. (2018, 12). Évaluation, valorisation et utilisation des coproduits de la crevette rouge *Aristeus antennatus* (Risso, 1816) et du thon *Thunnus thynnus* (Linné, 1758) pour l'alimentation du tilapia rouge (*Oreochromis* sp). [En ligne]. Thèse de doctorat. Ecologie et environnement marin. Algérie. Université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem. 14-22-23-p. [Consulté le 16/04/2022]. Disponible sur le web : <http://e-biblio.univ-mosta.dz/handle/123456789/13260>.
- Özogul, F., Hamed, I., Özogul, Y., Regenstein, J., Melton, L., Shahidi, F., & Varelis, P. (2019). Crustacean By-products. Dans *Encyclopedia of Food Chemistry* (pp. 33-38). Oxford: Academic Press. [En ligne]. [Consulté le 31/05/2022]. Disponible sur le web : doi:10.1016/B978-0-08-100596-5.21690-9
- Papaconstantinou, C., & Konstantinos, K. (2001). Distribution and population structure of the red shrimp (*Aristeus antennatus*) on an unexploited fishing ground in the Greek Ionian

- Sea. *Aquatic Living Resources*. [En ligne]. [Consulté le 22/03/2021]. Disponible sur le web : doi:10.1016/s0990-7440(01)01128-7
- Payet Linda. Viscoélasticité et structure de gels à base de chitosane - Relations avec les propriétés diffusionnelles de macromolécules dans ces biogels. Dynamique des Fluides [physics.flu-dyn]. Université Paris-Diderot - Paris VII, 2005. Français. fftel-00011265f. [en ligne]. [Consulté le 18/04/2022]. Disponible sur le web : <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-00011265/document>
- Pei Lian, M. (2010). Formation et caractérisation physico-chimique des complexes ADN/Chitosane pour la thérapie génique. [En ligne]. Thèse de doctorat. Génie chimique. Canada : Université de Montréal, Ecole Polytechnique de Montréal, 210p. [Consulté le 20/04/2022]. Disponible sur le site web : https://publications.polymtl.ca/304/1/2010_PeiLianMa.pdf
- Phin, N., Parry-Ford, F., Harrison, T., Stagg, H., Zhang, N., Kumar, K., . . . Abubakar, I. (2014). Epidemiology and clinical management of Legionnaires' disease. *The Lancet. Infectious Diseases*, 14(10), 1011-1021. doi:10.1016/S1473-3099(14)70713-3
- Pianetti , A., Sabatini , L., Citterio , B., Sisti , E., Pierfelici , L., & Bruscolini , F. (2008). Inactivation of *Legionella pneumophila* by combined systems of copper and silver ions and free chlorine. *Igiene E Sanita Pubblica*, 46(1), 27-40. [en ligne]. [Consulté le 03/05/2022]. Disponible sur le site web : <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18379604/>
- Pichel, N., Vivar, M., & Fuentes, M. (2019). The problem of drinking water access: A review of disinfection technologies with an emphasis on solar treatment methods. *Chemosphere*, 218, 1014-1030. doi:10.1016/j.chemosphere.2018.11.205
- Rabea, E., Badawy, M.-T., Stevens, C., Smaghe, G., & Steurbaut, W. (2003, 11). Chitosan as Antimicrobial Agent: Applications and Mode of Action. *Biomacromolecules*, 4(6), 1457-1465. doi:10.1021/bm034130m
- Ragonese , S., Bianchini, M., Di Stefano, L., Bertolino, F., & Campagnuolo, S. (2018). Synopsis of biological data on the red shrimps *Aristaeomorpha foliacea* (Risso, 1827) and *Aristeus antennatus* (Risso, 1816) with particular reference to the Mediterranean stocks. Dans *Study of the selectivity and assessment of the coefficient of retention of the trawl nets used for red shrimp fishing (Aristaeomorpha foliacea Risso, 1827 and Aristeus antennatus Risso, 1816; Crustacea-Aristeidae) in the Sicilian Channel (Central Mediterr (p. 23)*. [en ligne]. [Consulté 31/03/2022]. Disponible sur le site web : https://www.researchgate.net/publication/329466448_Extracted_from
- Randriamahatody, Z. (2011). Valorisation biotechnologique des co-produits de crevette: utilisation de la protéolyse enzymatique pour des applications avicoles à Madagascar. [En ligne]. Thèse de doctorat. Biochimie Appliquée aux Sciences de l'Alimentation et à la Nutrition. Madagascar : Université d'Antananarivo. [Consulté le: 05/04/2022]. Disponible sur le web : <https://archimer.ifremer.fr/doc/00043/15456/12831.pdf>
- Rao, M., Muñoz, J., & Stevens, W. (2000). Critical factors in chitin production by fermentation of shrimp biowaste. (S. Link, Éd.) *Applied Microbiology and Biotechnology*, 54(6), 808-813. doi:10.1007/s002530000449

- Rijal, G., & Fujioka, R. (2001). Synergistic effect of solar radiation and solar heating to disinfect drinking water sources. *Water Science and Technology*, 43(12), 155-162. doi:10.2166/wst.2001.0728
- Rinaudo, M. (2006). Chitin and chitosan: Properties and applications. *Progress in Polymer Science*, 31(7), 603-632. doi:10.1016/j.progpolymsci.2006.06.001
- Ríos Castillo, A., González Rivas, F., & Rodriguez-Jerez, J. (2017). Bactericidal Efficacy of Hydrogen Peroxide-Based Disinfectants Against Gram-Positive and Gram-Negative Bacteria on Stainless Steel Surfaces. *Journal of Food Science*, 82(10). 2351-2356. doi:10.1111/1750-3841.13790
- Roberts, G. (1992). Preparation of Chitin and Chitosan. Dans *Chitin Chemistry* (pp. 54-84). Londres: Macmillan Education UK. [en ligne]. [Consulté le 10/04/2022]. Disponible sur le site web : https://doi.org/10.1007/978-1-349-11545-7_2
- Sabria, M., & Yu, V. (2002). Hospital-acquired legionellosis: solutions for a preventable infection. *The Lancet Infectious Diseases*, 2(6), 368-373. doi:10.1016/S1473-3099(02)00291-8
- Sagoo, S., Board, R., & Roller, S. (2002). Chitosan potentiates the antimicrobial action of sodium benzoate on spoilage yeasts. *Letters in Applied Microbiology*, 34(3), 168-172. doi:10.1046/j.1472-765x.2002.01067.x
- Sahoré, A., & Abouattier, J. (2016). *Quelques méthodes d'analyse biochimique de produits alimentaires*. Saint-Denis: Connaissances & Savoirs. 94p.
- Salvatorelli, G., Medici, S., Finzi, G., Lorenzi, S., & Quarti, C. (2005). Effectiveness of installing an antibacterial filter at water taps to prevent Legionella infections. *Journal of Hospital Infection*, 61(3), 270-271. doi:10.1016/j.jhin.2005.04.012
- Sari-Chmayssem, Nouha., & Taha, S., & Mawlawi, Hiba., & Guégan, Jean-Paul., & Jeftić, Jelena., & Benvegna, Thierry. (2015). Extracted and depolymerized alginates from brown algae *Sargassum vulgare* of Lebanese origin: chemical, rheological, and antioxidant properties. *Journal of Applied Phycology*. 28. 1915-1929. doi:10.1007/s10811-015-0676-4.
- Sayari, N., Sila, A., Abdelmalek, B., Abdallah, R., Ellouz-Chaabouni, S., Bougateg, A., & Balti, R. (2016). Chitin and chitosan from the Norway lobster by-products: Antimicrobial and anti-proliferative activities. *International Journal of Biological Macromolecules*, 87, 163-171. doi:10.1016/j.ijbiomac.2016.02.057
- Shahidi, F., & Abuzaytoun, R. (2005). Chitin, chitosan, and co-products: chemistry, production, applications, and health effects. *Advances in Food and Nutrition Research*, 49, 93-135. doi:10.1016/S1043-4526(05)49003-8
- Shi, C., Zhu, Y., Ran, X., Wang, M., Su, Y., & Cheng, T. (2006). Therapeutic potential of chitosan and its derivatives in regenerative medicine. *The Journal of Surgical Research*, 133(2), 185-192. doi:10.1016/j.jss.2005.12.013

- Silva, T., Alves, A., Ferreira, B., Oliveira, J., Reys, L., Ferreira, R., . . . Reis, R. (2012). Materials of marine origin: a review on polymers and ceramics of biomedical interest. *International Materials Reviews*, 57(5), 276-306. doi:10.1179/1743280412Y.0000000002
- Srikanth, S., & Berk, S. (1994). Adaptation of amoebae to cooling tower biocides. *Microbial Ecology*, 27(3), 293-301. doi:10.1007/BF00182412
- Starnbach, M., Falkow, S., & Tompkins, L. (1989). Species-specific detection of *Legionella pneumophila* in water by DNA amplification and hybridization. *Journal of Clinical Microbiology*, 27(6), 1257-1261. doi:10.1128/jcm.27.6.1257-1261.1989
- Steinert, M., Hentschel, U., & Hacker, J. (2002). *Legionella pneumophila*: an aquatic microbe goes astray. *Legionella pneumophila: an aquatic microbe goes astray*, 26(2), 149-162. doi:10.1111/j.1574-6976.2002.tb00607.x
- Steinert, M., Ockert, G., Lück, C., & Hacker, J. (1998). Regrowth of *Legionella pneumophila* in a heat-disinfected plumbing system. *Zentralblatt Fur Bakteriologie: International Journal of Medical Microbiology*, 288(3), 331-342. doi:10.1016/s0934-8840(98)80005-4
- Stout, J., Arnold, B., & Yu, V. (1998). Activity of azithromycin, clarithromycin, roxithromycin, dirithromycin, quinupristin/dalfopristin and erythromycin against *Legionella* species by intracellular susceptibility testing in HL-60 cells. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 41(2), 289-291. doi:10.1093/jac/41.2.289
- Tayel, , A., Moussa, S., Opwis, K., Knittel, , D., Schollmeyer, E., & Nickisch-Hartfiel, A. (2010). Inhibition of microbial pathogens by fungal chitosan. *International Journal of Biological Macromolecules*, 47(1), 10-14. doi:10.1016/j.ijbiomac.2010.04.005
- Tolaimate, A., Desbrieres, J., Rhazi, M., & Alagui, A. (2003). Contribution to the preparation of chitins and chitosans with controlled physico-chemical properties. *Polymer*, 26(44), 7939-7952. doi:10.1016/j.polymer.2003.10.025
- Truong, T., Hausler, R., Monette, F., & Niquette, P. (2007). Valorisation des résidus industriels de pêches pour la transformation de chitosane par technique hydrothermo-chimique. *Revue des sciences de l'eau / Journal of Water Science*, 20(3), 253-262. doi:10.7202/016170ar
- Tuyishime , P., Byong, H., & Nsanzabera, F. (2017). Current Status and New Perspectives on Chitin and Chitosan as Functional Biopolymers. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 181(4), 1314-1337. doi:10.1007/s12010-016-2286-2
- Vivar, M., Pilar, N., Fuentes, M., & López-Vargas, A. (2017). Separating the UV and thermal components during real-time solar disinfection experiments: The effect of temperature. *Solar Energy*, 146, 334-341. doi:10.1016/j.solener.2017.02.053
- Wallis, L., & Priscilla, R. (2005). Soil as a source of *Legionella pneumophila* serogroup 1 (Lp1). *Australian and New Zealand Journal of Public Health*, 29(6), 518-520. doi:10.1111/j.1467-842x.2005.tb00242.x

- Waterman, T. H. (1960). General crustacean biology. Dans *The physiology of Crustacea, 1* (pp. 1-33). [En ligne]. [Consulté 25/03/2022]. Disponible sur le site web : https://www.researchgate.net/profile/Tomas_tom_Tomascik/post/is_this_a_prawn_or_an_anomuranlarvae/attachment/5b01bc314cde260d15dfd99c/AS%3A628221393502208%401526791060487/download/Anger+2001+The+biology+of+Decapod+Crustacean+Larvae.pdf
- Winn, W. (1988). Legionnaires disease: historical perspective. *Clinical Microbiology Reviews, 1*(1), 60-81. [En ligne]. [Consulté 25/04/2022]. Disponible sur le site web : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC358030/>
- Wu, F.-C., Tseng, R.-L., & Juang, R.-S. (2010). A review and experimental verification of using chitosan and its derivatives as adsorbents for selected heavy metals. *Journal of Environmental Management, 91*(4), 798-806. doi:10.1016/j.jenvman.2009.10.018
- Wydro, P., Krajewska, B., & Hąc-Wydro, K. (2007). Chitosan as a Lipid Binder: A Langmuir Monolayer Study of Chitosan-Lipid Interactions. *Biomacromolecules, 8*(8), 2611-2617. [En ligne]. [Consulté 11/04/2022]. Disponible sur le site web : <https://doi.org/10.1021/bm700453x>
- Yamamoto, H., Sugiura, M., Kusunoki, S., Ezaki, T., Ikedo, M., & Yabuuchi, E. (1992). Factors stimulating propagation of legionellae in cooling tower water. *Applied and Environmental Microbiology, 58*(4), 1394-1397. doi:10.1128/aem.58.4.1394-1397.1992
- Yi, H., Wu, L.-Q., Bentley, W., Ghodssi, R., Rubloff, G., Culver, J., & Payne, G. (2005). Biofabrication with Chitosan. *Biomacromolecules, 6*(6), 2881-2894. doi:10.1021/bm050410l
- Youn, D., No, H., & Prinyawiwatkul, W. (2007). Physical characteristics of decolorized chitosan as affected by sun drying during chitosan preparation. *Carbohydrate Polymers, 69*(4), 707-712. doi: 10.1016/j.carbpol.2007.02.007
- Zemmouri, H. (2008). Utilisation du chitosane comme agent flocculant dans le traitement des eaux. Mémoire de Magister, Laboratoire de Biotechnologie Environnementale et Génie des procédés, Ecole Nationale Polytechnique, Alger, Algérie.
- Zhan, X.-Y., Hu, C.-H., & Zhu, Q.-Y. (2015). Legionella Pathogenesis and Virulence Factors. *Annals of Clinical and Laboratory Research, 3*(2), 15. doi:10.21767/2386-5180.100015

Annexes

Annexe 01 : Courbes d'étalonnage de la composition biochimique des carapaces *d'Aristeus antennatus*.

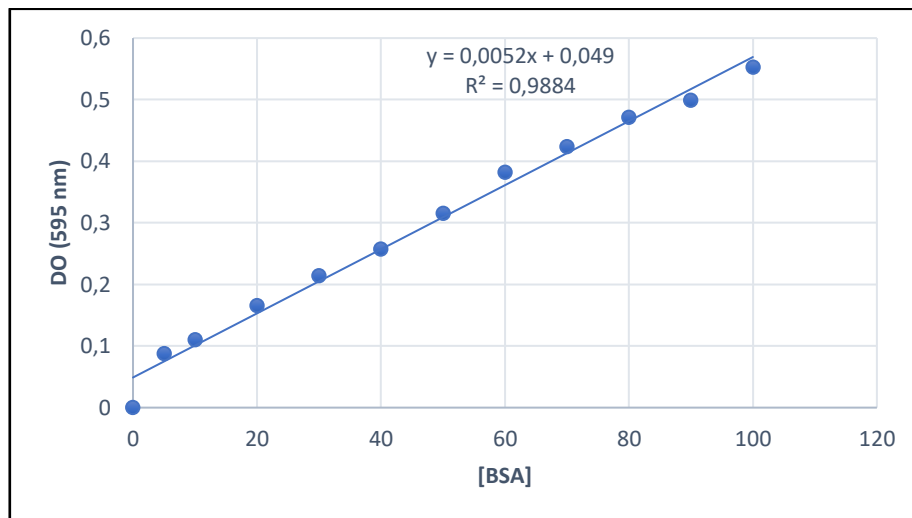


Figure 36 : Courbe d'étalonnage du dosage des protéines

Annexe 02 : Matériel utilisé pour l'analyse biochimique des carapaces de crevettes.



Figure 37 : Evaporateur rotatif



Figure 38 : Four à moufle



Figure 39 : Spectrophotomètre UV- visible

Annexe 03 : Aspect de la poudre de crevette après dépigmentation et délipidation

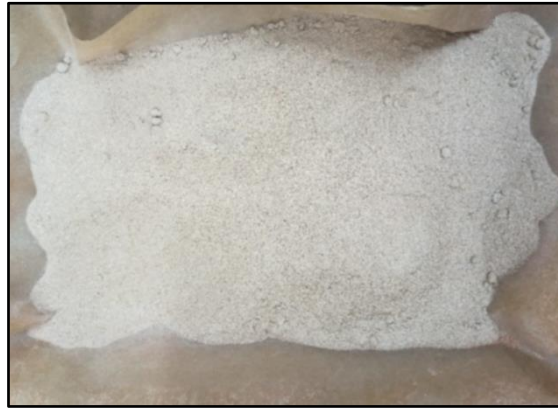


Figure 40 : Poudre de crevette décolorée

Annexe 04 : Composition du Milieu de culture utilisé

BCYE

Buffered Charcoal Yeast Extract est un milieu sélectif permettant l'isolement et l'enrichissement des Légionelles.

Composition type (g/l)	
Extrait de levure	10
Chlorhydrate de L-cystéine	0.4
Alpha-cétoglutarate	1
Pyrophosphate de fer III	0.25
Tampon ACES/ hydroxyde	10
Charbon activé	2
Agar	13

Résumé

La présente étude a porté sur la valorisation des coproduits de la crevette la plus abondante en Algérie qui est *Aristeus antennatus*, l'extraction du chitosane, et le traitement des eaux contaminées par *Legionella pneumophila* en utilisant ce biopolymère en poudre et en billes seul ou associé aux UV solaires. La photolyse seule a également été utilisée afin de comparer entre les différentes méthodes.

L'analyse biochimique globale de la composition des coproduits de la crevette a montré que l'exosquelette de cette dernière renferme une quantité considérable de minéraux, de protéines, de lipides et d'autres composés tels que les polysaccharides. L'extraction du chitosane a été très efficace avec un rendement massique de production et un degré de désacétylation très élevés. Le chitosane produit est de bonne qualité, soluble dans l'eau légèrement acide avec un DDA de 94.4%.

L'efficacité de l'élimination de *L. pneumophila* par le traitement au chitosane ou/et par irradiation UV solaire a été étudiée en réalisant des séries d'expériences comprenant les différentes méthodes de traitement ; celles-ci ont toutes fourni de très bons résultats avec un abattement important, particulièrement celle du traitement par chitosane combiné à la photolyse et celle de la photolyse seule.

Mots clés : Coproduis de crevettes, valorisation biotechnologique, *Aristeus antennatus*, chitosane, *Legionella pneumophila*, SODIS

ملخص

ركزت الدراسة الحالية على تـمـيـن المـنـتـجـات الثـانـويـة للـجـمـبري الأـكـثـر وـفـرة في الجـزائر وهو *Aristeus antennatus*، واستخراج الكيتوزان، ومعالجة المياه الملوثة بـ *Legionella pneumophila* باستخدام هذا البوليمر الحيوي كمسحوق وكحبيبات وحده أو متحد بالأشعة فوق البنفسجية الشمسية. تم استخدام التحلل الضوئي وحده أيضا للمقارنة بين الطرق المختلفة.

وقد أظهرت نتائج التحليل البيوكيميائية العام لقشرة الجمبري أن الهيكل الخارجي لهذه الأخيرة يحتوي على كمية كبيرة من المعادن والبروتينات والدهون وغيرها من المركبات مثل متعدد السكاريد. وقد كان استخراج الكيتوزان فعالا جدا مع ارتفاع معدل الإنتاج إلى حد كبير ودرجة عالية جدا من نزع الأسيتيل. الكيتوزان المنتج ذو نوعية جيدة، قابل للذوبان في الماء الحمضي قليلاً مع نزع الأسيتيل بنسبة % 94.4.

تمت دراسة كفاءة القضاء على *L. pneumophila* عن طريق العلاج بالكيتوزان و/ أو بالأشعة فوق البنفسجية الشمسية من خلال إجراء سلسلة من التجارب بمختلف طرق العلاج؛ وقد أعطت جميعها نتائج جيدة للغاية مع قضاء مهم على هذه البكتيريا، لا سيما علاج الكيتوزان المقترن بالتحلل الضوئي وعلاج التحلل الضوئي وحده.

الكلمات المفتاحية: المنتجات الثانوية للجمبري، تـمـيـن، *Aristeus antennatus* الكيتوزان، التحلل الضوئي، *Legionella pneumophila*

Abstract

The present study focused on the valorization of the co-products of the most abundant shrimp in Algeria, which is *Aristeus antennatus*, the extraction of chitosan, and the treatment of water contaminated by *Legionella pneumophila* using this biopolymer in powder and beads alone or associated with solar UV. Photolysis alone was also used to compare between the different methods.

The overall biochemical analysis of the composition of shrimp co-products showed that the shrimp exoskeleton contains a considerable amount of minerals, proteins, lipids, and other compounds such as polysaccharides. The extraction of chitosan was very efficient with a very high production mass yield and degree of deacetylation. The chitosan produced is of good quality, soluble in slightly acidic water with a DDA of 94.4%.

The efficacy of eliminating *L. pneumophila* by chitosan treatment or/and by solar UV irradiation was studied by performing series of experiments including the different treatment methods; all of them provided very good results with high abatement, especially the one of chitosan treatment combined with photolysis and the one of photolysis alone.

Key words: Shrimp co-products, biotechnological valorization, *Aristeus antennatus*, chitosan, SODIS, *Legionella pneumophila*