

République Algérienne Démocratique et Populaire

**Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université de Blida -1-**

**Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie des Populations et Organismes**

**Mémoire de Fin d'Etude En vue de l'obtention du diplôme de
Master en Biologie**

Option : Phytothérapie et Santé

Thème :

**Etude de quelques activités biologiques de la
spiruline *Arthrospira platensis* (Léonard 1964).et
perspectives d'utilisation en thérapie.**

Présenté par :
Mlle GUERS Nihad
Mlle LECHANI Amina

le 28/10/2015

Devant les jurys:

Mme Bradea M.S.	MCA	UB1	Président
Mme Benmanssour N.	MAA	UB1	Examinatrice
Mme Cherif H. S.	MCB	UB1	Promotrice
Mme Neguab I.	Chef département Pharmacotoxico (SAIDAL)		Co- promotrice

Promotion : 2014- 2015

Remerciements

Nous remercions tout d'abord le bon Dieu qui nous a donné la force et la volonté pour réaliser ce mémoire.

Nous adressons nos remerciements les plus chaleureux à Madame Cherif H.S., directrice de ce mémoire, qui nous a guidé tout au long de ce travail. Nous la remercions particulièrement pour ses conseils éclairés dans l'orientation des travaux, ses nombreuses idées, ainsi que pour son soutien moral. Nous la remercions de nous avoir fait confiance pour réaliser ce travail et d'avoir largement participé à notre formation scientifique.

Nous remercions vivement Madame Imane Neguab, notre Co-promotrice, le chef de département de pharmacotoxycologie de l'unité antibiotical SAIDAL de Médéa, qui a très généreusement accepté d'apporter son aide et pour que ce travail puisse être achevé et soutenu dans les meilleures conditions.

Nous la remercions également pour son aide technique au cours de la réalisation de ce travail.

Nous remercions vivement Madame Brađa M. S. d'avoir accepté de présider le jury de ce mémoire.

Notre gratitude va également à Mme Benmansour Nabahat d'avoir accepté d'examiner ce travail.

On tient à remercier particulièrement Monsieur le professeur Baghli Ilyas président de la SANMO (Société Algérienne de la Nutrition et de Médecine Ortho-moléculaire) qui nous a fait l'honneur d'avoir proposé le sujet de ce travail.

Un Merci de tout cœur à Madame Farhan le chef de service d'aquaculture du CNRDPA de Bousmail (Tīpaza) pour son accueil chaleureux et son aide à l'élaboration de ce travail.

Un merci chaleureux qui va à Mr Bessad Amine, chef d'option reproduction animale au département BPO à l'université de Blida 1, faculté des sciences de la nature et de la vie

Ainsi, Mr Bensalem Karim, Mr Halim et Mme Asma

Nos remerciements s'adressent à tout le personnel de l'unité Antibiotical SAIDAL de Médéa et particulièrement Madame Sadoĸ Faiza le chef de département de contrôle et inspection, Madame Bakhti Farida le chef de département de physicochimie, Mr Benamier le chef de département de microbiologie de SAIDAL de Médéa, Monsieur Boukhelkhal Kfireddine le responsable de l'animalerie,

Ainsi aux techniciens de laboratoire de physicochimie particulièrement Monsieur Bouĸhatem Redouane, Mr Abdelli Nouar et Monsieur Zouanbia Foued pour leurs patience, leurs soutiens et leurs aide technique.

Nous remercions également tout le personnel du laboratoire d'hygiène de la wilaya de Blida et le personnel de laboratoire de l'EPH de Berrouaghia .

Un merci spécial à notre collègue Bessissa Oussama qui a contribué par son aide à la progression de notre travail

Enfin, que tous ceux et celles qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce modeste travail, soient assurés de notre profonde sympathie.



Liste des tableaux

Tableau n° I : Distribution géographique naturelle de <i>Spirulina platensis</i>	07
Tableau n° II : classification de la spiruline.....	08
Tableau n° III : composition générale de la spiruline.....	09
Tableau n° IV : Composition en différents acides aminés (mg kg-1 de matière sèche) de la Spiruline (<i>Spirulina maxima</i>)	10
Tableau n° V : Minéraux et oligoéléments contenus chez <i>Spirulina platensis</i>	12
Tableau n° VI : composition de la spiruline en vitamines.....	13
Tableau n° VII : Effets thérapeutiques de la spiruline d'après le dictionnaire de la phytothérapie.....	14
Tableau n° VIII : Matériel animal issue de l'animalerie.....	18
Tableau n° IX : Souches microbiennes utilisées dans l'activité antimicrobienne.....	18
Tableau n° X : Matériel non biologique (Annexe I).	
Tableau n° XI : Composition du milieu de Hiri (pour un litre d'eau distillée)	20
Tableau n° XII : Pesée de la Phénylhydrazine chlorhydrate injectable (Annexe I).	
Tableau n° XIII : Résultats du criblage phytochimique des extraits de spiruline.....	38
Tableau n° XIV : Résultats de l'étude chromatographique par HPLC.....	39
Tableau n° XV : Temps de rétention des témoins standards utilisés (Annexe II).	
Tableau n° XVI : Résultats d'évaluation de l'activité anti-inflammatoire (Annexe II).	
Tableau n° XVII : Résultat de l'activité antimicrobienne des extraits de spiruline.....	42
Tableau n° XVIII : Résultats du FNS des échantillons sanguins des rats testés avant l'induction de l'anémie.....	46
Tableau n° XIX : Résultats du FNS des échantillons sanguines des rats testés après induction d'anémie.....	46
Tableau n° XX : Résultats du FNS des échantillons sanguines des rats testés après traitement par l'alimentation enrichi à 16% de spiruline.....	47
Tableau n° XXI : Résultats du test de toxicité effectué sur <i>Artemia salina</i>	50

Liste des tableaux

Tableaux	Titres	Pages
Tableau n° I	Distribution géographique naturelle de <i>Spirulina platensis</i>	07
Tableau n° II	classification de la spiruline	08
Tableau n° III	composition générale de la spiruline	09
Tableau n° IV	Composition en différents acides aminés (mg kg-1 de matière sèche) de la Spiruline (<i>Spirulina maxima</i>)	10
Tableau n° V	Minéraux et oligoéléments contenus chez <i>Spirulina platensis</i>	12
Tableau n° VI	composition de la spiruline en vitamines	13
Tableau n° VII	Effets thérapeutiques de la spiruline d'après le dictionnaire de la phytothérapie	14
Tableau n° VIII	Matériel animal issue de l'animalerie	18
Tableau n° IX	Souches microbiennes utilisées dans l'activité antimicrobienne	18
Tableau n° X	Matériel non biologique	Annexe I
Tableau n° XI	Composition du milieu de Hiri (pour un litre d'eau distillée)	20
Tableau n° XII	Pesée de la Phénylhydrazine chlorhydrate injectable	Annexe I
Tableau n° XIII	Résultats du criblage phytochimique des extraits de spiruline	38
Tableau n° XIV	Résultats de l'étude chromatographique par HPLC	39
Tableau n° XV	Temps de rétention des témoins standards utilisés	Annexe II
Tableau n° XVI	Résultats d'évaluation de l'activité anti-inflammatoire	Annexe II
Tableau n° XVII	Résultat de l'activité antimicrobienne des extraits de spiruline	42
Tableau n° XVIII	Résultats du FNS des échantillons sanguins des rats testés avant l'induction de l'anémie	46
Tableau n° XIX	Résultats du FNS des échantillons sanguines des rats testés après induction d'anémie	46
Tableau n° XX	Résultats du FNS des échantillons sanguines des rats testés après traitement par l'alimentation enrichi à 16% de spiruline	47
Tableau n° XXI	Résultats du test de toxicité effectué sur <i>Artemia salina</i>	50

Liste des figures

Figure n° 01 : Différentes formes prises par la spiruline.....	06
Figure n°02 : Morphologie d' <i>Arthrospira platensis</i>	07
Figure n°03 : Cycle biologique de d' <i>Arthrospira platensis</i>	09
Figure n°04 : Souche diluée d' <i>Arthrospira platensis</i> (Léonard 1964).	20
Figure n°05 : Souche mère d' <i>Arthrospira platensis</i> (Léonard 1964).....	20
Figure n°06 : Repiquage et dédoublement de la culture.....	21
Figure n°07 : Résidu de spiruline après centrifugation.....	22
Figure n°08 : Filtration sous vide de l'extrait glycéринé de spiruline.....	22
Figure n°09 : Extrait glycéринé de Spiruline.....	22
Figure n°10 : Schéma descriptif du procédé d'extraction par le glycérol.....	22
Figure n°11 : Préparation de l'extrait aqueux brut de spiruline.....	23
Figure n°12 : Schéma descriptif du procédé d'extraction par l'eau distillée.....	23
Figure n°13 : Système d'HPLC utilisé dans l'étude chromatographique.....	(Annexe II)
Figure n°14 : Filtration et mise sous ultra-son de la phase mobile.....	(Annexe II)
Figure n°15 : Gavage des souris.....	(Annexe III)
Figure n°16 : Injection sous aponévrose plantaire de la carraghénine.....	(Annexe III)
Figure n°17 : Bec benzène.....	(Annexe IV)
Figure n°18 : Ensemencement des souches microbienne.....	(Annexe IV)
Figure n°19 : Position des disques dans la boîte de Pétri.....	29
Figure n°20 : Préparation de l'aliment enrichi à la spiruline.....	(Annexe V)
Figure n° 21 : Mise en éclosion des cystes d'artémies.....	32
Figure n°22 : Etapes d'éclosion d'artémies	32
Figure n°23 : Nauplius ou larves d'artémies.....	32
Figure n° 24 : Réalisation du test de toxicité.....	33

Figure n°25: observation de spiruline sous microscope G 4 ×10.....	34
Figure n°26 : Observation sous microscope de la spiruline G 10×10.....	34
Figure n°27 : <i>Arthrospira platensis</i> sous microscope optique G40× 10.....	35
Figure n°28 : d' <i>Arthrospira platensi</i> sous microscope G100 ×10.....	35
Figure n°29 : Spirulines droites et spiralées (micro photos A.SAGGAI et S.SAADINE.... (Annexe I)	
Figure n°30 : Formes de spiruline publiées par. Jariosa, 2005 (Antenna technology).....(Annexe I)	
Figure n°31 : Observation microscopique de la spiruline par Djaghoubi A. 2013. (Annexe I)	
Figure n°32 : Dédoublément de la culture (8 litres de culture).....	36
Figure n°33 : Disque de Secchi..... (Annexe I)	
Figure n°34 : filtration de la spiruline.....	37
Figure n°35 : Opération de séchage de la biomasse et transformation en poudre.....	37
Figure n°36: Résultat de l'analyse par HPLC de l'extrait glyciné.....(Annexe II)	
Figure n°37: Résultat de l'analyse par HPLC de l'extrait aqueux..... (Annexe II)	
Figure n°38 : Variation du poids des pattes postérieures gauche et droite pour chaque lot....	40
Figure n°39 : Variation de pourcentage d'œdème des pattes gauches et droites.....	40
Figure n°40 : Variation de pourcentage de réduction d'œdème des pattes gauches et droites	41
Figure n°41 : Résultats de l'activité antimicrobienne des extraits de spiruline.....(Annexe IV)	
Figure n° 42 : Résultats de l'activité antimicrobienne des extraits de spiruline.....	43
Figure n°43 : Résultats de l'activité antimicrobienne du glycérol..... (Annexe IV)	
Figure n°44 : Automate utilisé pour effectuer les analyses du FNS des rats testés... (Annexe V)	
Figure n°45 : Etapes d'éclosion d' <i>Artémia salina</i>	49
Figure n°46 : Cystes déshydratés d' <i>Artemia salina</i>(Annexe VI)	

Liste des abréviations

NCCLS : National Comite For Clinical Laboratory Standard.

OMS : Organisation Mondiale de la Santé.

CNRDPA : Centre National de la Recherche et de Développement, de la Pêche et de l'Aquaculture.

ATCC : American Type Culture Collection.

NAZA : National Aeronautics and Space Administration.

Ω 3 : Oméga-3 (acide gras).

Ω 6 : Oméga-6 (acide gras).

SIDA : Syndrome d'Immuno-Déficience Acquise.

PCR : Polymerase Chain Reaction.

PC: Phycocyanine.

MH: Mueller Hinton.

SAB: Sabouraud.

Liste des abréviations

	Abréviation	Signification
01	ATCC	American Type Culture Collection.
02	CNRDPA	Centre National de la Recherche et de Développement, de la Pêche et de l'Aquaculture.
03	MH	Mueller Hinton
04	NAZA	National Aeronautics and Space Administration.
05	NCCLS	National Comite For Clinical Laboratory Standard.
06	OMS	Organisation Mondiale de la Santé.
07	PC	Phycocyanine.
08	PCR	Polymerase Chain Reaction
09	SAB	Sabouraud.
10	SIDA	Syndrome d'Immuno-Déficience Acquise
11	Ω 3	Oméga-3 (acide gras)
12	Ω 6	Oméga-6 (acide gras)

Table de matière

Introduction	01
---------------------------	----

Partie bibliographique

Chapitre I : Généralités

I-1- Phytothérapie et plantes médicinales	
I-1-1- Historique.....	03
I-1-2- Définition de la phytothérapie.....	03
I-1-3- Bienfaits et utilités de la phytothérapie.....	04
I-1-4- Place de la phytothérapie en Algérie.....	04
I-1-5- Algues médicinales.....	05
I-2- La spiruline <i>Arthrospira platensis</i>	
I-2-1- Historique.....	05
I-2-2- Description.....	06
I-2-3- Biotope et répartition géographique.....	07
I-2-4- <i>Arthrospira platensis</i> au sein de la taxonomie.....	08
I-2-5- Cycle évolutif d' <i>Arthrospira platensis</i> (Léonard 1964).	08
I-2-6- Composition d' <i>Arthrospira platensis</i> (Léonard 1964).	09
I-2-7- Bienfaits d' <i>Arthrospira platensis</i> (Léonard 1964).	13
I-2-8- l' <i>Arthrospira platensis</i> (Léonard 1964), est-elles toxique ?.....	15
I-2-9- Etudes récents menés sur <i>Arthrospira platensis</i>	16

Partie expérimentale

Chapitre II : Matériel et méthodes

II-1- Matériel

II-1-1- Matériel biologique.....	17
II-1-1-1-Matériel végétal	17
II-1-1-2-Matériel animal	18
II-1-1-3-Microorganismes.....	18

II-1-2-Matériel non biologique.....	19
II-2-Méthodes	
II-2-1- Culture artisanale de la spiruline.....	19
a)- Milieu de culture.....	19
b)- Conditions essentielles de culture.....	19
c)- Ensemencement.....	20
II-2-2- Méthodes d'extraction pour le screening phytochimique et la séparation par (HPLC).....	21
II-2-3- Screening phytochimique.....	23
II-2-4- Analyse qualitative par HPLC.....	25
II-2- 5-Test préliminaire de toxicité sur des larves d'artémie <i>Artemia salina</i> (Linnaeus, 1975).....	26
II- 3- Les activités pharmacologiques et biologiques de la spiruline.....	29
II-3-1- Activité anti-inflammatoire.....	29
II-3-2- Activité antimicrobienne.....	30
II-3-3- Activité antianémique.....	32
Chapitre III : Résultats et discussion	
III-1- Résultats de l'identification de la souche de la spiruline.....	34
III-2- culture artisanale de la spiruline.....	3
III-3- Screening phytochimique des extraits aqueux et glycéринé.....	37
III- 4- Résultat de la caractérisation par HPLC.....	38
III-5- Résultat du test de toxicité effectué sur des larves d' <i>Artémia</i>	39
III-6- Activités biologiques	42
Conclusion.....	51

- Références bibliographiques.

- Annexes.

*« N'allez pas là où le chemin peut mener. Allez là
où il n'y a pas de chemin et laissez une trace. »*

RALPH WALDO EMERSON

Résumé

Notre étude a porté sur le criblage chimique et l'évaluation de quelques propriétés thérapeutiques d'*Arthrospira platensis* (Léonard 1964).

Arthrospira platensis (Léonard 1964) est un aliment naturel qui a des valeurs nutritionnelles et thérapeutiques exceptionnelles grâce à sa richesse en éléments essentiels (protéines, vitamines, pigments minéraux, oligoéléments...) ainsi que sa reproduction active, qui a été confirmé durant la culture artisanale que nous avons réalisé.

Deux extraits ont été préparés, glyceriné et aqueux à partir de la biomasse séchée de cette micro algue pour effectuer un screening chimique visant à identifier les différentes familles des composés chimiques contenus et qui a permis de mettre en évidence la présence des tanins, des flavonoïdes, des stérols des coumarines, des saponosides, des alcaloïdes et des protéines.

Les résultats de l'étude qualitative par HPLC ont montrés que *Arthrospira platensis* (Léonard 1964) contient plusieurs vitamines entre autres tocophérol, provitamine A (β -carotène), pigment tel que la chlorophylle a et b.

L'évaluation de l'activité anti-inflammatoire in vivo était basée sur un traitement de 200 mg/kg d'extrait aqueux et d'extrait glyceriné à 8 % pris par gavage et qui ont provoqué une réduction significative de l'inflammation induite par la carraghénine. La réduction d'œdème était aussi importante que celle du Diclofénac®.

Le pouvoir antimicrobien d'*Arthrospira platensis* (Léonard 1964) a été testé sur quatre souches bactériennes (*Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*), une levure (*Candida albicans*) et un champignon (*Aspergillus brasiliensis*).

Les résultats obtenus ont montrés un effet antimicrobien de l'extrait aqueux vis-à-vis *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* et *Pseudomonas aeruginosa* et un effet inhibiteur pour l'extrait glyceriné sur *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* et *Candida albicans*.

Le potentiel antianémique de la poudre de *Arthrospira platensis* (Léonard 1964) a été testé sur des rats de souche wistar, l'injection de la phénylhydrazine chlorhydrate a provoqué une anémie hémolytique caractérisée par la diminution des paramètres hématologiques chez les rats, une récupération progressive est obtenue suite à l'administration de l'aliment enrichi à 16% d'*Arthrospira platensis* (Léonard 1964) pendant 9 jours.

Le test de toxicité des extraits de *Arthrospira platensis* (Léonard 1964) ainsi que celui d'*Arthrospira platensis* G. en culture effectué sur des larves d'*Artémia salina* était négatif. La mortalité était tellement faible et très proche de celle du témoin négatif.

Mots clés : *Arthrospira platensis* , Pouvoir antimicrobien, Inflammation, Anémie, Toxicité.

Abstract

Our study focused on chemical screening and evaluation of some therapeutic properties of a cyanobacterium better known as *Arthrospira platensis* (Léonard 1964).

Arthrospira platensis, It is a natural aliment which has an exceptional nutritional and therapeutic values through its wealth in essential elements (proteins, vitamins, minerals, pigments, oligoelements ...) as well as its active reproduction, which was confirmed during the artisan culture that we have achieved.

Two extracts glycerinated and aqueous were prepared from the dry biomass of the microalgae to perform a chemical screening to identify various families contents chemicals which allowed to bring out (underscore) the presence of tannins, flavonoids, sterols, coumarins, saponins, alkaloids, and proteins.

The results of the qualitative study by HPLC has shown that *Arthrospira platensis* G. contains several vitamins among other tocopherol, provitamine A (β -carotene) and pigment as chlorophyll a and b.

The evaluation of the anti-inflammatory activity in vivo was based on a treatment of 200 mg / kg of aqueous extract and glycerinated extract 8% taken via gavage and this has caused a significant reduction of the inflammation induced by carrageenan. The reduction of edema was as important as that of Diclofénac®.

The antimicrobial capacity of *Arthrospira platensis* (Léonard 1964). was tested on four strains of bacteria (*Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*) and two fungal strains (*Candida albicans*) and (*Aspergillus brasiliensis*). . The results obtained show an antimicrobial effect of the aqueous extract against *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* and *Pseudomonas aeruginosa*, and an inhibitory effect for the glycerinated extract on *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* and *Candida albicans*.

The antianemic potential of *Arthrospira platensis* (Léonard 1964). powder was tested on Wistar rats, injection of phenylhydrazine hydrochloride caused hemolytic anemia characterized by the decrease in hematologic parameters in rats, a gradual recovery is achieved following administration of the fortified food with 16% of *Arthrospira platensis* (Léonard 1964). for 9 days.

The toxicity test of *Arthrospira platensis* extract well as that of cultivated *Arthrospira platensis* (Léonard 1964). performed on *Artemia salina* 's larvae were not found positive. the mortality rate was very low and very close to the negative control.

Keywords: *Arthrospira platensis* , Antimicrobial capacity, Inflammation, Anemia, Toxicity.

الملخص:

تتركز دراستنا على الكشف الكيميائي وتقييم بعض الخصائص العلاجية للبكتريا الزرقاء المعروفة باسم سبيرولينا.

تعتبر السبيرولينا غذاء طبيعي ذو قيمة غذائية و علاجية استثنائية نتيجة ثراءها بالمكونات الأساسية من (البروتينات والفيتامينات والمعادن والعناصر الكبرى) وكذا تكاثرها النشاط المثبت في هذه الدراسة.

تم إعداد مستخلصين مستخلص مائي و مستخلص الغريسيلين من الكتلة الحيوية الجافة للطحالب الدقيقة و ذلك لإجراء الكشف الكيميائي عن المركبات الثانوية و الأولية لهذا الأخير. حيث سمحت التجربة بالكشف عن وجود التانان والفلافونويدات، الستيرول، الكومارين، الصابونين، وقلويدات والبروتينات و التي قد تكون مسؤولة عن الخصائص العلاجية للطحلب.

أظهرت نتائج الدراسة النوعية بتقنية استشراب السائل فائق الأداء أن السبيرولينا تحتوي على العديد من الفيتامينات من بينها توكوفيرول 'فيتامين أ' ريتينول 'بيتا كاروتان و مادة أخرى تحوي العديد من الخصائص العلاجية تدعى بالكيريستين.

واستند تقييم النشاط المضاد للالتهابات -الحيوية- على العلاج ب 200 ملغ/ كغ من المستخلص المائي و مستخلص الغليسرسن بتركيز 8 بالمائة المأخوذة عن طريق أنبوب التغذية و الذي ساهم في تخفيض الالتهاب الناجم عن الكاراجنان حيث كان الحد من التورم بنفس فاعلية ديكلوفيناك.

بالإضافة إلى ذلك تمت دراسة مدى فعالية السبيرولين ضد الميكروبات فقد تم اختبارها على أربعة أنواع من البكتيريا :

(*Escherichia coli, Bacillus subtilus, Pseudomonas aeruginosa et staphylococcus aureus*)

و نوعين من الفطريات خميرة (*Candida albicans*) و فطر (*Aspergillus brasiliensis*)

تم التوصل إلى أن المستخلص المائي له فاعلية ضد كل من (*E. coli, B. subtilus, P. aureginosa*)

بينما أظهرت النتائج أن المستخلص الغليسيري له فاعلية ضد كل من (*E. coli, B. subtitllus, C. albicans*)

تم كذلك اختبار إمكانية عمل مسحوق سبيرولينا كمضاد ل فقر الدم على جرذان ويستار، وذلك بحقنهم بفينيل هيدرازين هيدروكلوريد مما تسبب بفقر الدم الانحلالي، و تم علاجها بغذاء غني ب 16 بالمائة من مسحوق السبيرولين و قد لوحظ من خلال التحاليل أنه تم تعويض الهيموغلوبين و الكريات الحمراء بعد 9 أيام.

أجري اختبار السموم على يرقات الأرتيميا سالينا و كانت النتيجة سلبية إذ أن نسبة الوفيات كانت ضئيلة جدا و بنسبة متقاربة مع الشاهد السلبي.

الكلمات الرئيسية: سبيرولينا 'مضاد البكتيريا و الفطريات' التهاب' فقر الدم' تسمم.

I-1- Phytothérapie et plantes médicinales

I-1-1- Historique

Depuis la nuit des temps, les plantes ont servi de pharmacothèque naturelle et pragmatique pour l'homme (**Schauenberg et al., 2006**).

L'utilisation des plantes en tant que remèdes, que ce soit sur le plan physique ou des plans plus subtils, est commune à toutes les cultures, ses origines remontant à l'aube des temps (**Mclyntre, 2010**), en témoignent, les tablettes babyloniennes trouvées à Nippur datant de plus de 3000 ans avant Jésus-christ et le papyrus égyptien découvert à Louxor par l'égyptologue allemand Georg Ebers (**Scimeca et al., 2010**).

Avant l'apparition des premières traces écrites, les peuples ne léguaient que peu d'informations sur l'ampleur et l'application de leurs connaissances médicales (**Grunwald et al., 2007**). C'est seulement à partir de 4000 ans avant Jésus-Christ que l'on retrouve des documents écrits ou sont mentionnés des drogues comme l'opium, la jusquiame et la belladone (**Pousset, 2004**).

Par exemple, l'ouvrage de Dioscoride sur la matière médicale de « *Materia medica* », qui décrivait tous les médicaments en usage à son époque, demeura l'une des sources les plus consultées par les médecins jusqu'à l'aube du XIXe siècle (**Iserin, 2001**).

Au moyen-âge, c'est essentiellement le monde arabe médiéval qui va le premier tenter de codifier la pharmacognosie d'une manière scientifique entre le 8 ème et 13 ème siècle (**Chabier, 2010**). Les arabes avaient aussi leurs spécialistes en médecine et en pharmacie tels qu'Abu Bakr Al Razi, il fut suivi par Ibn Sina ou Avicenne et Ibn Al Baytar (**Iserin, 2001**).

En 1635, Louis XIII créa à Paris le célèbre *Jardin royal des plantes médicinales* riche de plus de 2300 espèces végétales. Au 18 ème siècle les plantes acquièrent leur identité telle qu'on la connaît aujourd'hui, à savoir un double nom latin indiquant le genre et l'espèce (**Colette, 2004**).

Selon **Bernardet (1983)**, C'est vers 1865 que le docteur Auguste qui procurait des soins en médecine par les plantes donna le nom de phytothérapie pour la définir.

I-1-2- Définition de la phytothérapie

On appelle phytothérapie, la thérapeutique par les plantes (du grec phyto : plante et thérapie : soin). C'est une thérapeutique qui utilise les plantes ou formes galéniques dérivées de plantes (**Boudali et al., 2012**). On utilise ainsi fleurs, feuilles, racines voire plantes entières

cueillies dans la nature environnante, mise en œuvre sous forme de tisanes, de gélules, de teintures mères homéopathiques d'extraits...etc. (Scimeca *et al.*, 2010).

Selon l'OMS, cette thérapie est considérée comme une médecine traditionnelle et encore massivement employée dans certains pays dont les pays en voie de développement. C'est le plus souvent une médecine non conventionnelle du fait de l'absence d'étude clinique (Boudali *et al.*, 2012).

I-1-3- Bienfaits et avantages de la phytothérapie

Il est établi depuis toujours que certaines plantes possèdent des activités bactéricides, antifongiques, antivirales, antimitotiques, antirhumatismales, immunostimulantes, hyper ou hypotensives, tonifiantes, antispasmodiques et d'autres (Zhiri *et al.*, 2005).

La phytothérapie clinique individualisée est l'aboutissement d'une pratique millénaire de l'usage médicinal des plantes, combinée aux plus récentes recherches, et à une meilleure connaissance des dysfonctionnements physiologiques (Zhiri *et al.*, 2005).

La phytothérapie moderne est une ramification de la médecine classique, elle est fondée sur l'emploi de substances actives d'origine végétale (plantes, lichens, champignon ou même algues). Le diagnostic et le concept thérapeutique sont les mêmes (Grunwald *et al.*, 2007).

Elle s'est beaucoup développée ces dernières années, notamment grâce à une innovation technologique majeure : les extraits de plantes standardisés.

Le mariage entre la chimie, la biochimie, la biologie, la médecine, la pharmacie et la botanique est une union que personne ne peut contester. Les plantes identifiées et classifiées par les botanistes sont devenues la matière première de prédilection pour de nouvelles prospections pharmaceutiques (Zhiri *et al.*, 2005).

I-1-4- Place de la phytothérapie en Algérie

On considère que près de 75% de la population africaine n'a recours qu'aux plantes qui l'entourent pour se soigner (Pousset, 2004).

A l'instar de certains pays, en Algérie, les plantes médicinales et les remèdes n'ont jamais été totalement abandonnés et les gens n'ont jamais cessé de faire appel à la médecine traditionnelle, ce qui a conduit à maintenir une tradition thérapeutique vivante malgré le développement spectaculaire de la médecine moderne (Hamza, 2011).

En effet l'Algérie bénéficie d'un climat très diversifié et les plantes poussent en abondance dans les régions côtières, montagneuses et également sahariennes. Ces plantes constituent des remèdes naturels potentiels qui peuvent être utilisés en traitement curatif et préventif (**Belouad, 1998**).

Ce potentiel comporte plusieurs espèces présentant divers objets de recherche scientifique, mais la majorité de ces plantes médicinales et leurs vertus thérapeutiques restent méconnus et peu utilisés (**Baba Aissa, 2000**).

Depuis plusieurs années, un regard particulier est porté sur la recherche de nouvelles substances d'intérêts biotechnologiques. Ainsi, sur le marché pharmaceutique et cosmétique, 30 % des substances actives ont été développées à partir de substances naturelles dont 10 % ont été isolées d'organismes marins (**John, 1994**) dont les algues en font partie.

I-1-5- Algues médicinales

L'environnement marin est un écosystème rendu unique en raison de la diversité des organismes qu'il abrite (**Radmer et al., 1994**).

Utilisées depuis des millénaires par les populations littorales pour leurs hautes valeurs nutritives, les algues constituent un enjeu majeur de développement économique (**Mc Hugh, 2003**), elles font preuve d'une incroyable plasticité écologique. Des projections estimaient en 1994 que les 36 000 espèces algales répertoriées ne représentaient en fait que 17 % des 200 000 espèces supposées existantes (**Radmer et al., 1994**).

Les microalgues sont d'excellents convertisseurs d'énergie solaire en produisant un grand nombre de composés dont les potentialités industrielles font apparaître un large spectre d'applications touchant principalement à l'alimentation, la santé, l'environnement et même l'énergie (**Ruiz, 2005**).

I-2- Spiruline ou *Arthrospira platensis*

I-2-1- Historique

La spiruline est un des plus primitifs organismes apparus sur terre il y a plus de 3,5 milliards d'années. Elle n'a pas évolué, c'est l'ancêtre de tous les organismes vivants, de la lignée animale comme de la lignée végétale (**Vidalo, 2008**).

Découverte au Mexique en 1492, puis tombée dans l'oubli, la spiruline a été redécouverte en 1939 au Tchad (**Vicat et al., 2014**), elle a été décrite pour la première fois par

Wittrock et Nordstedt en 1844 sous le nom de *Spirulina jenneri platensis* Nordstedt (**Sguera, 2008**).

Elle est cultivée naturellement dans les lacs du Tchad (chez les Kanembous) et dans la vallée de Texcoc au Mexique (chez les Aztèques) (**Branger et al., 2003**).

Les études sur cette algue ne démarrent véritablement que dans les années 60 et dans les années 70 à l'échelle mondiale, la spiruline devient appréciée dans les pays industrialisés du fait de ses excellentes propriétés nutritionnelles.

Toutefois, il est utile de mentionner l'existence de travaux menés par la NASA et l'agence spatiale européennes quant à l'utilisation d'*Athropsira platensis* (Léonard 1964) dans de futures stations spatiales (**Falquet et al., 2006**).

I-2-2- Description

La spiruline (Cyanobactérie *Athropsira platensis* Léonard 1964) est une algue bleu-vert microscopique, planctonique, vivant en eau douce, d'aspect spiralée de 0,3 à 1 mm de long, se présente sous formes de filaments constitués des cellules juxtaposées.

La reproduction d'*Athropsira platensis* (Léonard 1964), asexuées, se fait par division des filaments (**Boutalbi et al., 2014**). Cette forme hélicoïdale lui donne l'allure d'un minuscule ressort ce qui lui a valu son appellation de « **spiruline** », on trouve cependant des spirulines ondulées et parfois droites (**Geitler, 1932**) (**Fig 1**).

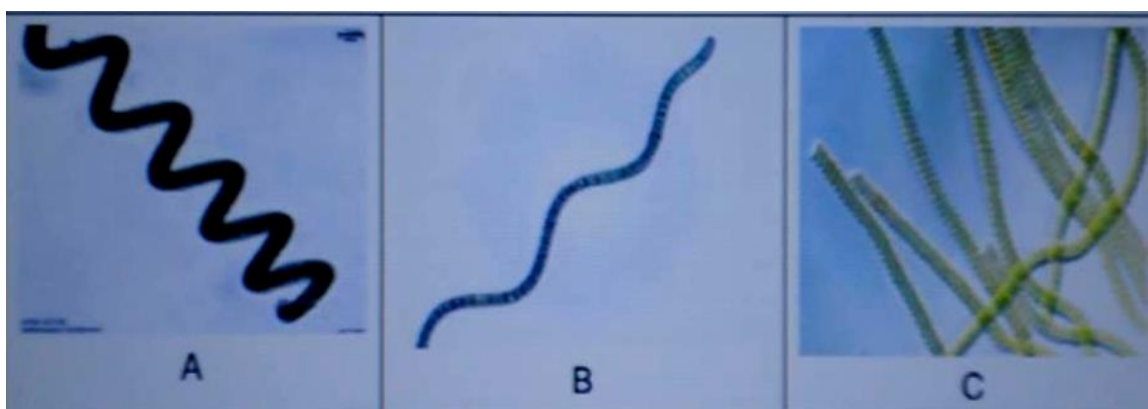


Fig (1): Différentes formes prises par la spiruline (**Charpy et al., 2008**).

C'est une procaryote vrai, elle est de type GRAM négative (**Boutalbi, 2014**). Elle est non mobile ou mobile (par glissement ou à l'aide de vacuole à gaz), mais ne possède jamais de flagelles (**Pierlovisi, 2007**) (**Fig 2**).

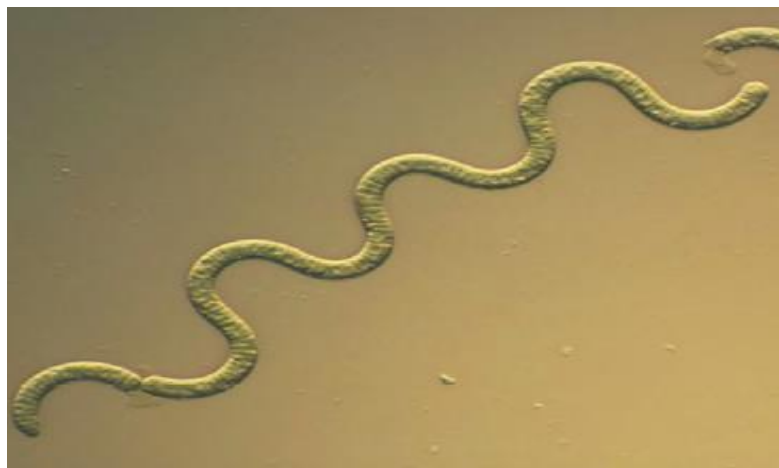


Fig (2) : Morphologie d'*Arthrospira platensis* (Léonard 1964)

I-2-3- Biotope et répartition géographique de la spiruline

Elle se développe préférentiellement dans des eaux chaudes, alcalines et riches en nutriments azotés et phosphorés, mais elle peut aussi se développer dans les eaux saumâtres ainsi que dans les lacs salins des régions tropicales et semi tropicales (Castenholz et al., 2001) ce qui limite sa zone de répartition à une bande intertropicale, située environ entre 35° de latitude Nord et 35° de latitude Sud (Tableau I).

Tableau I : Distribution géographique naturelle de *Spirulina platensis*:

Pays	Région ou zone
Algérie	Tamanrasset
Tchad	Region du Kanem : lacs Latir, Ouna, Borkou, Katam, Yoan, Leyla, Bodou,
Soudan	Cratere de Djebel Marra
Madagascar	de petits lacs pres de Toliara
Tunisie	Lac Tunis; Chott el Jerid
Zambie	Lac Bangweoulou
Congo	Mougounga
Inde	Lacs Lonar et Nagpur
Myanmar	Lacs Twyn Taung, Twyn Ma et Taung Pyank
Pakistan	Mares pres de Lahore
Thaïlande	Lacs d'effluents d'une usine de tapioca, province de

	Radburi, 80 km au S.O. de Bangkok
France	Camargue
Haïti	Lac Gonave
Mexique	Lac Texcoco ; lac Cratere
Uruguay	Montevideo

(Fox, 1999)

I-2-4- Arthrospira au sein de la taxonomie

En 1962, Stanier et *al.* constataient que cette algue bleue-verte était dépourvue de compartiments cellulaires et donc faisait partie des procaryotes, ils proposaient de désigner ce micro-organisme « cyanobactérie ». Cette désignation est acceptée et figurée pour la première fois au « Bergey's Manuel of Determinative Bacteriology en 1974 » (Durand-chastel et *al.*, 1993).

Tableau II: Classification de la spiruline *Arthrospira platensis*

Règne	Monera
Sous-règne	Procaryote
Embranchement	Cyanophyta
Classe	Cyanophyceae
Ordre	Nostocales (oscillatoriales)
Famille	Oscillatoriaceae
Genre	<i>Arthrospira</i>
Espèce	<i>Arthrospira platensis</i> (Léonard 1964)

(Fox, 1999)

I-2-5- Cycle évolutif de l' *Athrospira platensis* (Léonard 1964)

Le filament d'*Arthrospira platensis* (Léonard 1964) à maturité forme des cellules spéciales appelées nécriides. Elles se différencient des autres cellules par leur aspect biconcave et sont assimilées à des disques de séparation.

A partir de ces derniers, le trichome se fragmente pour donner de nouveaux filaments de 2 à 4 cellules appelés hormogonies. Les hormogonies vont croître en longueur par division binaire (chacune des cellules va donner deux cellules par scissiparité) et prendre la forme typique hélicoïdale. En conditions expérimentales, le temps de génération (passage d'une

génération à une autre) maximal d'*Arthrospira platensis* (Léonard 1964) est de l'ordre de 7 heures (Zarrouk, 1966) (Fig 3).

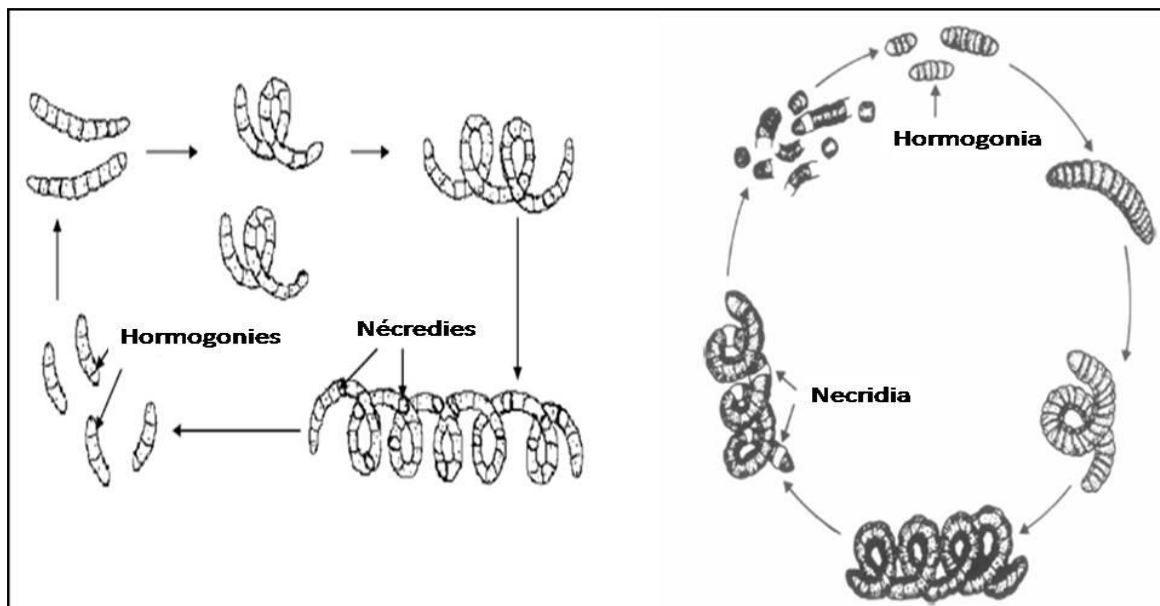


Fig (3) : Cycle biologique d'*Arthrospira platensis* (Léonard 1964) (Balloni et al., 1980 ; Ciferri, 1983).

I-2-6- Composition

L'*Arthrospira platensis* (Léonard 1964) contient une mine de nutriments dans un très petit volume, ces propriétés reposent sur sa richesse de composition tant quantitative que qualitative, qui en fait une sorte de « super cocktail » parfaitement équilibré en éléments indispensables au bon fonctionnement de l'organisme. C'est cette richesse qui lui donne ses vertus rééquilibrantes avec un effet anti carences naturel le plus complet qui soit connu à ce jour (Scimeca et al., 2010)(Tableau III).

Tableau III : Composition générale d'*Arthrospira platensis* (Léonard 1964).

composé	Minimum	Maximum
Humidité	4%	7%
Cendre	6.4%	9.0%
proteines	60.0%	71.0%
Fibres brute	0,1%	0,9%
xanthophylles	1,4 g/kg	1,8 g/kg

β-carotène	1,5 g/kg	1,9 g/kg
Chlorophylle- a	6,1g/kg	7,6g/kg
Calcium	1045 mg/kg	1315 mg/kg
Phosphore	7617	8942
Fer	475	580
Magnésium	1410	1915
Manganèse	18	25
Zinc	27	39
Potassium	13305	15400
Hydrates de carbone totaux	13,0 %	16,5 %

(Pierlovisi, 2007)

I-2-6-1- Protéines et acides aminés

La teneur en protéines d'*Arthrospira platensis* (Léonard 1964) est élevée. Elle représente 60% à 70% de sa matière sèche (Fox, 1999), supérieure à celle du soja. Elle possède la plupart des acides aminés dont les acides aminés essentiels (Tableau IV).

Tableau IV : Composition en différents acides aminés de la Spiruline *Spirulina maxima* (mg kg⁻¹ de matière sèche):

acide aminé	Minimum	Maximum
Isoleucine	5.81	6.15
Leucine	8.17	9.25
Phénylalanine	4.62	5.56
Histidine	1.48	1.52
Valine	7.0	8.45

Thréonine	5.30	5.97
Arginine	7.43	8.42
Cystine	0.93	0.94
Acide aspartique	9.05	9.95
Acide glutamique	12.59	13.82
Glycine	4.85	5.28
Proline	4.18	4.16
Serine	5.3	5.63
Alanine	8.2	8.28
Tyrosine	-	-
Méthionine	2.65	3.05
Lysine	4.93	5.63

(Fox, 1999)

I-2-6-2- Acides gras

La composition en lipides totaux se caractérise par un bon équilibre entre acides gras saturés et acides gras polyinsaturés, elle est riche en acides gras polyinsaturés des séries $\omega 3$ et $\omega 6$ (Pierlovisi, 2007), qui préviendraient l'accumulation de cholestérol dans l'organisme.

L'acide gamma-linolénique constitue jusqu'à 40% des acides gras de la spiruline, qui figure parmi les meilleures sources connues d'acide gamma-linolénique (Ciferri, 1983 ; Cohen, 1993). Cette présence mérite d'être soulignée du fait de sa rareté dans les aliments courants et que c'est un précurseur de médiateurs chimiques des réactions inflammatoires et immunitaires (Falquet et al., 2006).

I-2-6-3- Sels minéraux et oligo-éléments

Les minéraux entrent dans la composition intime de tous les tissus du corps. Ils se trouvent en quantités considérables dans certaines structures telles que les os, les dents, les ongles et, pour une moindre part, dans les muscles, le sang, etc (Falquet et al., 2006).

Quant aux oligoéléments, malgré leur faible dosage, ils sont indispensables au bon fonctionnement de l'organisme. Parmi les minéraux contenus chez l'*Arthrospira platensis* (Léonard 1964) les plus intéressants à étudier sont le fer, le zinc, le magnésium, le calcium, le phosphore et le potassium (Falquet *et al.*, 2006)(Tableau V).

Tableau V: Minéraux et oligoéléments contenus chez *Spirulina platensis* :

Eléments	Quantités (mg/kg de biomasse sèche)		
Cr	11,3 à 14,2	Ca	4320
Fe	900 à 1176	Cl	4890
Zn	554 à 592	K	9000
Mn	21 à 375	Mg	670 à 2700
		Na	4500 à 235000
		P	6700 à 9000

(Avino *et al.*, 2000).

I-2-6-4- Vitamines

Tableau VI : Composition d'*Arthrospira platensis* (Léonard 1964) en vitamines (Pierlovisi, 2007).

Vitamine	Moyenne mg/kg	vitamine	Moyenne mg/kg
Biotine	0.4	Tocopherol (E)	190
Cyanocobalamine (B12)	0.4	β -Carotène (pro-A)	1700
Inositol	350	Acide ascorbique (C)	90
Pyridoxine (B6)	3	Acide folique (B9)	0.5
Riboflavine(B2)	40	Acide nicotinique (PP) (B3)	118
Thiamine (B1)	55	∂ -Ca-Pantothénate	11

I-2-6-5- Pigments

Le système pigmentaire présent est constitué de chlorophylle *a*, mais aussi de pigments hydrosolubles, les phycobilines rouge (phycoérythrine) et bleue (phycocyanine), et de caroténoïdes (β -carotène, cryptoxanthine) et autres (Pierlovisi, 2007).

La phycocyanine c'est le pigment le plus abondant de la spiruline et représente plus de 15 % du poids frais et plus de 20 % du poids sec de l'algue (**Romay et al., 1998**).

Ce pigment a été utilisé comme colorant dans des boissons de santé, confiserie et les cosmétiques. De petites quantités sont également utilisées comme traceurs biochimiques dans des dosages immunologiques en raison de ses propriétés de fluorescence.

I-2-7- Bienfaits d'*Arthrospira platensis* (Léonard 1964)

C'est d'abord l'aliment le plus riche en protéines (60 à 70% en poids sec) et ces protéines sont d'excellente qualité puisqu'elles contiennent tous les acides aminés essentiels (**Falquet, 1996**). Elle peut être bénéfique pour corriger l'anémie et diminuer les pertes de poids chez des enfants malnutris atteints de la maladie du SIDA.

Elle est considérée comme un aliment fonctionnel malgré sa faible valeur sensorielle, valeur qui pourra être compensée par un mélange avec un autre aliment plus appétent (**Aribi, 2011**).

Outre son intérêt nutritionnel, l'*Arthrospira platensis* (Léonard 1964) renferme plusieurs molécules ayant fait l'objet d'études pour leurs activités biologiques pour le traitement de certaines maladies telles que le cancer (**Mathew et al., 1995; Zhang et al., 1994; Guan et al., 2002**), les allergies (**Kim et al., 1998; Mao et al., 2005**), anémies (**Hayakawa, 1996; Simpure et al., 2005**), maladies virales (**Ayehunie et al., 1998; Lee et al., 2001; Hernández-Corona et al., 2002**), cardiovasculaires (**Paredes-Carbajal et al., 1997; Samuels et al., 2002 ; Park et al., 2008**), diabète (**Rodríguez-Hernández et al., 2001; Huang et al., 2005**), immunodéficiences (**Mao et al., 2005, Lobner et al., 2008**), et inflammations (**Remirez et al., 2002; Shih et al., 2009**).

Certains composés présents dans l'*Arthrospira platensis* (Léonard 1964), tels que les composés phénoliques, phycocyanine et tocophérol peuvent avoir une activité anti-oxydante (**Wu et al., 2005; Patel et al., 2006; Guan et al., 2009**)

Tableau VII : Effets thérapeutiques de spirulina d'après le dictionnaire de la phytothérapie.

(JOURDAN ,2000)

I-2-8- Utilité d'*Arthrospira platensis* (Léonard 1964)

Effets thérapeutiques de la spiruline d'après le dictionnaire de la phytothérapie :

-Abcès	-Cataractes	-Ongles cassants
-Acide Urique	-Circulation sanguine	-Ostéoporose
-Acidité stomacale	-Circulation cérébrale	-Ovaires infections
-Acné	-Colites	-Palpitation cardiaque
-Affections cardiaques	-Concentration	-Peaux (rides)
-Allergies respiratoires	-Couperose	-Phobies
-Anémie	-Dégénérescence	-Psoriasis
-Anorexie	-Diabète	-Saignements gencives
-Aphtes	-Digestion	-Sclérodermie
-Arthrite	-Douleurs gastriques	-Sécheresse
-Arythmies	-Endométriose	-Séquelles de phlébites
-Asthme	-Fatigue musculaire	-Stérilité (certaines)
-Artériosclérose	-Fatigue physique	-Stomatite
-Asthénie	-Gingivites	-Surcharge pondérale
-Bouches (problèmes)	-Libido	-Système nerveux (désordre)
-Bourdonnement d'oreilles	-Mémoire (perte)	-Troubles cérébraux
-Brûlures	-Migraines	-Ulcères
-Constrictions capillaires tissus	-Manque d'appétit	-Ulcères de l'œsophage
-Capillaires dilatés	-Néphrite	-Ulcères des intestins
-Capillaires	-Nervosité	-Voies urinaires
-perméabilité		

Selon **Charpy (2008)**, la spiruline est utilisée :

- ❖ Pour la santé, une alimentation équilibrée, et pour renforcer le système immunitaire
- ❖ Dans l'agroalimentaire, comme colorant naturel dans les chewing gums, sorbets, sucreries, produits laitiers, boissons non alcoolisées.
- ❖ En cosmétique dans les masques cryogéniques et crèmes anti-âge, par son action sur le renouvellement cellulaire et la tonicité des tissus.
- ❖ A usage animal, complément nutritionnel en aquariophilie, en aquaculture pour favoriser la croissance et la fertilité, et augmenter les performances des animaux.

I-2-9- l'*Arthrospira platensis* (Léonard 1964), est-elles toxique ?

Actuellement une quarantaine d'espèces de cyanobactéries secrètent des cyanotoxines qui sont généralement des neurotoxines pouvant être mortelles pour l'homme ou l'animal agissant sur différents organes cible (foie, système nerveux). Les genres principaux reconnus pour produire des toxines sont *Anabaena*, *Aphazinomenon*, *Cylindrospermopsis*, *Microcystis*, *Nodularia*, *Oscillatoria*, *Planktothrix*.

Parmi les quelques 100 000 espèces d'algues, un petit nombre peut être toxique. Les algues bleues cyanobactéries énumérées ci-après ont été considérées comme toxique à une occasion ou à une autre (Fox, 1999) :

Anabaena floss-aqua, *Anabaena circinalis*, *Mycrocystis aeruginosa* , *Oscillatoria intestini* , *Nodularia sp.* , *Nostoc rivulare*, *Rivularia sp*, *Oscillatoria acutissima*, *Oscillatoria lacustris*, *Oscillatoria nigro-viridis*, *Oscillatoria formosa* *Oscillatoria prolifica* , *Oscillatoria salina*. (Fox, 1999).

L'*Arthrospira platensis* (Léonard 1964) ne s'est jamais révélée toxique pour l'homme, c'est une espèce comestible, dont même les détecteurs des algues l'admettent (Fox, 1999), elle n'a pas les gènes qui assurent la synthèse des toxines des cyanobactéries (Belay, 2007; Charpy, 2008).

Il existe aujourd'hui une méthode « Multiplex PCR » (Saker et al., 2007) de détection des gènes impliqués dans la synthèse des microcystines, qui sont des cyanotoxines présentes dans les cyanobactéries. Des analyses réalisées par un laboratoire indépendant ont montré l'absence de Beta-Nméthylamino-L-alanine (BNLA) dans la Spiruline produite par Cyanotech.

Ainsi, Le Ph élevé et l'alcalinité du milieu de culture, inhibent la croissance d'organismes potentiellement contaminants ce qui entraîne une monoculture virtuel d'*Arthrospira platensis* (Belay, 2007; Charpy, 2008).

L'*Arthrospira platensis* (Léonard 1964) accumule des métaux lourds mais en quantité en dessous des seuils de toxicité donnés par la FAO (Falquet et al., 2006). De même dans un récent ouvrage, (Chamorro et al., 2007) rapportent que les évaluations de toxicité sur des animaux nourris à court et long terme avec de fortes doses d'*Arthrospira platensis* (Léonard 1964) n'ont pas révélé de toxicité.

I-2-10- Etudes menées sur *Arthrospira platensis* (Léonard 1964)

Jusqu'à un passé récent, l'intérêt de *Arthrospira platensis* (Léonard 1964) résidait uniquement dans sa valeur nutritive, alors qu'à la fin du XX siècle, certains chercheurs étudient les effets thérapeutiques potentiels de la Spiruline.

Quelques études cliniques suggèrent, en effet, des effets thérapeutiques tels que la réduction du cholestérol et des cancers, par stimulation du système immunitaire, l'augmentation des lactobacilles de la flore intestinale, la réduction de la toxicité des reins par les métaux lourds et les drogues, et la protection contre les radiations (**Amaha et al., 1993**).

- En **1983**, **Devi et Venkataraman** ont fait le premier rapport sur la réduction du cholestérol sanguin qui a été réalisé sur des rats, puis plusieurs chercheurs ont confirmé ces hypothèses par des expérimentations sur l'homme.
- Un brevet japonais de **1983** sur l'utilisation de la phycocyanine (pigment bleu de la *Arthrospira platensis* (Léonard 1964)) dans la stimulation de système immunitaire et la lutte contre le cancer.
- En **1986** **Becker et al.**, ont montré que la prise de 2.8g/3 fois par jours pendant quatre semaines, entraînait une réduction du poids corporel chez les personnes obèses.
- **Schwartz et Sklar** ont prouvé en **1987** que le β -carotène extrait de spiruline inhibait la carcinogenèse chez les hamsters, ils ont démontré plus tard que l'extrait de spiruline prévenait le développement de tumeurs à très faibles doses.
- En **1988**, **Yamane et al.**, ont montré que *Arthrospira platensis* (Léonard 1964) fait diminuer le taux des indicateurs d'une inflammation des reins (urines riches en azote et sérum riche en créatinine) causée par la forte teneur en mercure, et ils ont constaté que la phycocyanine serait responsable de cette diminution et donc la détoxification des reins.
- En **1990**, **Iwata et al.**, ont remarqué une suppression de l'hypertension chez les rats suite à un apport de *Arthrospira platensis* (Léonard 1964).
- En **1991**, **Takai et al.**, ont montré que la fraction solubles dans l'eau de *Arthrospira platensis* (Léonard 1964) a la propriété de diminuer le taux de glucose dans le sérum.
- En **2006**, **Patel et al.**, ont étudié l'effet des radicaux peroxydases sur la phycocyanine isolé de *Arthrospira platensis* (Léonard 1964) et ils ont constaté que cette dernière est un puissant antioxydant.

Introduction

Les algues regroupent un ensemble d'organismes très varié, toutes possèdent de la chlorophylle, et en ce sens ce sont des végétaux. Elles vivent en milieux aquatiques ou dans des lieux humides. On trouve des organismes plus évolués, des eucaryotes uni ou pluricellulaires ainsi que des bactéries appelées algues bleues ou cyanobactéries (**Jean et al., 2010**).

Depuis 1963, l'institut français de pétrole (**IFP Energies nouvelles**) a pu réussir la culture d'une algue bleue connue sous le nom de spiruline qui prolifère naturellement dans les eaux alcalines et riches en sels (**Ould Bellahcen et al., 2013**).

La spiruline est considérée comme une source alimentaire de haute qualité nutritive, cette micro-algue a été le sujet de nombreuses études dans plusieurs pays (**Saxena, 1981 ; 1982**).

L'impressionnante teneur en protéines de la spiruline a attiré l'attention aussi bien des chercheurs que les industriels. Par la suite, nombre de propriétés particulièrement intéressantes sur le plan nutritionnel sont apparues : composition protéique équilibrée, présence de lipides essentiels rares, ainsi que de nombreux minéraux et vitamines.

Outre son intérêt nutritionnel, la spiruline présente des propriétés thérapeutiques. Elle renferme plusieurs molécules ayant fait l'objet d'études pour leurs activités biologiques (**Sirnoval, 1993**).

Les résultats des travaux récents menés sur l'animal puis chez l'homme laissent supposer des propriétés thérapeutiques intéressantes (stimulatrice du système immunitaire, anticancéreuse, antioxydante et antiradicalaire...) qui conviendrait d'approfondir et de confirmer dans les années à venir (**Cruchot, 2008**). Ainsi de nombreux travaux ont montré que la spiruline est douée d'une activité thérapeutique importante contre certaines infections d'origine microbienne et la mal nutrition protéino-énergétique (**Fox, 1994**).

A côté de ces nombreux intérêts, de multiples études, certes dispersées, portent sur la recherche de nouveaux constituants naturels tels que les composés phénoliques, les composés terpéniques, les alcaloïdes qui ont des intérêts multiples mis en faveur de l'industrie agroalimentaire (additifs, colorants, arômes, agents de conservation...) et pharmaceutique

Toutefois, l'évaluation des propriétés thérapeutiques antimicrobiennes, anti-inflammatoires et autres demeure une tâche très intéressante et utile en particulier (**Bougandoura, 2010**).

Introduction

Dans cette dynamique, nous nous sommes intéressées à la spiruline *Arthrospira platensis* (Léonard 1964), et à l'évaluation de quelques activités biologiques.

Pour ce faire, nous nous sommes assignées comme objectifs :

- La culture de la spiruline, *Arthrospira platensis* (Léonard 1964).
- Une caractérisation phytochimique et chromatographique d'extraits de spiruline,
- Un test de toxicité mené sur des larves d'*Artémia salina*,
- Une évaluation des activités anti-inflammatoire, antimicrobienne,
- Un essai sur le potentiel antianémique de la poudre d'*Arthrospira platensis* (Léonard 1964).

Notre étude expérimentale a été réalisée durant un mois et demi et s'est déroulée au niveau :

- Du laboratoire de physico-chimie de l'unité ANBIOTICAL (SAIDAL de Médéa), pour la macération glycéinée et le screening phytochimique,
- Du laboratoire de contrôle et d'inspection (SAIDAL de Médéa) « cellule d'HPLC » pour la séparation chromatographique par (HPLC),
- Du laboratoire de Pharmaco-toxicologie de l'unité ANBIOTICAL (SAIDAL de Médéa), pour l'évaluation du pouvoir anti-inflammatoire et du pouvoir antianémique de la poudre de spiruline,
- Du laboratoire d'Hygiène de la Wilaya de Blida pour l'activité anti microbienne.

II.1. Matériel

II.1.1. Matériel biologique

II.1.1.1. Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé dans ce travail est l'algue bleue verte *Arthrospira platensis* (Léonard 1964). La souche mère nous a été aimablement fournie en culture dans un flacon de deux litres sous forme de solution (liquide) par la ferme d'aquaculture du CNRDPA (Centre National de Recherche et de Développement de la Pêche et de l'Aquaculture) d'Ouargla.



- ❖ L'identification de l'espèce a été faite au niveau du laboratoire de recherche du (CNRDPA) à Bousmail (Tipaza).
- ❖ La spiruline a été cultivée artisanalement à domicile dans la région de Médéa jusqu'à l'obtention d'un produit fini (poudre sèche de spiruline).

II.1.1.2. Matériel animal : Les animaux utilisés proviennent de l'animalerie du laboratoire de pharmacologie toxicologie du complexe ANTIBIOTICAL (SAIDAL de Médéa), ayant libre accès à l'eau et la nourriture et acclimatés aux conditions d'élevage. Le matériel animal est consigné dans le (**Tableau VIII**) en dessous :

Tableau VIII : Matériel animal issue de l'animalerie du groupe SAIDAL de Médéa

Animal	Souche	Nombre	Sexe	Poids	Alimentation	Activité biologique
Rats	Albinos (wistar) Neozelandienne	10 divisés en 2 lots	mâle et femelle.	Entre 190 et 290 g	Granules à base de maïs	Antianémique
Souris	Albinos Swiss race N.M.R.I.	20 divisés en 4 lots	mâle et femelle.	Entre 20 et 25 g	Granules à base de maïs	Anti inflammatoire

- **Cystes ou œufs d'*Artémia salina* (Fig. 47 / annexe VI)** utilisés pour effectuer un test de toxicité.

II.1.1.3 microorganismes : Les organismes testés fournis par le laboratoire d'hygiène de Blida et sont regroupés dans le **Tableau IX**.

Tableau IX : Caractéristiques de souches microbiennes testées

Souches microbiennes		Référence
Bactérie Gram négatif	<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27853
Bactérie Gram positif	<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 6538
	<i>Bacillus subtilis</i>	ATCC 9372
Levure	<i>Aspergillus brasiliensis</i>	ATCC 16404
	<i>Candida albicans</i>	ATCC 24433

II.1.2. Matériel non biologique

Le matériel non biologique englobe toute la verrerie de laboratoire et les réactifs chimiques utilisés au sein de l'étude expérimentale et illustré dans (**Tableau X / Annexe I**).

II.2. Méthodes

II.2.1. Culture de la spiruline

La production de spiruline se fait à plusieurs échelles : artisanale, semi-industrielle et industrielle. Les éléments de différenciation de ces modes de production sont la surface totale des bassins de culture et leurs surfaces unitaires, les moyens et matériaux utilisés, les degrés de technologie ainsi que les objectifs.

La culture de notre spiruline est passée par les mêmes étapes obligatoires, lesquelles seront décrites ci-après, sur la base des méthodes artisanales.

a)- Conditions essentielles de culture

* Milieu de culture

La culture de *Arthrospira platensis* (Léonard 1964) peut se faire dans plusieurs milieux différents dont les plus connus sont : milieu Hiri, Zarrouk, milieu Jourdan.

Dans la présente étude on a choisis d'utiliser le milieu Hiri du point de vue économique et la disponibilité des produits nécessaire à la culture.

Ce milieu est constitué d'eau distillée et de sels minéraux, avec un pH compris entre 9 et 10 dans les proportions citées dans le **Tableau (XI)**.

Tableau (X) : Composition du milieu de Hiri (pour un litre d'eau distillée)

Composé	Quantité (g/l)	Composé	Quantité (g/l)
Bicarbonate de soude (NaHCO ₃)	16	Sulfate de potassium (K ₂ SO ₄)	0.5
Chlorure de sodium (NaCl)	01	Chlorure de calcium (CaCl ₂)	0.1
Phosphate d'ammonium (NH ₄ H ₂ PO ₄)	0.1	Sulfate de magnésium (MgSO ₄)	0.1
Sulfate de fer (FeSO ₄)	0.01	Urée azotée CO(NH ₂) ₂	0.1

***Ph** : le Ph sera entre 8.5 et 10.5 (Jourdan, 1999), naturellement, la spiruline à tendance à alcaliniser le milieu (Danesi *et al.*, 2004).

***Agitation** : une agitation mécanique est assurée à l'aide d'une pompe à air toute la journée avec des coupures de 20 minutes de temps en temps.

***L'éclairage** : une intensité lumineuse ambiante est indispensable à la culture, elle est fournie par une lampe de 75W.

***Température** : la température d'incubation est comprise entre 30 et 40°C. Et est assurée par un chauffage électrique d'aquarium (Fig b/Annexes I).

b)- Ensemencement :

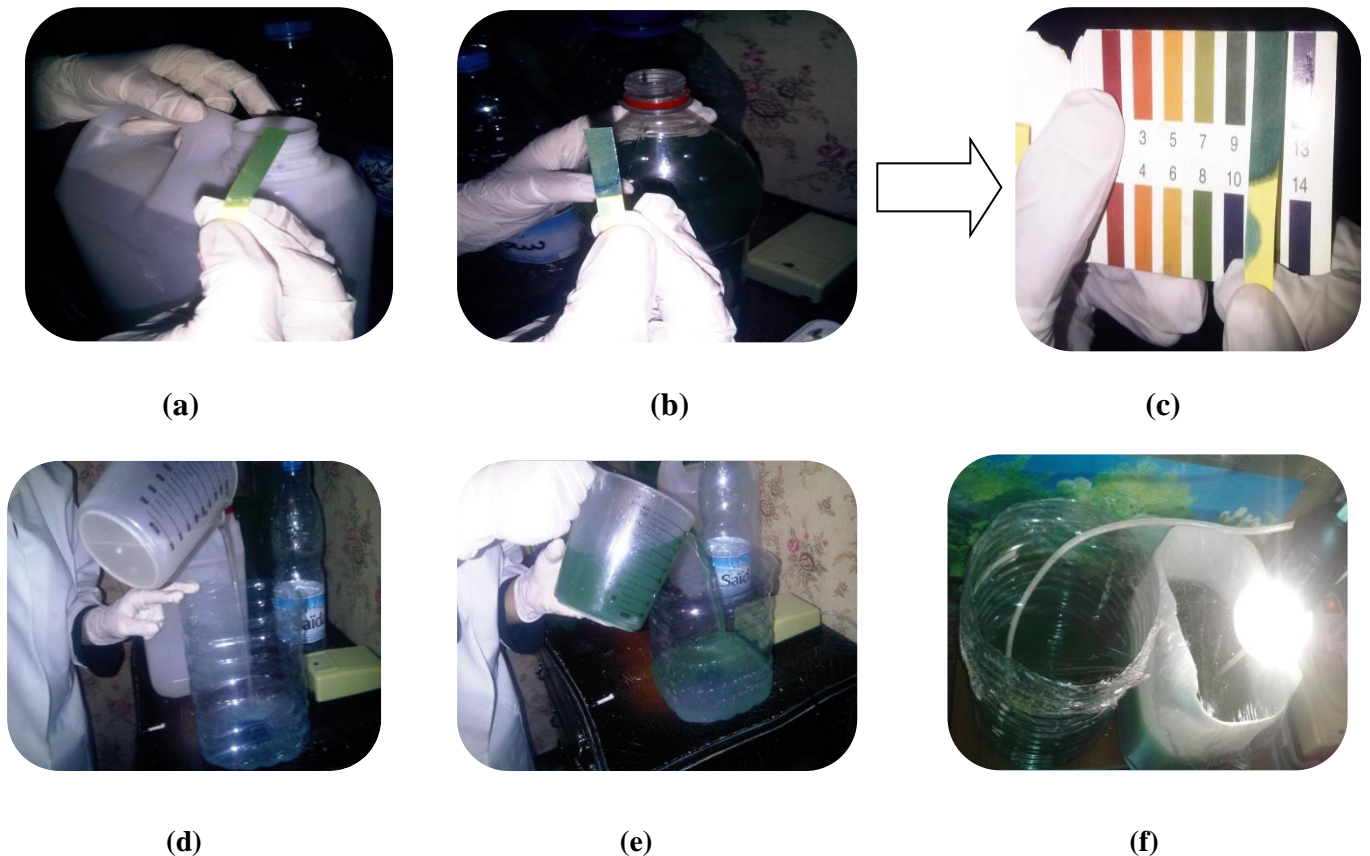
La culture débute par l'ensemencement, qui est réalisé par dilution dans un milieu de culture neuf préparé auparavant d'un inoculum dense d'un vert tirant vers le bleu-vert en respectant les mêmes conditions physiques voir figures (4) (5) (6).



Fig (4): Souche diluée de spiruline (Originale 2015).



Fig (5): Souche mère de spiruline (Originale 2015).



(a) : Mesure du Ph du milieu de culture préparé.

(b) : Mesure du Ph de la solution de *Arthrospira platensis* (Léonard 1964) (souche mère).

(c) : Ph basique égale a 9 pour les deux milieux.

(d), (e), (f) : Dédoublement de 8 litres de culture.

Fig (6) : Repiquage et dédoublement de la culture (**Originale 2015**).

II.2.2. Méthodes d'extraction pour le criblage chimique et la caractérisation par HPLC

II.2.2.1. Macération glycérolique

➤ On mélange 20 grammes de poudre de spiruline dans 250g de glycérol. On laisse macérer pendant quinze jours à température ambiante.

➤ Après 15 j on effectue une centrifugation (5000t/min) pour faciliter la filtration (consistance plus ou moins dense du glycérol). Puis on récupère le filtrat et les résidus de spiruline, (**Figure 7**).

➤ Une filtration frontale lente est ensuite effectuée, avec un filtre compatible alimentaire (**Chauhan vikas et al., 1994**). On conserve l'extrait dans un flacon bien fermé, (**Figure 8, 9**).



Fig (7) : Résidu de spiruline après centrifugation.



Fig (8) : Filtration sous vide de l'extrait glycéринé de spiruline.



Fig (9) : Extrait glycéринé de spiruline.

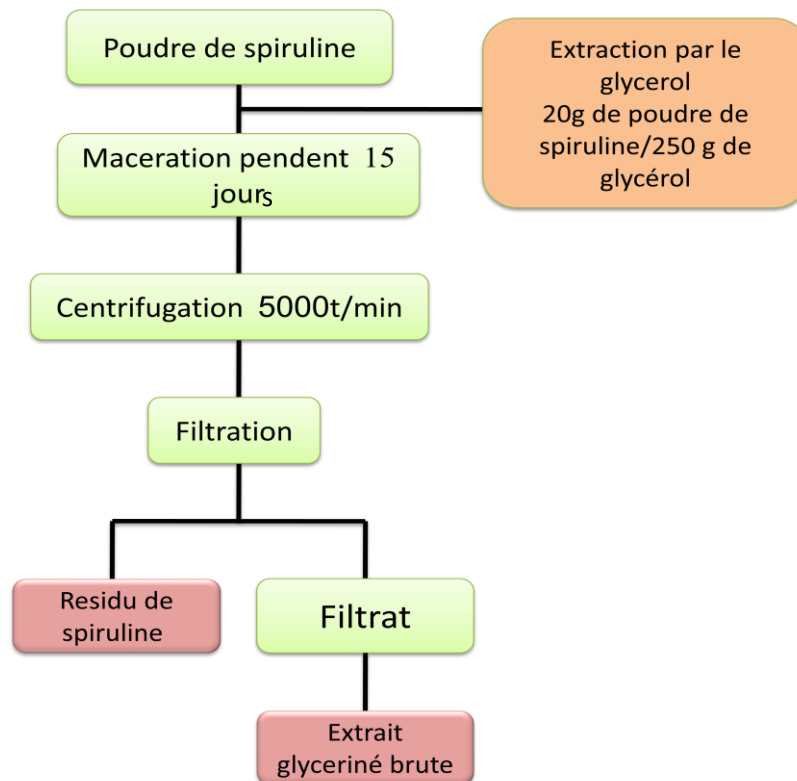


Fig (10) : Schéma descriptif du procédé d'extraction par le glycérol.

II.2.2.2. Extrait aqueux

➤ Pour obtenir un extrait aqueux brut de *Arthrospira platensis* (Léonard 1964), on effectue une extraction par macération à froid en mettant la matière végétale séchée en contact avec de l'eau distillée à raison de 2g/100ml d'eau distillée pendant 24 heures. **Figure (11)**.

- On filtre à l'aide d'un papier filtre.

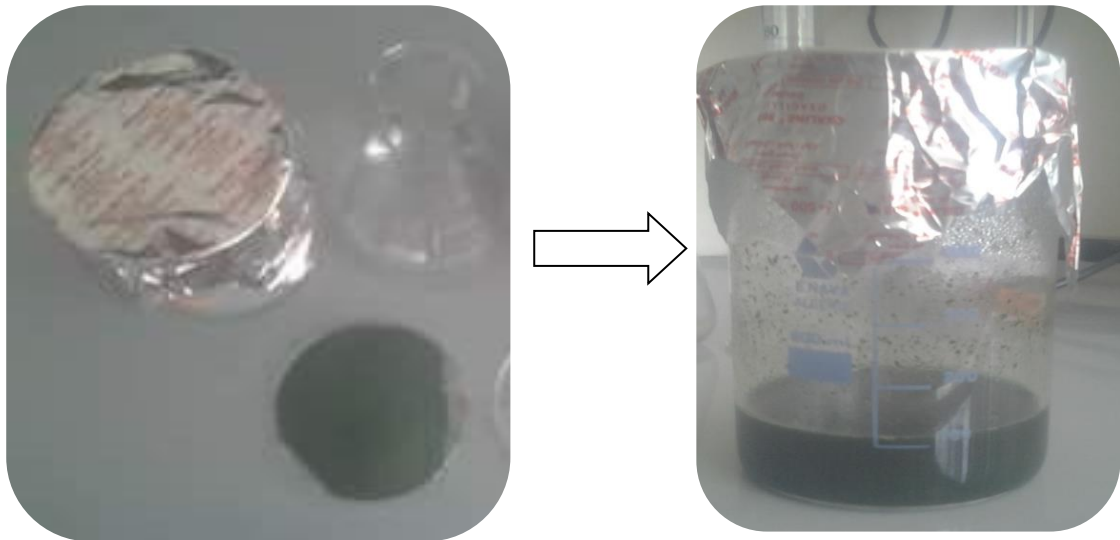


Fig (11) : Préparation de l'extrait aqueux brut d'*Arthrospira platensis* (Léonard 1964)
(Originale 2015).

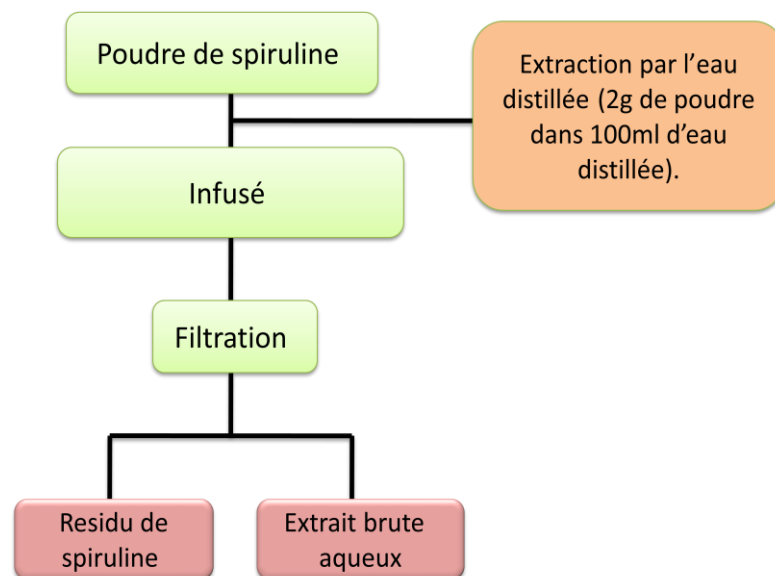


Fig (12) : Schéma descriptif du procédé d'extraction par l'eau distillée.

II.2.3. Screening phytochimique

La phytochimie qualitative est basée sur des réactions colorées ou de précipitation, par des réactifs chimiques spécifiques réalisées sur les extraits reconstitués à partir de la poudre des échantillons, pour une première estimation des données préliminaires sur les constituants des extraits.

Les groupes phytochimiques sont nombreux, mais on peut citer les principaux : les alcaloïdes, les polyphénols (flavonoïdes, anthocyanes, tanins), les saponosides, les stéroïdes, les coumarines, les terpènes (**Bougandoura, 2010**).

II.2.3.1 Détection des métabolites secondaires

• Test des tanins :

Les tanins sont mis en évidence à partir de 1 ml de chaque extrait, placé dans un tube en présence de quelques gouttes de FeCl_3 . Après agitation de l'extrait, la couleur vire au bleu noir en présence de tanins galliques et au brun verdâtre en présence de tanins catéchiques (**Vijayakumari et al., 2013**).

• Test des coumarines :

Les coumarines sont révélées à partir de 2 ml d'extrait placé dans un tube est ajouté à 3 ml de NaOH (10%), après agitation de l'extrait, la formation d'une couleur jaune indique la présence de coumarines (**Seladji et al., 2013**).

• Test des anthocyanes :

Les anthocyanes sont détectés en plaçant 5ml d'extrait dans un tube auquel on ajoute 15 ml d' H_2SO_4 à (10%) (Milieu acide), après agitation, le mélange est ajouté à 5ml NH_4OH à (10%) (Milieu basique). La présence d'anthocyanes est affirmée par une coloration bleuviolacée en milieu basique (**Savithramma et al., 2011**).

• Test des flavonoïdes

Un mélange de quelques gouttes de Mg^{+2} et de gouttes d' HCl concentré, placé dans un tube est ajouté à 2ml d'extrait. L'apparition de la coloration rose, orange ou rouge indique la présence des flavonoïdes (**Vijayakumari et al., 2013**).

• Test des anthraquinones

Pour la détection des anthraquinones, 10ml d'extrait sont ajoutés à 5ml de NH_4OH à (10%). Après agitation quelque minute, l'apparition d'un anneau rouge indique la présence d'anthraquinones (**Samejo et al., 2013**).

• Test des saponosides

A 2 ml d'infusé, quelques gouttes d'acétate de plomb sont ajoutées. La formation d'un précipité blanc indique la présence des saponosides (**Bruneton, 1999**).

- **Stérols** : Les stéroïdes sont relevés après addition de 5ml d'anhydride acétique à 5ml d'extrait à chaud. Le mélange est ajouté à 0.5 ml d'acide sulfurique concentré. Après l'agitation l'apparition, à l'interphase, d'un anneau pourpre ou violet, virant au bleu puis vert, indique une réaction positive (**Bruneton, 1999**).
- **Alcaloïdes** : Les alcaloïdes ont été caractérisés à partir des réactifs de Mayer ou Wagner .10ml d'extrait sont évaporés jusqu'à l'obtention d'un volume de 0.2ml, sur lequel 1.5ml de HCL à (2%) sont ajoutés. Après agitation de la solution acide ,1 à 2 gouttes de réactifs Mayer ou Wagner sont ajoutées. L'apparition d'un précipité blanc jaunâtre ou brun indique la présence d'alcaloïdes (**Seladji et al., 2013**).

II.2.3.2.Détection des métabolites primaires

- **Test de protéine** : à 2 ml de l'extrait aqueux sont ajoutées 5 à 6 gouttes NaOH à 5%, après agitation on ajoute 5 à 7 gouttes de CuSo₄. L'apparition de couleur violet indique la présence de protéine (**Samejo et al., 2013**).
- **Test des glucosides** : à 2g de poudre, rajouter quelques gouttes d'H₂SO₄, la formation d'une couleur rouge brique ensuite violette indique la présence des glucosides (**Bruneton, 1999**).
- **Test de sucre réducteur** : 2 ml de l'extrait aqueux sont soumis en contact avec 2ml de solution Fehling (A+B) placé dans un tube et porté à ébullition. L'apparition de précipité rouge indique la présence du sucre réducteur (**Bruneton, 1999**).

II.2.4. Analyse qualitative par HPLC

❖ Principe

La chromatographie en phase liquide à haute performance est une méthode d'analyse qui permet de séparer les différents constituants d'un mélange par entraînement d'une phase mobile liquide le long d'une phase stationnaire solide (**Mathieu et al., 2008**).

La caractérisation de plusieurs composés des extraits aqueux et glycéliné de la spiruline a été réalisée par un système HPLC (**SHIMADZU**), équipé avec un réservoir à solvant contenant la phase mobile, un dégazeur (**DGU-12A**), un détecteur UV visible (**SPD-10A VP**), une vanne électromagnétique (**FCV-10 AL VP**), une pompe a piston (**LC10-AD VP**), un four (**CTO-10A**) et un contrôleur (**SCL-10A VP**) avec un logiciel de classe **VP (version 5.4)** (**Fig. 13/annexe I**).

❖ Conditions opératoires

- Colonne : C18 (WATERS) -Pression : 5.4MPa -Débit de transfert : 1ml /min
- Diamètre : 5 µm - Dimension : 250mm x 4,6 mm
- Longueur d'onde : 375 nm -Quantité injectée : 20 µl

❖ Mode opératoire

Selon la méthode citée par **Wang et al. (2007)**,

- Préparer l'extrait aqueux et l'extrait glycéринé.
- Filtrer l'extrait avec un micro-filtre (0.45 µm) centrifuger et mettre le ensuite dans l'ultra-son.
- Préparer la phase mobile qui est constituée d'un mélange d'acétonitrile /chlorure de méthylène (7.5 : 2 V/V), filtrer et mettre le mélange dans l'ultra-son (**Fig.14/ Annexe I**).
- Injecter l'extrait à analyser avec une seringue appropriée de 20µl.
- Attendre l'apparition des pics sur l'écran en fonction des temps de rétention de chaque composé.
- L'identification de la composition de notre extrait a été faite par comparaison des temps de rétention avec ceux des standards enregistrés dans la banque de données de l'HPLC de l'entreprise.

II.2. 5. Test préliminaire de toxicité sur des larves d'*Artémias salina*

L'essai sur *Artemia* est un test de toxicité générale facile à mettre en œuvre et largement utilisé dans l'évaluation de la toxicité générale d'extraits naturels d'origine terrestre ou marine.

Afin de savoir si nos extraits et notre spiruline en culture contenaient des toxines, des tests de biotoxicité sur des *Artemia salina* ont été effectués et qui pourraient donner des informations utiles quant à la présence des toxines sans se substituer au test souris.

Préparation d'*Artémia salina* pour le test

Eclosion des nauplii : Des cystes ou œufs d'artémia sont mis à éclore dans une ampoule à décanter dans (1 litre + 30 g de sel de mer) (sous fort bullage).

Paramètres de culture

La température: il est préférable de la maintenir entre 25 et 30°C; si ce paramètre n'est pas respecté, le métabolisme du cyste est stoppé de façon irréversible.

- **La salinité:** favorable entre 20 et 25 g/l.

- **L'aération:** permet d'homogénéiser le milieu et de favoriser l'éclosion.

- **L'éclairage:** une lumière artificielle continue favorise un meilleur rendement.



Fig (21) : Mise en éclosion des cystes d'artémies (Originale 2015).

Au bout de 72 heures, le bullage est stoppé pour récolter les nauplii. Une source lumineuse est dirigée vers le bas de l'ampoule à décanter. Par phototropisme, les larves se séparent des cystes non éclos et des débris d'œufs (Mousseux, 1995).

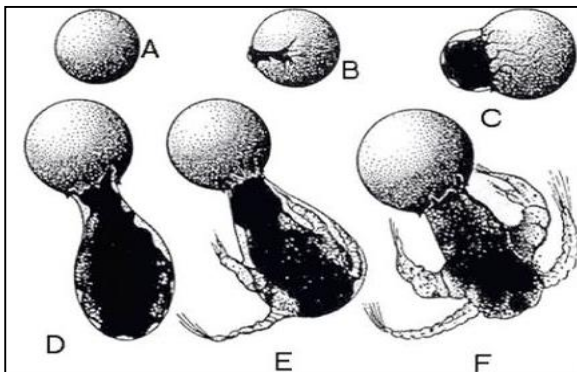


Fig (22) : Etapes d'éclosion d'artémie.



Fig (23) : Nauplius ou larve d'artémia.

Protocole opératoire du test

- Préparer un bouillon des cyanobactéries à tester, en faisant bouillir l'échantillon dans de l'eau salée à 30 g/litre, pendant 2-3 minutes, puis filtrer sur filtre à café et laisser refroidir.

- Remplir un mini-aquarium au quart avec le bouillon refroidi. Il est impératif que le mini-aquarium soit bien nettoyé avant usage.
 - Ajouter de la culture d'artémias jusqu'à avoir environ une vingtaine d'individus vivants (utiliser un compte-gouttes ou une pipette à bout fin).
 - Remplir de la même façon un autre mini-aquarium mais sans bouillon, qui servira de blanc (car il peut y avoir une certaine mortalité même sans toxines)
 - Suivre le nombre d'artémias vivants en fonction du temps, sur un ou deux jours.
- Comme les artémias vivants se déplacent rapidement le comptage est un peu difficile et approximatif, mais c'est la tendance moyenne qui importe.
- On admet qu'une survie de 6 h ou plus indique une non-toxicité, mais dans la pratique il faut prendre la tendance sur un temps plus long à cause des nouveau-nés.
 - Comparer la mortalité des artémias dans les deux mini-aquariums au bout de 6 heures et jusqu'à 24 heures ou plus (**Fox, 1999**).

Le nombre de larves survivantes est compté dans chaque tube et la mortalité calculée pour chaque extrait par l'équation suivante :

$$\text{Mortalité : \% morts} = (\% \text{ morts essai} - \% \text{ morts témoin}) / (100 - \% \text{ morts témoin}).$$

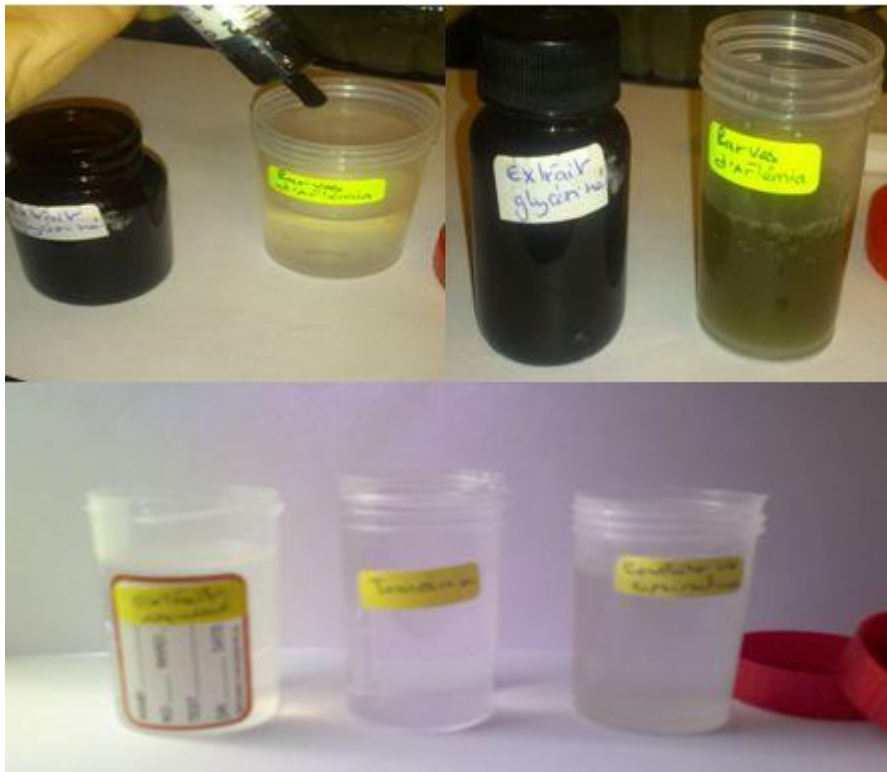


Fig (24) : Réalisation du test de toxicité (Originale 2015).

II.3. Activités biologiques et pharmacologiques

II.3.1. Activité anti inflammatoire

La mise en évidence de cet effet a été réalisée par utilisation de deux extraits :

- a) l'extrait aqueux de la poudre de *Arthrospira platensis* (Léonard 1964), à une dose de 200 mg/kg (par poids de l'animal) selon La méthode de **Levy** citée par **Winter et al., (1962)**.
- b) l'extrait glycéринé dilué à 10% selon la méthode citée par **Berkan et al., (1991)**.

❖ Principe

Le principe consiste à induire chez l'animal de laboratoire une inflammation, qui pourra être réduite par des produits anti-inflammatoire, administrés préalablement.

Cette étude permet de comparer le pouvoir anti-inflammatoire de nos extraits à celui de (Diclofénac), un médicament anti inflammatoire de référence.

❖ Mode opératoire

- Afin de mettre en évidence ce test, des souris Albinos de sexe différent pesant entre (20-25g) sont répartis en quatre lots de cinq souris chacun, à savoir trois lots à traiter et un lot témoin.
 - Les souris ont été mises à jeun pendant 18h avant l'expérimentation.
 - Préparation de la solution de carraghénine de concentration de 1mg/1ml d'eau physiologique
 - Administration par voie orale (gavage) aux quatre lots des suspensions à l'aide d'une sonde gastrique (**Fig.15/Annexe III**) :
- 1) **Lot témoin** : les souris ont reçus par gavage 0.5ml d'eau physiologique.
 - 2) **Lot traité par le produit de référence** : souris gavés avec 0.5ml d'un produit anti inflammatoire (Diclofénac) d'une dose de 0.125mg/ml (1comprimé de 75 mg dissous dans 600 ml d'eau physiologique).
 - 3) **Lot traité par l'extrait aqueux** : 0.5ml d'une dose de 200mg/kg a été administré aux souris par gavage.
 - 4) **Lot traité par l'extrait glycéринé** : souris gavés avec 0.5ml avec une dilution de 10%, par l'eau physiologique, de l'extrait glycéринé.

Au temps **To + 30 min**

Un volume de 0.025ml de solution de carraghénine est injecté sous l'aponévrose plantaire des pattes postérieures arrière gauche (**Fig.16/ Annexe III**) à tous les souris mis en expérience.

Au temps $T_0 + 04$ h

Après avoir sacrifié les cobayes, les pattes postérieures ont été coupées à hauteur de l'articulation et pesées avec une balance de précision.

- **Expression des résultats**

- Calculer les moyennes arithmétiques des poids des pattes gauches et droites pour chaque lot.

- Calculer le pourcentage d'œdème par la formule suivante :

$$\%d'oeudeme = \frac{\text{moyenne des poids des pattes gauches} - \text{moyenne des poids des pattes droites} \times 100}{\text{moyenne des poids des pattes droites}}$$

- Calculer le % de réduction de l'œdème chez les souris traitées par rapport aux témoins selon la formule suivante :

$$\% \text{ de réduction de l'œdème} = \frac{\% \text{ de l'œdème témoin} - \% \text{ de l'œdème essai} \times 100}{\% \text{ de l'œdème témoin}}$$

II.3.2. Activité antimicrobienne

Cette activité a pour but d'étudier qualitativement l'effet antimicrobien des extraits glycéринé et aqueux de *Arthrospira platensis* (Léonard 1964), par la méthode de diffusion sur milieu solide suivant les lignes directrices de NCCLS et les recommandations de l'OMS.

❖ Principe

Cette méthode repose sur le pouvoir migratoire de l'extrait à tester sur un milieu solide afin de mettre en évidence l'effet antibactérien ainsi que la détermination de la résistance ou la sensibilité des germes choisis vis-à-vis cet extrait.

- Des disques absorbants stériles de 9 mm sont imprégnés d'une quantité de l'extrait et déposés à la surface du milieu de culture ensemencé en surface d'une suspension bactérienne à l'aide d'un écouvillon stérile.
- L'incubation est faite dans une étuve à 37 °C pendant 24h pour les bactéries et à 29 °C de 24 à 48h pour les levures.
- L'absence de la croissance microbienne se traduit par un halo translucide autour du disque dont le diamètre est mesuré et exprimé en millimètre.
- Des boîtes de contrôle présentent des disques non imbibés par les extraits ainsi que d'autres boîtes témoins sans disques sont ensemencées dans les conditions de l'expérience nous renseignent sur l'homogénéité du tapis bactérien.

❖ Mode opératoire selon la méthode de Rahal, (2005)

Toute l'expérimentation a été réalisée devant un bec benzène (**Fig.17/ Annexe IV**).

L'activité antimicrobienne a été testée avec :

- L'extrait aqueux de la poudre d'*Arthrospira platensis* (Léonard 1964), à 05%.
- L'extrait glycérolé à 08%.
- Des antibiotiques de référence (témoins positifs) / Le glycérol (témoin négatif).
- Faire fondre les milieux Muller-Hinton (MH) et Sabouraud (SAB) dans un bain marie à 95°C puis les faire couler dans les boîtes de Pétri de 90 mm de diamètre, laisser refroidir sur la paillasse.
- Préparer l'inoculum : à partir d'une culture jeune, de 18 h pour les bactéries et de 48h pour les levures, des suspensions troubles ont été réalisées en prélevant 3 à 4 colonies bien isolées et identiques et les déposer dans 5ml d'eau physiologique stérile en agitant très bien (l'inoculum doit être utilisé suivant sa préparation).
- Dans la zone stérile, ensemencer les souches microbiennes, en suspension, à l'aide des écouvillons dans les boîtes de Pétri contenant les géloses (MH pour les bactéries et SAB pour les levures) (**Fig. 18/ Annexe IV**).
- A l'aide d'une pince stérile, on met en contact les disques stériles avec les différents échantillons cités auparavant, dont les solutions vont être absorbés progressivement jusqu'à imprégnation totale de tout le disque.
- Déposer les disques sur la surface de gélose (on a déposé trois (03) disques de même extrait dans une seule boîte,
- Incuber à 37°C pendant 24h pour les bactéries et à 29°C de 24 à 48h pour les levures.

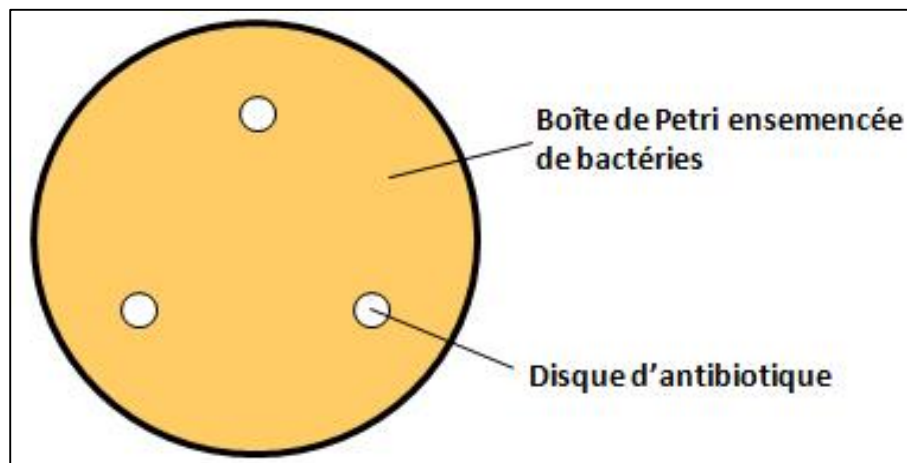


Fig (19): Position des disques dans la boîte de Pétri

(<http://tpe-antibiotique.e-monsite.com/pages/experience.html>)

Lecture des résultats

- Présence de zone claire autour du disque : présence d'activité inhibitrice.
- Absence de zone claire autour de disque : absence d'activité inhibitrice.
- L'activité antimicrobienne a été déterminée en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition autour des disques. L'échelle d'estimation de l'activité antimicrobienne est citée par **Mutai et al., (2009)**.

-Très fortement inhibitrice : $D \geq 30$ mm -Fortement inhibitrice : $21\text{mm} \leq D \leq 29\text{mm}$.

-Modérément inhibitrice : $16\text{mm} \leq D \leq 20$ mm. -Non inhibitrice : $D < 10\text{mm}$.

-Légèrement inhibitrice : $11\text{mm} \leq D \leq 16\text{mm}$.

II.3.3. Activité anti anémique

Le test suivant consiste à évaluer l'activité antianémique de *Arthrospira platensis* (Léonard 1964), chez les rats Wistar, vue sa composition équilibrée en nutriments très intéressantes citant 12 minéraux et oligo-éléments dont le fer qui est sous forme directement assimilable (**Falquet et al., 2006 et FAO, 2009**).

❖ Principe

Afin de mettre en évidence le pouvoir antianémique de la spiruline, une induction d'anémie a été faite via l'administration par voie intra-péritonéale de 40mg/kg/j de la Phénylhydrazine chlorhydrate pendant deux (02) jours (j_0 et j_1). Le taux d'hémoglobine

d'hématocrite et de globules rouges sera diminué au bout du troisième jour (j_3) (Naughton, 1995).

Des prélèvements sanguins ont été effectués avant et après induction d'anémie pour confirmer la diminution du taux des globules rouges.

L'alimentation enrichie de 16% en *Arthrospira platensis* (Léonard 1964), et en vitamine C a été le traitement préconisé pendant 10 jours.

❖ Protocole opératoire

Afin de réaliser ce test, des rats Albinos de souche wistar de sexe différent pesant entre (190-290g), ayant libre accès à l'eau et la nourriture et acclimatés aux conditions d'élevage de l'animalerie et qui sont répartis en deux lots de cinq rats dans chacun, à savoir un lot d'essais et un lot témoin négatif.

- Faire peser les rats pour calculer la quantité de la phénylhydrazine chlorhydrate injectable pour chaque rat (**Tableau XII/ Annexe V**).
- Effectuer le premier prélèvement sanguin pour doser le taux des globules rouges, d'hémoglobine, ainsi que les autres composants sanguins pour avoir idée sur l'état immunitaire générale.
- Administrer par voie intra-péritonéale de 40mg/kg/j de la phénylhydrazine chlorhydrate pendant deux (02) jours (j_0 et j_1).
- Effectuer le deuxième prélèvement sanguin aux rats au jour (j_4) pour confirmer s'ils sont anémiés.

❖ Préparation de l'aliment enrichi en *Arthrospira platensis*.

- Mélanger le produit destiné à l'alimentation des rats (à base de maïs) avec la poudre de la spiruline en ajoutant de l'eau pour l'obtention d'une pâte, former des petits boudins et les faire sécher à l'air libre (**Fig.20/ Annexe V**), l'ajout de quelques milligrammes de l'acide ascorbique (Vit C) est recommandé pour une bonne absorption du fer.
- Traiter le lot des rats ayant de l'anémie par le mélange réalisé pendant dix jours, le lot témoin négatif est alimenté par l'aliment disponible au niveau de l'animalerie (non enrichi en spiruline).
- Effectuer un dernier prélèvement sanguin le 10ème jour (j_{10}) pour confirmer ou affirmer l'efficacité d' *Arthrospira platensis* dans le traitement de l'anémie.

III.1. Identification de la souche de spiruline utilisée

L'identification de l'espèce a été faite le **18/05/2015** au niveau du (CNRDPA) à Bousmail (Tipaza). Par observation sous microscope optique de la souche de spiruline à différents grossissements (**Fig. 25, 26, 27, 28**).

1- Grossissement 40

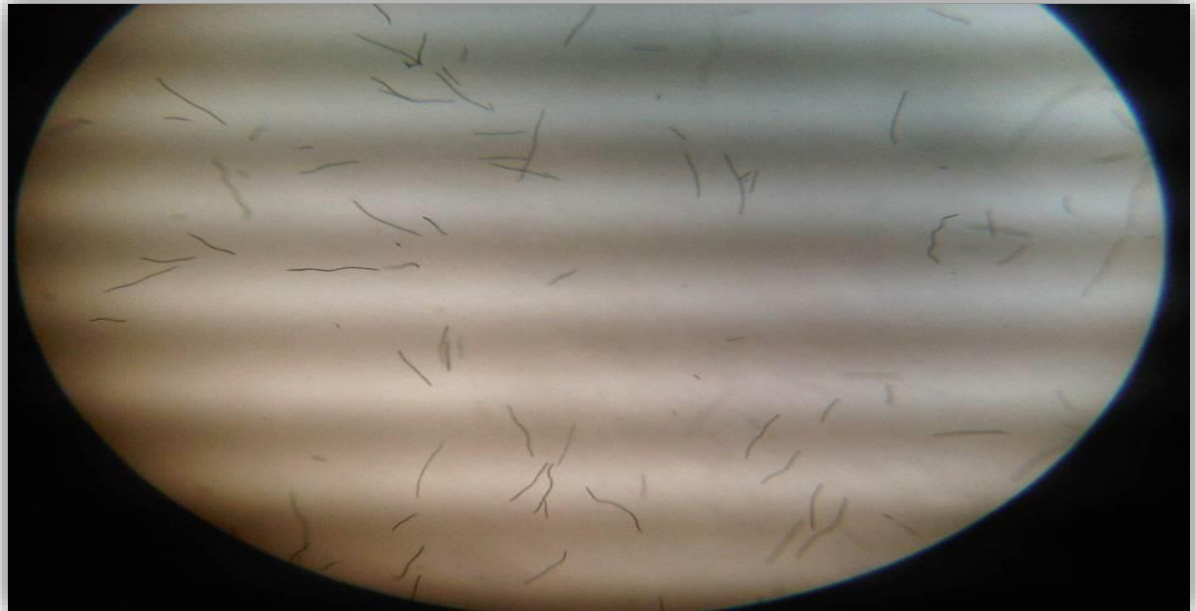


Fig (25) : Observation de spiruline sous microscope G 4×10 (**Photo originale 2015**).

2- Grossissement 100



Fig (26) : Observation sous microscope de la spiruline G 10×10 (**Photo originale 2015**).

3- Grossissement 400



Fig (27) : *Arthrospira platensis* sous microscope optique G 10× 40 (Photo originale 2015).

4- Grossissement 1000

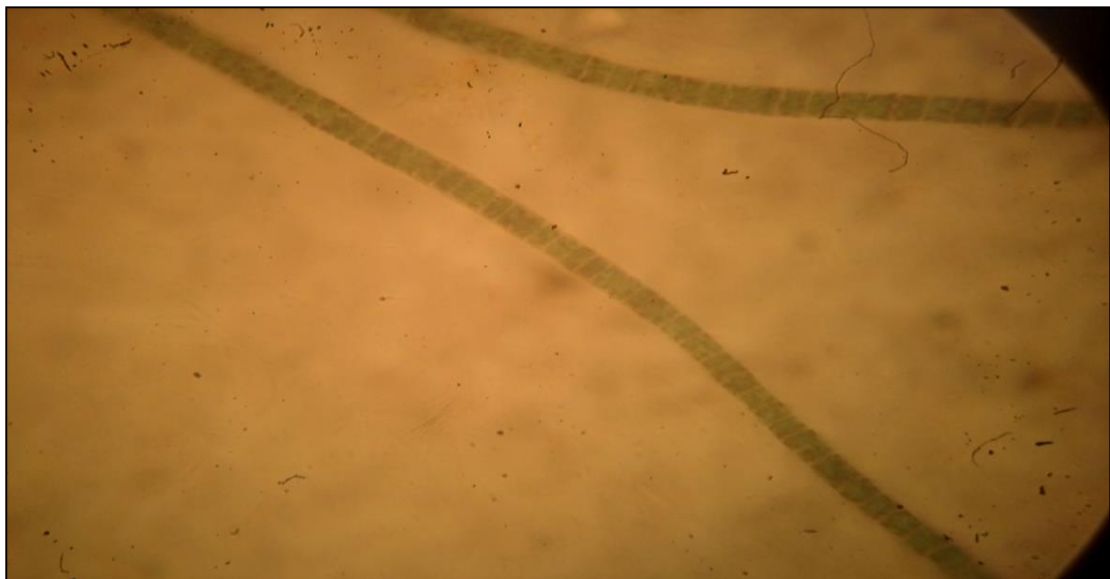


Fig (28) : *Arthrospira platensis* sous microscope 10 × 100 (Photo originale 2015).

❖ La souche identifiée appartient au genre d'*Arthrospira* de type droit (M2). Les filaments obtenus lors de l'identification ressemblent à ceux enregistrés dans les clichés au CNRDPA et aussi a ceux trouvées par :

- 1- Mr Ali Saggai (LABO ECOSYSTEMES UKM OUARGLA) 12/12/2007 et 06/01/2008 (Fig.29/ Annexe I).
- 2- Antenna technologie, 2005 (Fig.30/Annexe I).
- 3- Melle Afafe Djaghoubi (université kasdi Merbah à Ouargla) (Fig.31/ Annexe I).

III.2. Culture artisanale de *Arthrospira platensis* (Léonard 1964),

Une fois que la culture est devenu concentrée on peut réaliser une multiplication de la culture par repiquage dans un milieu de culture (Hiri) neuf (3v de milieu / 1v de culture) jusqu'à qu'a avoir une quantité suffisante de culture (**Figure 32**).



Fig (32): Dédoublage de la culture (8 litres de culture) (**Photo originale 2015**).

Lorsque la culture devient très concentrée, Secchi (**Fig.i / Annexe I**) inférieure ou égale à 3cm (**Fig 34 a**), on peut récolter pour obtenir de la spiruline fraîche (**Fig 34 b, c**).



(a)



(b)

(c)

(a) : Mesure de la densité de la culture par le disque de Secchi.

(b) : Filtration de la culture d'*Arthrospira platensis* (Léonard 1964).

(c) : Biomasse fraîche d'*Arthrospira platensis* (Léonard 1964).

Fig (34) : Filtration de la spiruline (Originale 2015).

Après cette opération, le séchage est réalisé à l'air libre pendant 24h, puis on doit transformer l'algue en poudre fine (**Figure 25**).



(a)

(b)

(c)

(a) : Biomasse fraîche.

(b) : Biomasse sèche transformée en poudre.

(c) : Spiruline sèche.

Fig (35) : Opération de séchage de la biomasse et transformation en poudre (originale 2015).

La spiruline bien séchée, présente un aspect craquant, se détache toute seule du support de séchage et se laisse facilement piler ou broyer.

III.3. Screening phytochimique des extraits aqueux et glycérolé

Une investigation phytochimique préliminaire a été entreprise et a permis de mettre en évidence divers métabolites **Tableau XIII**.

Tableau XIII : Résultats du criblage phytochimique.

Composés		Extraits		Indicateur (coloration)
		Extrait aqueux	Extrait glycériné	
Polyphénols	Tanins	+	+	Bleu noir
	Coumarines	+	+	jaune
	Anthocyanes	-	-	-
	Anthraquinones	-	-	-
	Saponosides	+	+	Précipité blanc
	Flavonoïdes	+	+	orange
terpènes	Stérols	+	+	Anneau pourpre
	Alcaloïdes	+	+	Précipité blanc jaunâtre
Métabolites primaires	Glucosides	-	-	-
	Sucre réducteur	-	-	-
	Protéines	+	+	violet

Test faiblement positif : +

test négatif : -

Le test phytochimique a révélé la présence des flavonoïdes, des tanins, des coumarines des saponosides, des stérols, des alcaloïdes et des protéines.

L'absence totale des glucosides du sucre réducteur, des anthraquinones et des anthocyanes.

Il est à signaler que les saponosides et les protéines sont présents en forte quantité dans la spiruline.

Anbarasan et al., (2011) ont rapporté la présence des mêmes classes de familles chimiques retrouvées au niveau d'*Arthrospira platensis* (Léonard 1964)..

Selon l'étude qualitative, la présence des principaux métabolites secondaires chez la spiruline suggère d'une activité photosynthétique et énergétique, comparable à celle des plantes.

III.4. Résultats de la caractérisation par HPLC

Les résultats de l'analyse par HPLC des extraits aqueux et glycériné de la spiruline sont consignés dans (**Tableau XIV ; Fig.36, 37 / Annexe II**).

Des témoins standards enregistrés et archivés dans la cellule d'HPLC de SAIDAL ont été utilisés dans l'analyse HPLC. Leurs temps de rétentions (Tr) sont présentés dans le (**Tableau XV / annexe II**).

Tableau XIV : Résultats de l'étude chromatographique par HPLC

composé	Temps de rétention E. aqueux (min)	Temps de rétention E. glycérimé (min)
α-tocophérol	4.45	4.85
β-tocophérol	-	11.99
β-carotène	30.65	34.41
Chlorophylle b	19.65	-
Chlorophylle a	20.90	-

L'étude chromatographique par HPLC a révélée la présence de différents composés citant : les deux familles des tocophérols β et α (11.99 min, 4.45 min) respectivement, béta-carotène ou pro vitamine A (30.65min pour l'extrait aqueux et 34.41min pour l'extrait glycérimé), ainsi que des pigments de chlorophylle a et b (19.65min, 20.90min) respectivement, pour l'extrait aqueux.

D'après les graphes obtenus (**Fig 36,37 Annexe II**), nous avons constaté que la spiruline est riche en vitamine E. **Sautier et al.**, ont démontré que la vitamine E de la spiruline est retrouvée à des taux comparables aux germes de blé.

Les résultats que nous avons obtenus sont identiques à ceux trouvés par **Schuep et Rettenmaier (1975)**, avec un échantillon purifié, dans notre cas, nous n'avons pas pu réaliser la purification par manque de réactif au niveau du laboratoire de la cellule HPLC du département de control et inspection de l'unité ANTIBIOTICAL SAIDAL de Médea.

III.5. Résultat du test de toxicité effectué sur des larves d'artémia

III.5.1.Préparation d'Artemia

III.5.1.1.Eclosion des Nauplies

Artémia est un petit crustacé aquatique de forme allongée et dépourvu de carapace, sa coloration va du blanc laiteux jusqu'au rouge brique.

Après avoir mis les cystes d'*Artemia* en éclosion, nous avons eu des nauplius éclos qui ont été maintenus en vie. Nous avons suivi les étapes d'éclosion figurés dans (**Fig. 45**).



A : stade d'éclatement (cyste hydraté).

B : stade d'éclosion.

C : embryon attaché a son œuf.

D : nauplius éclos.

E : Adulte mal d'*Artemia*

Fig (45) : Etapes d'éclosion d'*Artémia salina* (**Photo originale 2015**).

Le temps d'incubation des cystes est de 24h à 72h, ils n'éclosent pas tous en même temps et l'embryon reste attaché a son œuf pendant 5 à 6h (**Fig. 45/C**) puis la larve se libère (**Fig. 45/D**).

La larve d'artémia atteint sa maturité en 10 jours si les conditions sont en optimum. L'adulte (**Fig. 45/ E**) mesure en moyenne 8 à 10 mm, mais peut atteindre 15 mm en fonction de son environnement.

La femelle adulte a un sac ovigère en forme de cœur à l'arrière de ces derniers appendices. Elle dispose deux méthodes de reproduction, sexuée par accouplement ou asexuée par parthénogénèse, seule la femelle assure la reproduction (diploïdie).

III.5.1.2. Lecture des résultats

Après 6h à 24 heures, le nombre de larves survivantes est compté dans chaque tube et la mortalité calculée pour chaque extrait, les résultats sont mentionnés dans le **tableau XXI** :

Tableau XXI : Résultats du test de toxicité effectué sur des larves d'*Artemia salina*

Extrait	Nombre de larves mortes		% de larves mortes	% de mortalité
	Après 6h	Après 24h		
S. en culture	0	0	0%	0
Extrait aqueux	0	04	20%	0.05
E. glycérimé	0	0	0%	0
Témoin négatif	0	03	15%	/

D'après les résultats obtenus et représentés dans le **tableau XXI**, on a trouvé que la mise en contact des larves d'*Artemia salina* avec l'*Arthrospira platensis* (Léonard 1964). en culture et l'extrait glycérimé ne présentait aucune mortalité au bout de 24h.

Cependant, on a remarqué la mort de 3 larves dans le milieu témoin et 4 larves dans le milieu dont on a rajouté l'extrait aqueux, après 24h d'incubation. Ce qui indique que le nombre de larves mortes par l'extrait aqueux est très faible (% de mort =0.05) et est très proche de celui du témoin.

Cela confirme la non toxicité d'*Arthrospira platensis* (Léonard 1964)., citée auparavant (dans la partie recherche bibliographique), car d'après la littérature les cyanotoxines ne seraient pas présentes dans la Spiruline. Il existe aujourd'hui une méthode « Multiplex PCR » (**Saker et al., 2007**) de détection des gènes impliqués dans la synthèse des microcystines, qui sont des cyanotoxines présentes dans les cyanobactéries.

De même, d'*Arthrospira platensis* (Léonard 1964). destinée à l'alimentation humaine est autorisée à la vente depuis de nombreuses années dans les pays industrialisés. Elle est classée GRAS (Generally Recognized As Safe) par « Food and Drug Administration » aux Etats-Unis (**Falquet et al., 2006**).

Notons aussi que des essais menés sur des rats nourris avec de la spiruline naturelle comme seule source de protéines, n'ont montré aucun effet toxique (**Boudène, 1975**).

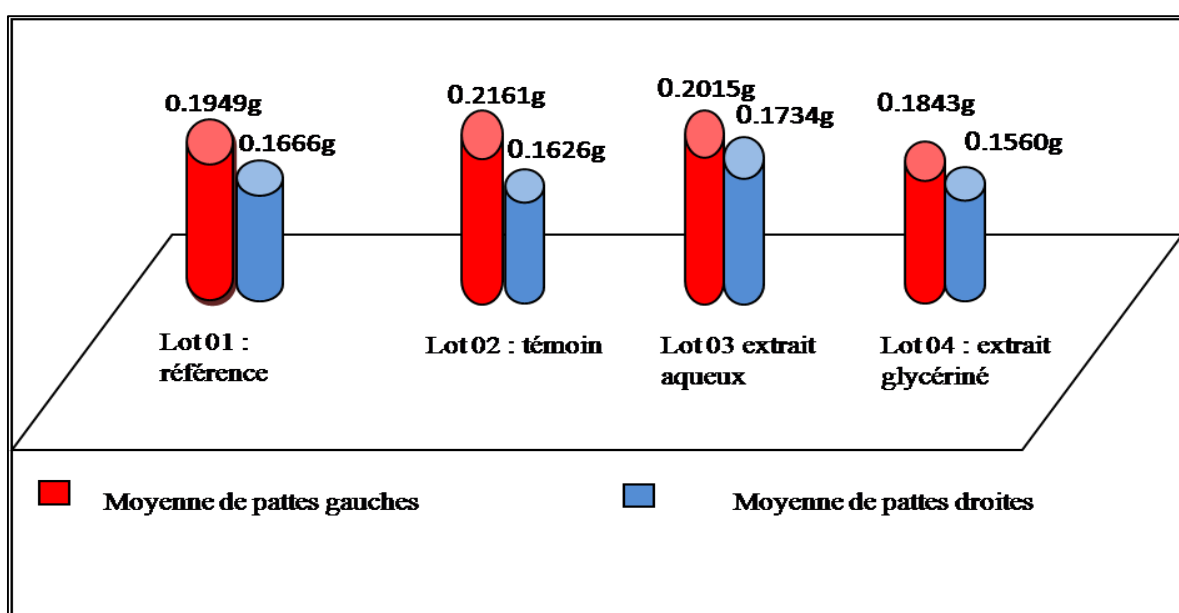
Ainsi, dans un récent ouvrage, **Chamorro et al., (2007)** rapportent que les évaluations de toxicité sur des animaux nourris à court et long terme avec de fortes doses de Spiruline n'ont pas révélé de toxicité. Ils considèrent qu'il faut cependant être prudent avant d'extrapoler le modèle animal à l'homme.

III.6. Activités biologiques

III.6.1. Activité anti inflammatoire

Les résultats d'évaluation du poids moyens des pattes postérieures des souris, ainsi que les pourcentages d'augmentation et de réduction de l'œdème, sont représentés dans (**Figures 38, 39, 40**) et (**Tableau XVI/ Annexe III**).

Variation du poids des pattes postérieures gauches et droites pour chaque lot



Fig(38): Variation du poids des pattes postérieures gauche et droite pour chaque lot.

Nous avons observé une augmentation de la moyenne des poids des pattes postérieures gauches des quatre lots (lot témoin, lot de référence et les deux lots d'essai) par rapport à celles des pattes postérieures droites (**Fig 29**), Cette différence s'explique par la présence d'un œdème au niveau des pattes postérieures gauches, ce qui confirme l'effet pro-inflammation de la Carraghénine.

Variation du pourcentage d'œdème des pattes gauches et droite

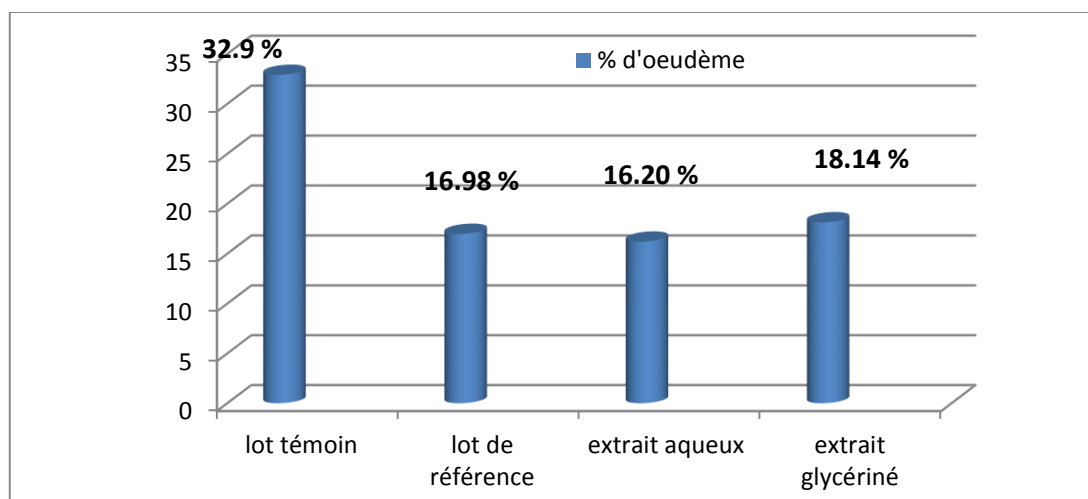


Fig (39) : Variation de pourcentage d'œdème des pattes gauches et droites.

Après ½ heure, les souris des quatre lots reçoivent une injection de la Carraghénine dans la patte gauche. Une réaction immédiate et persistante a été constatée. Elle consiste en l'apparition d'un œdème d'intensité variable pour les 4 lots (**Fig. 40**). Le lot témoin traité avec l'eau physiologique, le lot de référence traité par le Diclofénac, le lot traité par l'extrait aqueux à raison de 200mg/Kg et le lot traité par le Diclofénac, dont les pourcentages d'œdème sont respectivement : 32.9%, 16.98%, 16.20% et 18.14%.

Variation du pourcentage de réduction d'œdème des pattes gauches et droites

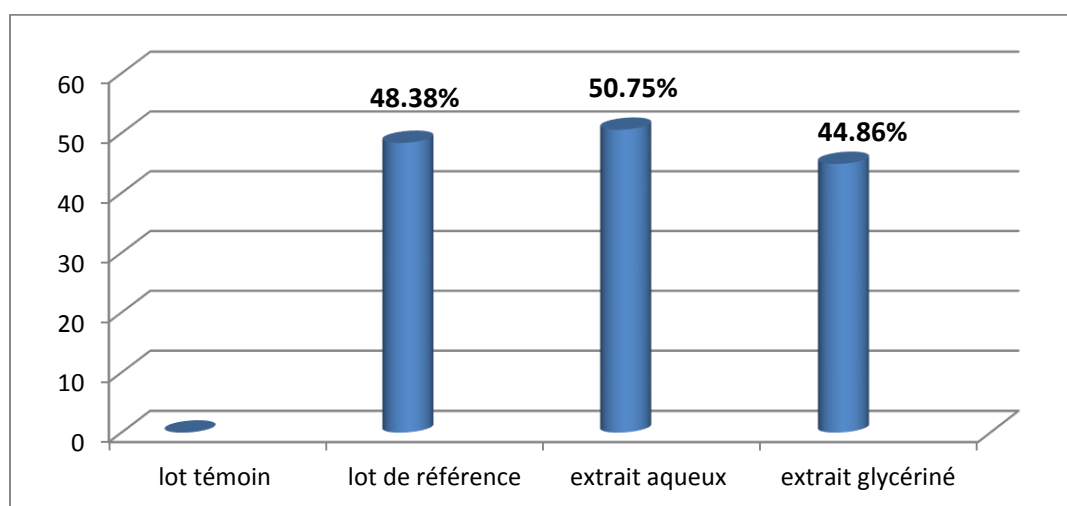


Fig (40): Variation de pourcentage de réduction d'œdème des pattes gauches et droites.

Après 4 heures de l'administration par gavage de l'extrait aqueux à raison de 200mg/Kg, de l'extrait glycérimé à 8% et du Diclofénac, une diminution progressive d'œdème des pattes postérieures gauches des souris était avec 50.75%, 44.86% et 48.38%,

respectivement. Les résultats obtenus ont révélé qu'une dose de 200 mg/kg a induit une réduction d'œdème aussi importante que celle du Diclofénac®.

Le pouvoir anti inflammatoire de *Arthrospira platensis* (Léonard 1964), est en rapport probablement avec sa richesse en métabolites secondaires tels que les flavonoïdes. En effet, le screening phytochimique a révélé que la spiruline contient ces flavonoïdes.

En Chine, en Algérie et dans plusieurs pays Européens, les flavonoïdes sont extraits des végétaux et employés en usage externe dans les traitements des rhumatismes, de la goutte, des aphtes, des mycoses et contre les piqûres d'insectes et de scorpions (**Baba Aissa, 1991**).

Il existe plusieurs études qui ont mis en évidence le potentiel anti-inflammatoire de la spiruline entre autre :

Romay et al., (1998) ont testé l'activité anti-inflammatoire de *Arthrospira platensis* (Léonard 1964), sur divers modèles animaux expérimentaux. Des réactions inflammatoires ont été provoquées chez le rat ou la souris avant ou après l'ingestion de *Arthrospira platensis* (Léonard 1964), administrée oralement à hauteur de 50, 100 et 200 mg/kg avant l'injection d'un anti-inflammatoire, a réduit significativement l'œdème de l'oreille de souris avec respectivement 47,61, 60,31 et 66,60 % d'inhibition.

Reddy et al., (2000) ont comparé l'action anti-inflammatoire de la phycocyanine à celle d'inhibiteurs non spécifique comme l'indométacine (Indocid®) et d'inhibiteurs spécifiques connus de la Cox-2 comme le rofécoxibe (Vioxx®) et le célécoxibe (Célébrex®) la phycocyanine s'est montrée plus efficace avec une IC50 de 0,18 µM contre seulement 0,26 µM pour le célécoxibe et 0,4 µM pour le rofécoxibe.

Des travaux scientifiques montrent que la phycocyanine (pigment bleu de la spiruline) exerce son action anti-inflammatoire au niveau des médiateurs de l'inflammation en bloquant les enzymes, en particulier la cyclo-oxygénase (COX), intervenant dans la synthèse de certains dérivés des médiateurs de l'inflammation (exp: l'acide arachidonique). La phycocyanine joue son rôle d'anti-inflammatoire naturel, se révélant même deux fois plus efficace que certains anti-COX-2, des anti- inflammatoires de synthèse (**Didier, 2010**).

III.6.2. Activité antimicrobienne

L'évaluation in vitro de l'activité antibactérienne des extraits a été réalisée par la technique de diffusion en milieu gélosé.

Le tableau XVII et (Fig. 41/Annexe IV) montrent les résultats obtenus relatifs aux diamètres des zones d'inhibition révélés par l'extrait glycéринé et aqueux d'*Arthrospira platensis*.

Tableau (XVII) : Résultat de l'activité antimicrobienne des extraits de spiruline.

Souches testées	Ø de la zone d'inhibition en mm	
	E. glycéринé	E. aqueux
<i>Escherichia coli</i>	23	25
<i>Bacillus subtilis</i>	32	29
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	18
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-
<i>Candida albicans</i>	11	-
<i>Aspergillus brasiliensis</i>	-	-

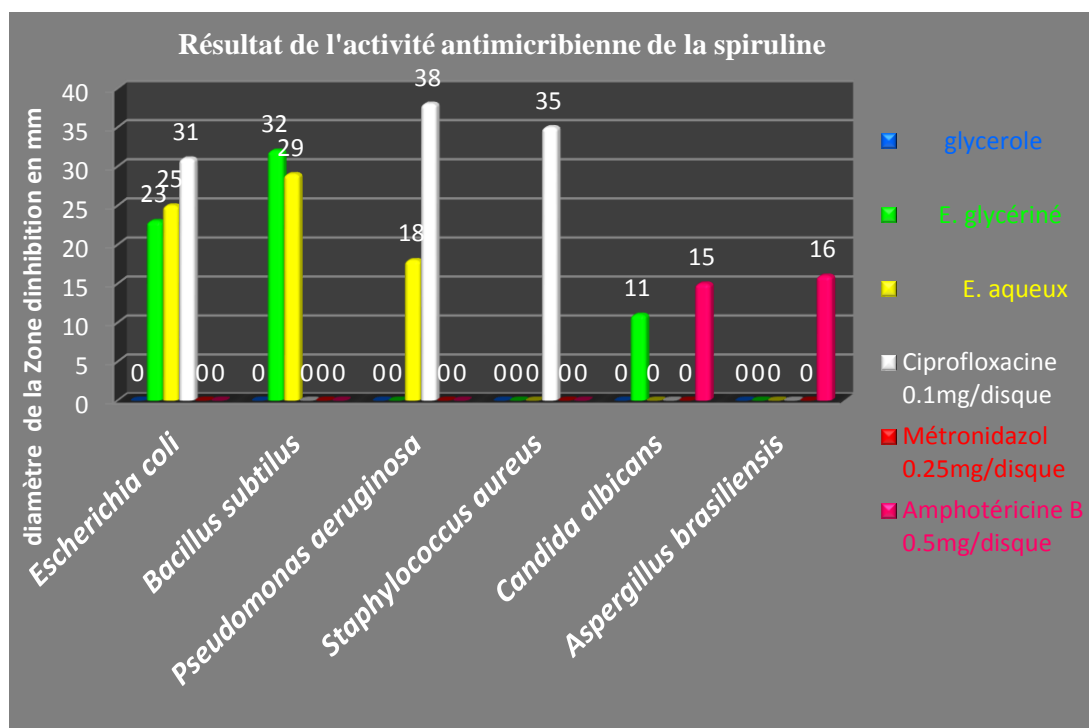


Fig (42): Résultat de l'activité antimicrobienne des extraits de spiruline.

Sachant que les résultats de l'effet antimicrobien du témoin de glycérol testé étaient totalement négatifs (**Fig. 43 / Annexe IV**).

D'après **Tableau XVII** et (**Fig. 42**) on constate que l'extrait glycéринé de la spiruline est fortement inhibiteur sur *Bacillus subtilis* et *E.coli* avec (ZI= 32mm, ZI = 23mm) respectivement et légèrement inhibiteur sur *Candida albicans* avec une zone d'inhibition (ZI = 11mm).

Par contre nous avons remarqué que les deux souches *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*., ainsi que le champignon *Aspergillus brasiliensis* se révèlent résistantes vis-à-vis l'extrait glycéринé de la spiruline.

Nous avons remarqué aussi que l'extrait aqueux d'*Arthrospira platensis* (Léonard 1964). est fortement inhibiteur sur *Bacillus subtilis* (ZI=29mm), *E. coli* avec une (ZI= 25mm), modérément inhibiteur sur *Pseudomonas aeruginosa* avec une (ZI= 18mm) (**Fig 14-A.B.C**) et non inhibiteur sur *Staphylococcus aureus* (**Fig 14-a.b**). Alors que le test n'a pas révélé une activité antifongique contre *Candida albicans* et *Aspergillus brasiliensis* (**Figure 14-c.d**).

On remarque que les souches bactériennes étudiées en l'occurrence *S. aureus*, *P. aeruginosa* et *E. coli* se montrent sensible vis-à-vis l'antibiotique ciprofloxacine, les deux levures *C. albicans* et *A. brasiliensis* se révèlent sensibles à l'Amphotéricine B.

La bactérie gram positif *B. subtilis* s'est révélée résistante aux antibiotiques témoins.

NB : les boîtes de contrôle des même suspensions ont permis de constater un développement normal des souches sur la gélose même en répétant le test 2 fois).

L'*Arthrospira platensis* (Léonard 1964). possède des mécanismes de défense pour lutter contre les bactéries pathogènes. L'étude de l'effet de différents extraits de spiruline sur diverses bactéries ne permettent pas de définir une substance antibactérienne particulière mais un spectre d'action antibactérien qui serait un support pour démontrer le potentiel antimicrobien de la cyanobactérie.

Les résultats de cette étude suggèrent que les extraits aqueux et glycéринé peuvent être impliqués dans les traitements des infections d'origine bactérienne suite aux larges spectres d'inhibition contre *E. coli*, *B. sbtilus*, *P. aeruginosa*.

En effet, le test phytochimique des extraits d'*Arthrospira platensis* (Léonard 1964). a révélé la présence de stérols qui serait liée à l'activité antimicrobienne d'*Arthrospira platensis* (Léonard 1964)..

Les flavonoïdes sont également responsables de l'inhibition des microbes résistants aux antibiotiques. Ils sont responsables des processus de balayage ou chélateurs et peuvent également perturber les membranes microbiennes. Par ailleurs, les alcaloïdes renferment un effet détoxifiant et possèdent une très bonne activité antifongique (**Zee-Cheng et al., 1997**).

Il est important de noter, à ce niveau, l'action sélective de ces métabolites en fonction de la nature membranaire de la bactérie cible. En effet, sur les six souches étudiées l'activité antimicrobienne observée sur les bactéries Gram positif *Bacillus subtilis* est importante, nulle chez *Staphylococcus aureus*, modérée chez les bactéries Gram négatif *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* alors qu'elle est faible chez les champignons.

Nos résultats sont proches de ceux trouvés par **Benhamed et al., (2012)**, qui ont rapportés la sensibilité des trois souches (*Pseudomonas aeruginosa*, *Aspergillus niger* et *Staphylococcus aureus*) vis-à-vis l'extrait de phycocyanine (C-PC) issue d'*Arthrospira platensis* (Léonard 1964), les diamètres moyens d'inhibition étaient 14, 10 et 10,66 mm respectivement pour la spiruline Bur-kinabé.

Selon (Benhamed et al., 2014) l'extrait d'*Arthrospira platensis* (Léonard 1964) présente une activité antibactérienne avec de larges zones d'inhibition (21, 12) contre (*P.aeruginosa* et *S.aureus*), respectivement.

De même les résultats trouvés par (**Boutalbi, 2014**) ont montré que l'extrait aqueux a présenté une bonne activité vis-à-vis *Pseudomonas aeruginosa* et *E.coli*, avec des zones d'inhibition allant de 15mm à 21mm en maximum et que les autres extraits n'ont manifestés aucune zone d'inhibition contre ses souches.

Il existe plusieurs travaux sur l'effet antimicrobien de la spiruline :

Un article égyptien récent (**2012**) montre que l'*Arthrospira platensis* (Léonard 1964) surpasse d'autres microalgues présentes dans le Nil en matière de qualités phytochimiques (phycocyanine) et antibactériennes. Cet article indique que *Arthrospira platensis* (Léonard 1964) du Nil est riche en quercétine, une molécule antibactérienne qui aurait de nombreuses autres propriétés biologiques en cours d'étude (**Abdo et al., 2012**).

Selon (Benhamed Djilali et al., 2012), l'activité antibactérienne des extraits d'*Arthrospira platensis* (Léonard 1964) vis-à-vis des agents pathogènes est liée à la composition des acides gras essentiels (C14 : O (46,02%), C18 : 2 (13,11) C18 : 3 (9,53%), C18 : 2 (13,11 %) et à d'autres composés volatils tels que les polyphénols (5,1325%EAG).

Selon Paoletti, (1981) ; Martinez-Nadal, (1971) ; Santillan, (1982) ; Clément, (1975) les stérols identifiés dans les extraits d'*Arthrospira platensis* (Léonard 1964) sont surtout le

clionastérol, l'avenasterol et, en plus faible quantité, le cholestérol On trouverait aussi du betasitosterol. Certains de ces stérols pourraient être en rapport avec l'activité antimicrobienne d'*Arthrospira platensis* (Léonard 1964). (Falquet et al., 2006).

Il ressort de notre travail que la spiruline est un produit intéressant qui possède des propriétés thérapeutiques. En effet, l'*Arthrospira platensis* (Léonard 1964). est une substance naturelle qui ne nécessite aucune opération chimique sauf celles nécessaires pour l'extraction de la phycocyanine.

Toutefois, il faut rappeler que les métabolites identifiés sont efficaces dans des traitements locaux d'infections épidermiques (œdèmes et eczéma), dans les utilisations traditionnelles par les peuplades du Ghanem au lac Tchad donc elle peut être impliquée dans la composition des produits d'hygiène (shampooing, savon, dentifrice), de soins (crèmes, baumes, lotions pour la peau) ou des préparations magistrales sous forme de pommade qui peuvent être utilisées contre les infections dermiques. De plus, on peut utiliser l'effet antibactérien d'*Arthrospira platensis* (Léonard 1964). pour la préparation de solution antiseptique.

III.6.3. activité antianémique

Les analyses des échantillons sanguins ont été effectuées au niveau de l'hôpital par l'automate (MEDONIC CA 260) (Fig. 44/ Annexe II) :

Nous avons réalisé un premier prélèvement sanguin pour mettre en évidence les paramètres hématologiques des rats des deux lots (lot témoin et lot d'essai). L'analyse a montrée que les rats ont un hématogramme normal (Tableau XVIII).

Tableau(XVIII) : Résultats du FNS des échantillons sanguins des rats testés avant induction de l'anémie (le 28/06/2015):

	Hématocrite (moyenne)%	Hémoglobine (moyenne)	Globules rouges (moyenne)
Rats du Lot témoin	44.78 %	15.6 g/dl	8.78×10^6 /mm ³
Rats du lot d'essai	43.88 %	14.98 g/dl	8.80×10^6 /mm ³
totale	44.33 %	15.29 g/dl	8.79×10^6 /mm ³

L'administration de la phénylhydrazine chlorhydrate a raison de 40 mg/kg/j, pendant 2 jours (le 1^{er} et le 02 juillet 2015) a provoqué une diminution significative du taux d'hémoglobine, des globules rouges ainsi que l'hématocrite chez les rats des deux lots, les résultats sont représentés dans le **Tableau XIX** en dessous :

Tableau(XIX) : Résultats du FNS des échantillons sanguines des rats testés après induction de l'anémie (le 04/07/2015) :

	Hématocrite	Hémoglobine	Globules rouges
Echantillon témoin	37.05%	10.65 g/dl	4.86×10^6 /mm ³
Echantillon d'essai	36.03%	10.12 g/dl	4.52×10^6 /mm ³
totale	36.54%	10.38 g/dl	4.69×10^6 /mm ³

L'injection de la phénylhydrazine chlorhydrate a provoqué une anémie hémolytique caractérisée par la diminution des paramètres hématologiques (une baisse moyenne significative du taux d'hémoglobine, du nombre des globules rouges et de l'hématocrite).

Une perte de poids était remarquable aussi après trois jours de l'injection.

Nos résultats sont proches de ceux de **Ryu et Yook (2002)** qui ont observé quant à eux une diminution du nombre de globules et de l'hématocrite (respectivement de 50 % et de 55 %) avec une administration de phénylhydrazine chlorhydrate de 40 mg/kg/j pendant 2 jours chez les rats Sprague Drawley.

Après le traitement qui a duré dix jours, une récupération progressive est obtenue, les rats ayant reçu la nourriture fourni dans l'animalerie et qui est à base de maïs enrichi de 16% d'*Arthrospira platensis* (Léonard 1964). (boudins) et de quelques grammes d'acide ascorbique ont presque totalement récupéré et les paramètres hématologiques ont augmenté de façon significative.

Ce n'est pas le cas chez les rats témoins qui n'ont reçu que de l'alimentation fourni par le complexe. Les résultats sont représentés dans le **tableau XX** :

Tableau(XX) : Résultats du FNS des échantillons sanguines des rats testés après traitement par l'alimentation enrichi en spiruline (le 15/07/2015) :

	Hématocrite	Hémoglobine	Globules rouges
Echantillons témoins	38.78%	11.76 g/dl	6.16×10^6 / mm ³
Echantillons d'essai	46.92%	15.04 g/dl	9.61×10^6 / mm ³
totale	42.85%	13.4 g/dl	7.88×10^6 / mm ³

L'*Arthrospira platensis* (Léonard 1964). est une source en fer non négligeable couvrant la quasi totalité des besoins, présent en quantité élevée d'environ 1g/kg de spiruline, d'autant plus que le fer contenu est hautement assimilable (**Sall et al., 1999**), et est trois fois plus assimilable que celui contenu dans les légumes et la viande (**Pierlovisi, 2008**).

La biodisponibilité du fer d'*Arthrospira platensis* (Léonard 1964). a été démontrée par une étude menée par Johnson sur des rats carencés, les rats ayant consommé de la spiruline avaient absorbé 60 % de fer de plus que le groupe qui recevait une supplémentation en fer (Sall et al., 1999). Cette biodisponibilité a aussi été démontrée chez l'homme (Puyfoulhoux et al., 2001).

Cette dernière étude démontre que le fer de la spiruline est mieux absorbé que celui de la viande, ce qui est exceptionnel pour un fer non-héminique.

Selon les mêmes travaux, le taux de formation de ferritine après digestion de spiruline serait plus de six fois plus élevé que dans le cas d'une même quantité de fer apporté par digestion de la viande.

Un essai portant sur 26 patients ayant une hémoglobinémie comprise entre 120 et 146 g/l a comparé l'apport du fer sous forme d'*Arthrospira platensis* (Léonard 1964). ou de sulfate de fer : après quatre semaines de supplémentation par l'équivalent de 10.3 mg de fer par jour, l'hémoglobine du groupe spiruline avait augmenté en moyenne de 5 g/l alors qu'elle n'avait progressé que de 1 g/l chez les patients sous sulfate de fer (Ribadeneira et al., 2006). Ces résultats pourraient en partie s'expliquer par un effet de la spiruline et pour laquelle certains auteurs invoquent une stimulation de l'érythropoïèse (Zhang, 1994).

L'*Arthrospira platensis* (Léonard 1964). est donc potentiellement une bonne source alimentaire en fer pour lutter contre les anémies ferriprives. De plus, les aliments présentant cet avantage sont rares, ainsi pour comparaison, les céréales complètes n'en contiennent que 150 à 250 mg/kg (Falquet et al., 2008).

De même, L'analyse phytochimique a révélé la présence de grands groupes chimiques qui sont: les alcaloïdes, tanins, flavonoïdes, coumarines. Ils ont un pouvoir antioxydant, favorisent la régénération des tissus, diminuent la fragilité des capillaires sanguins et renforcent leur résistance à l'hémolyse (Bruneton, 1999).

N'oublions pas aussi la richesse de la spiruline en éléments minéraux, vitamines et aussi protéines et acides gras qui accentuent l'efficacité de ce microorganisme, en faite c'est une mine de nutriments.

Nos résultats confirment et valident l'indication thérapeutique de la spiruline et son pouvoir antianémique. Cette microalgue pourrait donc être conseillée pour lutter contre l'anémie.

Conclusion

La présente étude a porté sur une microalgue, *Arthrospira platensis* (Léonard 1964), aux multiples facettes qui rend à l'heure actuelle des services à l'homme sur le plan nutritionnel et offre de nombreuses perspectives d'avenir dans le domaine thérapeutique.

La culture artisanale d'*Arthrospira platensis* (Léonard 1964). nous a permis de produire de la spiruline en poudre pour son utilisation directe dans l'étude et même de maîtriser ce type d'aquaculture.

Le screening phytochimique basé sur des tests spécifiques colorimétriques a permis d'identifier les flavonoïdes, les tanins, les coumarines, les protéines, les saponosides et les alcaloïdes. Ces métabolites ont de grandes valeurs thérapeutiques.

La caractérisation de quelques composés de cette cyanobactérie par un système d'HPLC a permis d'identifier des vitamines indispensables et importantes telles que la b-carotène ou la pro-vitamine A, tocophérol ainsi que la chlorophylle a et b.

Par ailleurs, les résultats des tests pharmacologiques de l'extrait aqueux et glycéринé de la spiruline ont mis en évidence :

- Une activité antimicrobienne contre le développement des souches bactériennes *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa* et *E.coli* et un effet antilevurien contre *Candida albicans*, même s'il est faible.
- Un pouvoir anti-inflammatoire très proche de celui de Diclofénac pour la dose 200 mg/kg, avec une réduction de l'œdème de 50,75% de l'extrait aqueux et une réduction de 44,86 pour l'extrait glycéринé dilué à 10%.
- Une activité antianémique a été prouvée pour une dose journalière d'*Arthrospira platensis* (Léonard 1964). (16 % de la nourriture des cobayes) pendant 9 jours.

Le test de toxicité effectué sur des larves d'*Artémia salina* a prouvé encore une fois la non-toxicité d'*Arthrospira platensis* (Léonard 1964)., citée dans les différents articles et publications scientifiques.

Compte tenu des résultats encourageants que nous avons obtenus, il paraît d'une grande utilité de poursuivre la présente étude tout en touchant, dans le futur, à différents axes dans le but d'approfondir les connaissances scientifiques et technologiques et par conséquent contribuer à tirer plus d'informations mettant au clair le rôle alimentaire et sanitaire de la spiruline et de ses extraits.

Conclusion

Nous envisageons ainsi à entreprendre les différentes activités de recherche suivantes :

- Culture de spiruline (*d'Arthrospira platensis* (Léonard 1964)) dans des bassins à grande échelle.

- Utilisation de différentes substances bioactives de la spiruline dans les différentes productions alimentaires et pharmaceutiques. Et surtout effectuer des essais d'extraction du pigment miracle « la phycocyanine » et de mettre en évidence ces pouvoir thérapeutiques.

- Valorisation d'autres produits de rejets « biodéchets alimentaires » pour la culture *d'Arthrospira platensis* (Léonard 1964).

- La mise au point de nouveaux produits intégrant la spiruline.

Il est aujourd'hui absolument impératif que les chercheurs prennent clairement position quant à l'utilisation *d'Arthrospira platensis* (Léonard 1964) dans la lutte contre la malnutrition.

Nous comptons aussi que *d'Arthrospira platensis* (Léonard 1964) contribue à diverses applications cliniques, y compris le traitement supplémentaire pour des patients présentant le dysfonctionnement de sang, leucémie, anémie et tous types de carence.

Pour terminer, il nous semble très important d'entretenir la culture de cette micro-algue dans notre pays et de l'exploiter dans des recherches plus approfondies qui ne sont pas encore dévoilés dans le domaine de la phytothérapie et santé.

Enfin, *Arthrospira platensis* (Léonard 1964). apparaît comme l'aliment santé de demain. Au vu de tous ces éléments, l'algue bleue semble donner tout son sens au célèbre aphorisme

d'Hippocrate : **«Que ta nourriture soit ton médicament ».**

Références bibliographiques

- A -

1/Anbarasan V., Kishor Kumar V., Satheesh Kumar P., Venkatachalam T., (2011)- In Vitro evaluation of antioxidant activity of blue green algae *Spirulina platensis*. Int. J. Pharma. Sci. Res., 2(10); 2616-2618. In Boutalbi, S. criblage chimique et l'activité biologique de spiruline (*Spirulina platensis*) université d'Ouargla .2014

2/Amha B., Yoshimichi O., Kazuyuki M., et Hidenori S., (1993)- Current knowledge on potential health benefits of *Spirulina*. Journal of applied phycology V. 5 ; p. 235-241.

3/Aribi M.M., (2011). La spiruline; l'algue bleue miraculeuse, merveilleuse petite cyanobactérie, Cette micro-algue possède une telle richesse en micro-nutriments qu'elle peut améliorer la santé dans de nombreux cas. ALGERIAN SOCIETY FOR NUTRITION AND ORTHOMOLECULAR MEDICINE. P118-137. Algérie.

4/Australian government, Department of Health and Ageing Therapeutic. *Compositional guideline, Arthrospira platensis*. www.tga.gov.au/docs/html/compguid/platensis.htm, page consultee le 05 decembre 2006.

5/Avino P., Carconi P.L., Lepore L., Moauro A. 2000 Nutritional and environmental properties of algal products used in healthy diet by INAA and ICP-AES. Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry; **244 (1)**: p. 247-252.

6/Ayehunie S, Belay A, Baba TW and Ruprecht RM., 1998. Inhibition of HIV-1 replication by an aqueous extract of *Spirulina platensis*. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol*: 7-12.

- B -

7/Baba Aaissa F., (1991)- Les plantes médicinales en Algérie. Coédition Bouchène et Ad. Diwan.

8/Baba Aissa F. 2000 Encyclopédie des plantes médicinales, flore de d'Algérie et du Maghreb, substances végétales d'Afrique d'orient. Edition : Librairie Moderne Rouïba

9/Balloni W., Tomasselli S., and Giovannetti Margheri M.C. (1980)- Biologia fondamentale delgenera *Spirulina*, in Materassi R. (ed) Prospective dellacoltura di *Spirulina* in Italia. Consilio Nazionale delle Ricerche, Rome: 49-85 In Loic C, Marie José L et Romain A, « la spiruline peut-elle être un atout pour la santé et le développement en Afrique ? ». 2008, institut de recherche pour le développement. Marseille, France.

Références bibliographiques

- 10/Becker E.W., Jakover B., Luft D., Schmuelling R.M., (1986)-** Clinical and biochemical evaluations of the alga *Spirulina* with regard to its application in the treatment of obesity : a double-blind cross-over study. *Nutr. Rep. Int.* V. 33 ; p. 565-574.
- 11/Belay A, 2007.** *Spirulina (Arthrospira): production and quality assurance* in *Spirulina* In Gershuin ME et Belay A. *Human Nutrition and Health*. Taylor et francis.
- 12/Belouad A., 1998** « Les plantes médicinales d'Algérie » Office de publications universitaires.277p.
- 13/Benhamed –Djilali A. (2012).** Analyse des aptitudes technologiques de poudres de dattes (*Phoenix dactylifera. L*) améliorées par la spiruline. Etudes des propriétés rhéologiques, nutritionnelles et antibactériennes. Docteur d'état en Génie des procédés, Université M'HAMED BOUGARA, Boumerdès, Algérie.
- 14/ Benhamed Djilali A.,Slimani, D. ; Bensara A., NABIEV, M., Bouksaim M. et Benamara S. (2014).** Nouvelle méthode de production de *Spirulina platensis* en utilisant un milieu naturel a base de l'eau de la mer, cendres de bois et la saumure de fromage.
- 15/Berkan T., Ostunes I., Lermioglu F. et Ozer A., (1991)-** Anti-inflammatory, analgesic and antipyretic effects of an aqueous extract of Neute, *plantamedica* 57.34.37p.
- 16/Bernadet M 1983.** « Phyto-aromathérapie pratique, usage thérapeutique des plantes médicinales et huiles essentielles », Edition Dangles, France. 384 p.
- 17/Boudali M., Saibi M., 2012** « la phytothérapie entre la confiance et la méfiance » Mémoire de paramédical,Chlef, Algérie,p44-45.
- 18/Boudène C., Collas E. et Jenkins C. (1975)-** Recherche et dosage de divers toxiques minéraux dans les algues spirulines de différentes origines, et évaluation de la toxicité a long terme chez le rat d'un lot d'algues spirulines de rovenance mexicaine *Ann. Nutr. Aliment.* 29, 577-587.
- 19/Bougandoura N., 2010** Pouvoir antioxydant et antimicrobien des extraitsd'espèces végétales *Satureja calamintha ssp nepta* (nabta) et *Ajuga iva* (chendgoura) de l'ouest d'Algérie. Mémoire magister;université Tlemcen.
- 20/Boutalbi S., (2014)-** Criblage chimique et l'activité biologique de spiruline (*Arthrospiraplatensis*), Master II Biotechnologie végétale, université KasdiMerbah Ouargla.
- 21/Branger B, Cadudal JL, Delobel M, Ouoba H, Yameogo P, Ouedraogo D, Guerin D, Valea A, Zombre C, Ancel P.(2003)-** La spiruline comme complément alimentaire dans la malnutrition du nourrisson au Burkina-Faso *Arch Pediatr.* 10(5):424-31.

Références bibliographiques

22/Brouers M., (2004) - Traditional use of Spirulina (*Arthrospiraplatensis*) in Chad. International Symposium: CSSD "Cyanobacteria for health, Science and Development", Embiez Island France.

23/Bruneton J., (1999)- Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales. Éditions Tec & Doc, Paris, éditions médicales internationales, paris, pp: 483-560.

- C -

24/Campanella L, Crescentini G, Avino P (1999) *Chemical composition and nutritional evaluation of some natural and commercial food products based on Spirulina*. *Analisis* 27: 533-540.

25/Castenholz R W and Waterbury J B., 1989. Oxygenic photosynthetic bacteria. Section 19, In: Staley J T, Bryant M P, Pfenning N and Holt J G., Eds. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Vol. 3, Williams and Wilkins. Baltimore, USA. pp 1710-1806.

26/Chamorro-Cevalos G., Barron B.L., Vazquez-Sanchez J. (2007). Toxicologic Studies and Antitoxic Properties of Spirulina *in* In Gershwin & Belay (ed.) *Spirulina in Human Nutrition and Health* : 27-50.

27/Ciferri O. (1983) *Spirulina, the Edible Microorganism*. *Microbiological Reviews*. vol 47: 551-578.

28/Chamorro, G., Salazar, M., Favila, L., and Bourges, H. 1996. Farmacología y toxicología del alga Spirulina. *Rev Invest Clin*:389-399.

29/Charpy L, 2008. Colloque International « la Spiruline et le développement », formation et transfert de technologie, en matière de culture de Spiruline : 28 - 29 et 30 avril 2008. Toliara - SUD-OUEST MADAGASCAR : 8, 9, 89, 91, 131-134.

30/Charpy L, Langlade MJ, Alliod R (2008). *La Spiruline peut-elle être un atout pour la santé et le développement en Afrique ?* Rapport d'expertise pour le Ministère de l'Agriculture et de la Pêche. 49 p.

31/Chauhan Vikas S. (1994): "Method for efficient extraction of phycocyanin from Spirulina", *Biotechnology Techniques*, Chapman & Hall, vol. 8, no. 7, 1 juillet 1994 (1994-07-01), pages 525-528, XP002670285, ISSN: 0951-208X In Brevet WO2014045177A1 - Procédé d'extraction et de stabilisation de phycocyanine et ces applications.

32/Clement G., 1975-Production et constituants caractéristiques des algues Spirulina maxima et platensis. *Ann. Nutr. Aliment.* 29(6), pages 477-487.

Références bibliographiques

33/Cohen Z, Reungjitchachawali M, Siangdung W, Tanticharoen M (1993). *Production and partial purification of γ -linolenic acid and some pigments from Spirulina platensis.* Journal of Applied Phycology 5: 109-115.

34/Colette K.2004, les plantes médicinales, ALS.

35/Cruchot, (2008), La spiruline – Bilan et perspectives, thèse de doctorat en pharmacie, Faculté de médecine et pharmacie de Besançon, université de France-Comité, France.

- D -

36/Devi M.A., Venkatamaran L.V., (1983)-Hypocholesteremic effect of bluegreen algae Spirulina platensis in albino rats. J. Jap. Soc. Nutr. Food Sci. V. 40 ; p. 463-467.

37/Durand-Chastel H., Toulemont A., (1993)- Spiruline algue de vie, bulletin de l'institut océanographique, Monaco, Numéro spéciale 12, pp : 49-57, In colloque international sur la spiruline « développement, formation et transfert technologique, en matière de culture de la spiruline » Toliara, Sud ouest de Madagascar- avril 2008.

38/Didier L. 2010. Joyeux bleu de la spiruline : la phycocyanine article publier dans Belle-santé N°122. P83-84. Document consulté le 15/09/2015.

- F -

39/Falquet J et Hurni J.P., (2006). Spiruline, Aspects nutritionnels. Publication Antenna Technologies. Genève.

40/FAO (2003), L'algue bleue du désert Film vidéo produit par A. Proto, Division de l'Information, FAO's Inter-Departmental Working Group on Biological Diversity for Food and Agriculture

41/FOX R.D., (1994). Les bénéfices de la Spirulina sur le plan de la santé et le test nutritionnel sur les enfants mal nourris : KWASHIORKOR & MARASME. ACMA, pp.1-9.

42/Fox R.D., (1996). *Spirulina, production & potential* . Aix en Provence : Edisud. .

43/Fox R.D., 1999. *Spiruline Technique, pratique et promesse.* EDISUD, Aix-en-Provence. p 246.

- G -

44/Garreta R., 2007 « Des simples à l'essentiel : de l'herboristerie à l'aromathérapie, pratiques et représentations des plantes médicinales » Edition : Presses Univ. Du Mirial, 367P /Glossaire de base sur le droit à l'alimentation FAO 2009:

www.fao.org/righttofood/kc/glossary_fr.htm Document électronique.

45/Geitler L. (1932). Cyanophyceae. In : Rabenhorst's Kryptogamenflora von Deutschland, Osterreich und der Schweiz. Kolkwits R. (Eds.) Leipzig Germany : Akademische

Références bibliographiques

Verlagsgesellschaft.

46/Grünwald J., Janicke C., 2006.guide de la phytothérapie, la thérapeutique par les plantes/santé par les plantes un répertoire des plantes des conseils pratiques, édition Marabout, Pages 25, 29, 31,53.

47/Guan Y, Guo B., 2002. Inhibition activity of spirulina platensis proteins photo-immobilization biomaterial on proliferation of cancer cells. *Sheng Wu Yi Xue Gong Cheng Xue Za Zhi*; 19(1):1-3.

48/Guan XY, Zhang WJ, Zhang XW, Li YX, Wang JF, Lin HZ, Tang XX, Qin S., 2009. A potent anti-oxidant property: fluorescent recombinant alpha -phycocyanin of Spirulina. *J Appl Microbiol*: 1093-10.

- *H* -

49/Hamza N. (2011). Effet préventif de trois plantes médicinales utilisées dans la Wilaya de Constantine pour le traitement du diabète de type 2 expérimental induit par le régime « high fat »chez la souris C57BL/6J.Thèse Doctorat.Science alimentaire. Constantine, p16.

50/Harrigan G.G., Luesch H., Yoshida W.Y., Moore R.E., Nagle D.G., PAUL V.J., (1999) Symplostatin 2: adolastatin 13 analogue from the marine cyanobacterium *Symplocahydnoïdes*. *J. Nat. Prod.* 62: 655-658.

51/Hayakawa Y, Hayashi T, Hayashi K, Hayashi T, Ozawa T, Niiya K and Sakuragawa N., 1996. Heparin cofactor II-dependent antithrombin activity of calcium spirulan. *Blood Coagul Fibrinolysis*: 554-60.

52/Hayashi T., Hayashi K., (1996)- Calcium Spirulan, an Inhibitor of Enveloped Virus Replication, from a Blue-Green Alga *Spirulina platensis* . *Journal of Natural Products* ; 59:p. 83-87.

53/Henrikson, R., 1994. *Microalga Spirulina, superalimento del futuro, Ronore Enterprises.* 2^a ed. Ediciones Urano, Barcelona, España. pp. 222. Henrikson, R., 2010. *Spirulina: World Food, How this micro algae can transform your health and our planet*, Published by Ronore Enterprises, Hawaii, pp.195.

54/Hernández-Corona A, Nieves I, Meckes M, Chamorro G and Barron BL., 2002. Antiviral activity of *Spirulina maxima* against herpes simplex virus type 2. *Antiviral Res*: 279-85 Huang ZX, Mei XT, Xu DH, Xu SB and Lv JY., 2005. Protective effects of polysacchride

Références bibliographiques

of *Spirulina platensis* and *Sargassum thunbergii* on vascular of alloxan induced diabetic rats. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi*: 211-5.

- I -

55/Iijima N, Fujii N, Shimamatsu H ; le 18 avril 1983 Dainippon Ink and Chemicals (DIC)
«Antitumoral agents containing phycobillin. » Brevet japonais # 58-65216

56/Iserin P. (2001) - Encyclopedie des plantes medicinales. Ed : Larousse Bourdasse .Paris.

57/Iwata K., Inayama T., Kato T., (1990)- Effects of *Spirulina platensis* on plasma lipoproteinlipase activity in fructose-induced hyperlipidemic rats. *J. Nutr. Sci. Vitaminol. V.* 36; p. 165-171.

- J -

58/Jaki B., Orjala J., Sticher O., (1999)- A novel extracellular diterpenoid with antibacterial activity from the cyanobacterium *Nostoc commune*. *J. Nat. Prod.* 62: 502-503.

59/Jean-Louis Pousset. (2004). plantes médicinales d’Afrique, comment les connaître et les utiliser, édition Secum/Edisud, page07.

60/Jean –Paul .J. (2006), Manuel de culture artisanale pour la production de spiruline
Page 06.

61/Jean –Paul .J. 1999-Cultiver votre spiruline: manuel de culture artisanale. *Antenna technology.* (révision 2013), Genève.

62/Jean-Yves F., Leclerc V., (2010). Les secrets des algues, P13.France.

63/John, D.M. (1994) - Biodiversity and conservation: an algal perspective. *The Phycologist,* , 38, 5-15.

- K -

64/Kadiatou K., (2009)- Efficacité de la spiruline du poisson et des farines infantiles dans la réduction de la malnutrition et de l’anémie chez les enfants à Sabalibougou. Faculté de médecine , de pharmacie et d’odontostomatologie. P 43.

65/Kim HM, Lee EH, Cho HH and Moon YH. 1998. Inhibitory effect of mast cell-mediated immediate-type allergic reactions in rats by spirulina. *Biochem Pharmacol*: 1071-6.

- L -

Références bibliographiques

- 66/Lee JB, Srisomporn P, Hayashi K, Tanaka T, Sankawa U and Hayashi T., 2001.** Effects of structural modification of calcium spirulan, a sulfated polysaccharide from *Spirulina platensis*, on antiviral activity. *Chem Pharm Bull*: 108-10.
- 67/Lin Wang, Bishu Pan, Jianchun Sheng, Juan Xu, Quihi Hu. 2007,** antioxydant activity of *spirulina platensis* extracts by supercritical carbon dioxide extraction, science directe, food chemistry 105, 36-41.
- 68/Li Z-Y., Guo S-Y., Li L., Cai M-Y.** *Effects of electromagnetic field on the batch cultivation and nutritional composition of Spirulina platensis in an air-lift photobioreactor.* *Bioresource Technology.* 2007; 98: p. 700-705.
- 69/Lobner M, Walsted A, Larsen R, Bendtzen K and Nielsen CH., 2008.** Enhancement of human adaptive immune responses by administration of a high-molecular-weight polysaccharide extract from the cyanobacterium *Arthrospira platensis*. *J Med Food*: 313-322.
- M -
- 70/Mao TK, Van de Water J and Gershwin M.E., 2005.** Effects of a *Spirulina*-based dietary supplement on cytokine production from allergic rhinitis patients. *J Med Food*: 27-30.
- 71/Martinez-Nadal N.G. (1971)** Sterols of *Spirulina maxima* *Phytochem.*, 10, 2537.
- 72/Mathew B, Sankaranarayanan R, Nair PP, Varghese C., Somanathan T., Amma B.P., Amma N.S. and Nair M.K., 1995.** Evaluation of chemoprevention of oral cancer with *Spirulina fusiformis*. *Nutr Cancer*: 197-2.
- 73/Mc Hugh, D.J.(2003)-** A guide to the seaweed industry. *FAO Fisheries Technical Paper - T441*, *FAO Fisheries Department & FAO Regional Fisheries Officers, Rome, Italy.*, pp 118.
- 74/Mclyntre A., 2002,** le guide complet de la phytothérapie, un manuel structuré pour un savoir faire professionnel.
- 75/Mousseux M., (1995)-** test de toxicité sur larves *D'Artemia salina*, entretien d'un élevage de Balanes. *Université Française du Pacifique. Centre Universitaire de Nouvelle Calédonie.* P 4, 7, 10.
- 76/Mundt S., KreitlowS., Nowotny A., Effmert U., (2001) -** Biochemical and pharmacological investigations of selected cyanobacteria. *International Journal of Hygiene and Environmental Health* 203: 327-334.
- 77/Mutai C ; Bii. C ; Vagias C ; Abatis D et Roussis V, 2009** “Antimicrobial activity of *acacia mellifera* extracts and lupane triterpenes” *journal of Ethno pharmacology*, pp 10-1016.

Références bibliographiques

- *N* -

78/Naughton B. A, Moore E., Bush M. E., Lapin D. M. and Domfest B.S., (1995).

Hemostatic alterations associated with phenylhydrazine - induced haemolytic anaemia. *Eur J Clin Invest.* 25: 722-727

- *O* -

79/Ould Bellahcen T. Bouchabchoub A., Massoui M., El Yachioui M. (2013)- Culture et

production de spirulina platensis dans les eaux usées domestiques. *Larhyss Journal*, ISSN 1112-3680, n°14, Juin 2013, pp. 107-122 © 2013 Tous droits réservés.

- *P* -

80/Paoletti C., Vincenzini M., Bocci F. et Materassi R., (1981)- Composizione biochimica generale delle biomasse di Spirulina platensis e S. maxima In "Estratto da Atti del Convegno Prospettive della coltura di Spirulina in Italia", p. 11, Firenze: Tipographia Coppini.

81/Paredes-Carbajal MC, Torres-Durán PV, Díaz-Zagoya JC, Mascher D and Juárez-Oropeza MA., 1997. Effects of dietary Spirulina maxima on endothelium dependent vasomotor responses of rat aortic rings. *Life Sci*: 211-9.

82/Park HJ, Lee YJ, Ryu HK, Kim MH, Chung HW and Kim WY., 2008. A randomized double-blind, placebo-controlled study to establish the effects of spirulina in elderly Koreans. *Ann Nutr Metab*: 322-8.

83/Patel A, Mishra S, Ghosh PK., 2006. Antioxidant potential of C-phycoerythrin isolated from cyanobacterial species Lyngbya, Phormidium and Spirulina spp. *Indian J Biochem Biophys*: 25-31.

84/Pierlovisi C., (2007)- L'Homme et la Spiruline: Un avenir commun? Composition chimique, intérêts alimentaires et activités biologiques. Paris V- René Descartes, Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, Paris (162).

85/Pierlovisi C., (2008)- Composition chimique de la spiruline, laboratoire de pharmacie, France, colloque international « spiruline et développement » Tolliara, sud-Ouest de Madagascar.

86/Pousset.J.L, 2004 « Plantes médicinales d'Afrique » Edition Secum, Paris, p.7-8.

87/Puyfoulhoux G, Rouanet JM, Besançon P, Baroux B, Baccou JC, Caporiccio B., (2001). Iron availability from iron-fortified spirulina by an in vitro digestion/Caco-2 cell culture model *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2001; **49**: p. 1625-1629.

Références bibliographiques

- R -

88/Radmer, R.J., Parker, B.C. - Commercial application of algae: opportunities and constraints. *J. Phycol.*, 1994, 6, 93-98.

89/Rahal K., (2005). Standardisation de L'antibiogramme en Médecine Humaine à l'Echelle Nationale selon les recommandations de l'OMS, 4ème Ed, Ministère de la Santé, de la Population et de la Réforme Hospitalière.

90/Reddy C.M., Bhat V.M., Kiranmai G., Reddy M.N., Reddanna P., Madyastha K.M., (2000)- Selective Inhibition of Cyclooxygenase-2 by C-Phycocyanin, a Biliprotein from *Spirulina platensis*. *Biochemical and Biophysical Research Communication*; 277: p. 599-603.

91/Remirez D, Ledón N, González R., 2002. Role of histamine in the inhibitory effects of phycocyanin in experimental models of allergic inflammatory response. *Mediators Inflamm*: 11(2):81-5.

92/Ribadeneira M., Garcia P. (2006) Comparative analysis of the use of a 100% vegetable iron and iron sulfate as iron source for the treatment of ferriprive anemia A publier; cité dans *Phytonutrition et Environnement*, JM Robin.

93/Romay C., Ledon N., Gonzalez R., (1998)- Further studies on anti-inflammatory activity of phycocyanin in some animal models of inflammation. *Inflammation Research*. 47: p. 334-338.

94/Rodríguez-Hernández A, Blé-Castillo JL, Juárez-Oropeza MA and Díaz-Zagoya JC., 2001. *Spirulina maxima* prevents fatty liver formation in CD-1 male and female mice with experimental diabetes. *Life Sci*: 129-37.

95/Ruiz G., 2005, Extraction, Détermination Structurale et Valorisation Chimique de Phycocolloïdes d'Algues Rouges, these de doctorat N°: 58-2005, Université de Limoges, Ecole Doctorale Sciences-Technologie-Santé, Faculté des Sciences et Techniques.

96/Ryu 1. H., and Yook. C. S., (2002)- The effects of Sa-Mul-Tang (Si-Wu-tang), a traditional Chinese medicine, on phénylhydrazine-induced anaemic rats. *J. of Applied Pharmac.* 9. 1-6.

- S -

Références bibliographiques

- 97/Saker ML., Welker M., Vasconcelos VM. (2007)** Multiplex PCR for the detection of toxigenic cyanobacteria in dietary supplements produced for human consumption *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 73 :1136-1142.
- 98/Samejo M. Q, Sumbul A. , Shah S. , Memona S.B; Chundrigar S.,2013** Phytochemical screening of *Tamarix dioica* Roxb. ex Roch University of Sindh, Jamshoro 76080, Pakistan.
- 99/Samuels R, Mani UV, Iyer UM and Nayak US., 2002.** Hypocholesterolemic effect of spirulina in patients with hyperlipidemic nephrotic syndrome. *J Med Food*: 91-06.
- 100/Santillan C, (1982)** Mass Production of *Spirulina* *Experientia*, 38, 40.
- 101/Seutier C., Tremolieres J., 1975** - Valeurs alimentaires des algues spirulines chez l'Homme. *Ann.Nutr. Aliment.* 29(6), pages 517-533.
- 102/Savithramma N., Lingarao M. and Suhrulatha D. 2011.** Screening of Medicinal Plants for Secondary Metabolites University Andhra Pradesh, India.
- 103/Saxena P.N., AHMAD M.R., SHYAM R., AMLA D.V. (1981).** Biotechnology of *Spirulina* cultivation in sewage. Extension literature n°4, Economic Botany information service. India.1-6.
- 104/Saxena P.N. (1982).** Cultivation of *Spirulina* in sewage for poultry feed. *Experientia*, 39:1077-1083.
- 105/Sall M-G., Dankoko G., Badiane M., Ehua E. et Kuakuwi N. (1999).** La spiruline: une source alimentaire a promouvoir, revue Médecine d'Afrique Noire N°46 (3).
- 106/Schauenberg P. et Ferdinand P. (2006)** - Guide des plantes médicinales. Ed : Detachaux et Niestlé.
- 107/Schuep W., Rettenmaier R.1994.** Analysis of vitamin E homologs in plasma and tissue : high-performance liquid chromatography. *Methods Enzymol.*, 234, 294- 302.
- 108/Schwartz J.L., Sklar G., (1987)-** Regression of experimental hamster cancer by beta-carotene and algae extracts. *J. Oral Maxillofac. Surg.* V. 45; p. 510-515.
- 109/Scimeca D., Tetau M. ,2010** « Le guide familiale de phytothérapie, le meilleur de la nature au service de votre santé », Edition : Alpen, 287P
- 110/Seggai A, 2008.** Comptabilité des eaux des nappes de la région de Ouargla pour la culture de la Spiruline *Arthrospira platensis* (souche de Tamanrasset). Thèse de Magistère. Université d'Ouargla.
- 111/Seladji M. ; Belmekki N. ; Azmani I. ; Bouziani I. ; Bendimerad N., 2013-** Phytochemical Screening of two Algerian medicinal plants, *University of Tlemcen- Algeria*.

Références bibliographiques

112/Sguera S. 12 décembre 2008, *Spirulina platensis* et ces constituants, intérêts nutritionnels et activités thérapeutiques, Docteur en Pharmacie, UNIVERSITE Henri Poincaré - Nancy 1.France.

113/Shih CM, Cheng SN, Wong CS, Kuo YL, Chou TC., 2009. Antiinflammatory and antihyperalgesic activity of C-phycoyanin. *Anesth Analg.*

114/Simpore J, Zongo F, Kabore F, Dansou D, Bere A, Nikiema JB, Pignatelli S, Biondi DM, Ruberto G and Musumeci S. 2005. Nutrition rehabilitation of HIV-infected and HIV-negative undernourished children utilizing spirulina. *Ann Nutr Metab:* 373-80.

115/Sirnoval C. (1993). La spiruline, une arme contre la malnutrition, histoire et perspectives. Bulletin de l'institut océanographique, Monaco, 12 :203-222.

116/Strang C.,2006 « Larousse médical ».Ed Larousse. France. p 28-30.

- \mathcal{T} -

117/Takai Y., HOSOYAMADA Y., KATO T., (1991)- Effect of water-soluble and water-insoluble fractions of Spirulina over serum lipids and glucose resistance of rats. *J. Jap. Soc. Nutr. Food Sci.* V. 44; p. 273-277.

118/Tal Schaler C ., 2007 « Délivrez-vous de vos rhumatismes ;l'extraordinaire efficacité de la méthode holistique »,Edition,LANORE poche.France,p208 ;24-25.

119/Tsuchihashi N., Watanabe T., Takai Y., (1987)- Effect of Spirulina platensis on caecum content in rats. *Bull. Chiba Hygiene College, Chiba, Japa* V. 5 ; p. 27-30 .

- \mathcal{V} -

120/Vicat J-P. , Doumnang J-C. M., Yves B. (2014)- Teneurs en éléments majeurs et traces de spirulines (*Arthrospira platensis*) originaires de France, du Tchad, du Togo, du Niger, du Mali, du Burkina-Faso et de République centrafricaine, Elsevier Microbiologie: bactériologie, mycologie, parasitologie, virologie/Microbiology: bacteriology, mycology, parasitology, virology *C. R. Biologies* 337 .44–52.

121/Vidal J-L., (2008). Spiruline l'algue bleue de sante et de prévention, édition Dauphin.

122/Vijayakumari B., Sasikala V., Radha S.R., Tamilnadu, (2013) preliminary phytochemical screening of the various extracts of rotulaaquaticour.india

Références bibliographiques

- W -

123/Wu LC, Ho JA, Shieh MC and Lu IW., 2005. Antioxidant and antiproliferative activities of Spirulina and Chlorella water extracts .*T J Agric Food Chem*: 4207-42012.

124/Winter C.A., Risley E.A., Nuss G.W., (1962)-Carragenin-induced oedema in hind paw of the rat as an assay for anti-inflammatory drugs. *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, 111, 544-547.
In Criblage de l'effet anti-inflammatoire et analgésique des algues marines de la mer méditerranéenne, Rim Chatter Riahi, SafaTarhouni *, Riadh Kharrat (2013).

- Y -

125/Yamane Y., Fukino H., Icho T., Kato T., Shimamatsu H., (1988)- Effect of Spirulina platensis on the renal toxicity induced by inorganic mercury and para-aminophenol. 108th annual conference of the Pharmaceutical Society of Japan; p. 58.

- Z -

126/Zarrouk C., (1966)- Contribution à l'étude d'une cyanophycée: influence de divers facteurs physiques et chimiques sur la croissance et la photosynthèse de Spirulina maxima (Setch et Gardner) Geitler Thèse Doctorat Faculté des Sciences. Université de Paris.

127/ZEE-CHENG, R.K., 1997. Anticancer research on Loranthaceae plants. *Drugs Future* 22(5), 515-530.

128/Zhiri A., Baudoux D., 2005, aromathérapie scientifique, les huiles essentielles chémotypées et leurs synergies, édition Inspir Développement.

129/Zhang Cheng-Wu, et al. (1994) Effects of polysaccharide and phycocyanin from spirulina on peripheral blood and hematopoietic system of bone marrow in mice *Proc. of Second Asia Pacific Conf. on Algal Biotech. Univ. of Malaysia.*

130/Zhang HQ, Lin AP, Sun Y and Deng YM., 2001. Chemo- and radio-protective effects of polysaccharide of Spirulina platensis on hemopoietic system of mice and dogs. *Acta Pharmacol Sin*: 1121-1124.

Pages web :

- <http://tpe-antibiotique.e-monsite.com/pages/experience.html>.
- www.fao.org/righttofood/kc/glossary_fr.htm. Glossaire de base sur le droit à l'alimentation FAO 2009: Document électronique.
- <http://tpe-antibiotique.e-monsite.com/pages/experience.html>.