

République algérienne Démocratique et Populaire
Ministère d'enseignement supérieure et de la recherche scientifique
Université Dr Moulay-Tahar Saida
Faculté des Sciences : Département de Biologie



Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme de :

MASTER

Option : biotechnologie végétale et génomique.

Par

Melle menad hadjer

Melle boueka ikram

«Evaluation de l'activité antiprotozoaire de *Hammada Scoparia*, *Peganum harmala* et *Artemisia herba alba* sur modèle biologique, un protiste cilié *Paramecium sp.* »

Soutenu publiquement le/06/2019 devant le Jury composé de :

| | | |
|-------------|-----------------------------------------------|------------------------|
| PRESIDENT | Mr AMMAM Abdelkader Université de Saida | Maitre de Conférence B |
| EXAMINATEUR | Mlle Amara Sabrina Université de Saida | Maitre de Conférence B |
| PROMOTEUR | Mm HASSANI Maya Meriem Université de Saida | Maitre de Conférence B |

Année universitaire : 2019/2020

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

”قَالُوا سِرْحَانًا لَّا نَعْلَمُ لَنَا إِلَّا مَا
عَلَّمْتَنَا إِنَّكَ أَذِيبٌ الْعَظِيمُ“
صدق الله العظيم (البقرة -32)

UNIVESITE DR TAHAR MOULAY SAIDA

Description

Discipline : Sciences de la nature et de la Vie.

Spécialité : : biotechnologie végétale et génomique.

Faculté : Des sciences.

Département : Biologie.

Titre :

«Evaluation de l’activité antiprotozoaire de *Hammada Scoparia*, *Peganum harmala* et *Artemisia herba alba* sur modèle biologique, un protiste cilié *Paramecium sp.* »

Présentée par : boueka ikram et menad hadjer

L’encadrant : Mm Hassani Maya Meriem.

Laboratoires de recherche : - Les Laboratoires de l’université-Saida.

Localisation : Faculté des Sciences, Saida-L’Algérie.

Année universitaire : 2019-2020.

Remerciement

En préambule à ce mémoire nous remerciant ALLAH, le Clément qui manifeste sa clémence, qui nous avons donné la force, le courage et la patience durant ces longues années d'étude.

Nos remerciements vont tout d'abord au corps professoral et administratif de la Faculté des Sciences biologiques, de l'université de Dr MOULAY TAHAR-SAIDA, pour la richesse et la qualité de leur enseignement et qui déploient de grands efforts pour assurer à leurs étudiants une formation actualisée.

Nous tenons à remercier tout particulièrement Mm Hassani M pour la qualité de son encadrement scientifique, merci pour ta disponibilité, ta gentillesse, ta persévérance lors des périodes où rien ne semblait vouloir fonctionner.

Nos remerciements vont également à tous mes enseignants, Mm Hachem, pour leurs aides et leurs disponibilités.

Nos vifs remerciements vont également aux membres du jury Mr AMMAM A et Mm amarra pour l'intérêt qu'ils ont porté à notre recherche en acceptant d'examiner notre travail et de l'enrichir par leurs propositions.

Enfin, je tiens également à remercier toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

DEDICACES

A nos chers parents,
Pour tous leurs sacrifices, leur amour, leur tendresse, leur soutien et leurs prières
tout au long de mes études,

A nos chères sœurs Maïssa et Soumia
Et mon frère Mohamed,
Pour leurs encouragements permanents, et leur soutien moral,

A nos grandes familles,
Nos tantes, Nos oncles
Ainsi que nos cousins et cousines.

A toute nos amis et nos amies,
Pour leur soutien tout au long de mon parcours,

Que ce travail soit l'accomplissement de vos vœux tant allégués, et le fruit de
votre soutien infailible.

Merci d'être toujours là pour moi... 😊

ABSTRACT

knowledge of traditional healers often represents a basis for pharmacological and phytochemical research on natural medicines.

In this study we are interested in the antiparasitic effect of three plants by taking as a single cell biological model, a microorganism from the class of ciliated protists, represented by : *Paramecium* s or *paramecium*. It is a model species used by hundreds of laboratories around the world. It has been chosen by the scientific community to be the reference species for their experiments.

Another by studying the plants *Hammada Scoparia* "Remth"; *Peganum harmala*; *Artemisia herba alba* "chih", plants known for its healing properties, we have thus studied its phytochemical compositions, and its antiparasitic activity on ciliated protozoa.

The results obtained reveal the metabolic richness of these species with variations in yield from one extract to another depending on the extraction method used. One of the most important results is that the extracts exhibit antiparasitic activities at different concentrations vis-à-vis the *paramecium* forms.

Key words : leffeff antiparasitaire, paramécie, *Hammada Scoparia*; *Peganum harmala*; *Artemisia herba alba*.

ملخص

ان معرفة المعالجين التقليديين يمثل أساسًا للبحث الدوائي والكيميائي النباتي على الأدوية الطبيعية.

في هذه الدراسة ، نحن مهتمون بالتأثير المضاد للطفيليات لثلاثة نباتات من خلال أخذ نموذج بيولوجي أحادي الخلية ، كائن حي من فئة الأوليات الهدبية ، ممثلة بـ البراميسيوم. وهو نوع نموذجيا يستخدمه مئات المختبرات حول العالم. تم اختياره من قبل المجتمع العلمي ليكون الأنواع المرجعية لتجاربههم.

من ناحية اخرى قمنا بدراسة النباتات الثلاثة : نبات الحرملة (صنف السنبل البري)، نبتة الرمث، نبات الشيح، هي نباتات معروفة بخصائصها العلاجية ، لذلك قمنا بدراسة تركيباتها الكيميائية النباتية ، ونشاطها المضاد للطفيليات في الأوليات ذات الأهداب.

النتائج التي تم الحصول عليها تكشف عن الثراء الأيضي لهذه الأنواع مع اختلافات في الغلة من مستخلص إلى آخر اعتمادًا على طريقة الاستخراج المستخدمة.

واحدة من أهم النتائج هي أن المستخلصات تظهر أنشطة مضادة للطفيليات بتركيزات مختلفة مقابل الأشكال البارزة.

الكلمات المفتاحية : تأثير مضاد للطفيليات ، البراميسيوم ، : نبات الحرملة (صنف السنبل البري)، نبتة الرمث، نبات الشيح.

RESUME

La connaissance des guérisseurs traditionnels représente souvent une base pour la recherche pharmacologique et phytochimique sur les médicaments naturels.

Dans cette étude nous nous sommes intéressés à l'effet antiparasitaire de trois plantes en prenant en tant que modèle biologique unicellulaire, un microorganisme de la classe des protistes ciliés, représenté par : *Paramecium* ou paramécie. Il s'agit d'une espèce modèle utilisée par des centaines de laboratoires à travers le monde. Elle a été choisie par la communauté scientifique pour être l'espèce de référence de leurs expériences.

D'une autre par l'étude des plantes *Hammada Scoparia* « Remth » ; *Peganum harmala* ; *Artemisia herba alba* « chih », des plantes réputées pour ses vertus curatives, nous avons ainsi étudié ses compositions phytochimiques, et ses activités antiparasitaires sur un protozoaire cilié.

Les résultats obtenus, révèlent la richesse métabolique de ces espèces avec des variations de rendement d'un extrait à l'autre selon la méthode d'extraction utilisée.

Un des résultats le plus important, c'est que les extraits présentent des activités antiparasitaires à différentes concentrations vis-à-vis des formes paramécies.

Mots-clés : l'effet antiparasitaire, paramécie, *Hammada Scoparia* ; *Peganum harmala* ; *Artemisia herba alba*.

SOMMAIRE

- **REMERCIEMENT**
- **DEDICACE**
- **ILLUSTRATIONS**
- **ملخص**
- **SAMMARY**
- **RESUME**
- **REVUE BIBLIOGRAPHIQUE [Pages]**
- **INTRODUCTION**

Chapitre I : Etat des connaissances sur les plantes ; Armoise blanche (Artemisia herba alba) ; Peganum harmala ; Hammada scoparia .

| | |
|------------------------------------------------------|----|
| I. les plantes médicinales..... | 01 |
| I. 1 La phytothérapie | 01 |
| I. 2 Les avantages de la phytothérapie..... | 01 |
| I. 3 Définition d'une plante médicinale | 01 |
| I. 4 Etude des plantes médicinales | 02 |
| I. 5 Intérêt de l'étude des plantes médicinales..... | 02 |
| II. Armoise blanche (Artemisia herba alba)..... | 03 |
| II.1 Généralités | 03 |
| II.2 Habitat | 04 |
| II.3 Ecologie de la plante | 04 |
| II.4 classification de l'armoise blanche | 04 |
| II.5 Description botanique | 04 |
| II.5.1 Partie souterraine | 05 |
| II.5.2 Partie aérienne | 05 |
| II.6 Composition chimique | 06 |
| II.7 Usages traditionnels et médicinaux | 06 |
| III. Peganum harmala (L'harmel) | 07 |
| III.1 Description botanique | 07 |
| III.2 Distribution géographique | 07 |

| | |
|-------------------------------------------------|----|
| III.3 Classification | 08 |
| III.4 Constituants chimiques de la plante | 08 |
| III.5 Usage traditionnel et courant | 08 |
| III.6 La toxicité | 09 |
| IV. Hammada scoparia (Pomel), « Remth » | 10 |
| IV.1 Position systématique | 10 |
| IV.2 Description botanique | 10 |
| IV.3 répartition géographique..... | 11 |
| IV.4 Phytochimie | 11 |
| IV.5 Activité biologique..... | 14 |

Chapitre II : Etat des connaissances sur les paramécies.

| | |
|----------------------------------------------------------------|----|
| I. Rappel sur la biodiversité microbienne | 15 |
| I.1 Rappel sur les protistes | 15 |
| I.2 Phylogénie des Protistes | 16 |
| I-3- Taxinomie | 17 |
| II. Rappels sur la paramécie (Paramecium sp.) | 18 |
| II.1 Mouvement | 21 |
| II.2 Reproduction | 21 |
| II.3 Alimentation | 22 |
| II.4 Respiration | 22 |
| II.5 Génomique et mécanismes d'évolution de la paramécie | 23 |
| III. Choix de Paramecium Comme modèle biologique | 23 |

Chapitre III : Matériels & méthodes

| | |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| I. Préparation des extraits à partir de 3 plantes P.harmala , Artemisia herba Alba , hammada scoparia | 24 |
| I.1 Le choix de la plante | 24 |
| I.2 Préparation des extraits des plantes..... | 24 |
| I.2.1 La récolte de la matière végétale | 24 |
| I.2.2 Préparation de l'extrait aqueux de P.harmala..... | 25 |
| I.2.2.1 Par Macération | 25 |
| I.2.2.2 Par Décoction | 26 |

| | |
|-----------------------------------------------------------------------|----|
| I.2.2.3 Par la méthode de soxhlet | 27 |
| I.2.3 Préparation de l'extrait aqueux d'Artemisia herba alba | 29 |
| I.2.3.1 Extraction par décoction | 29 |
| I.2.3.2 Extraction par soxhlet | 30 |
| I.2.4 Préparation de l'extrait aqueux « Remth » Hammada scoparia..... | 31 |
| I.2.4.1 Préparation par décoction | 31 |
| II. Préparation milieu culture de paramécies | 32 |
| II.1 Matériel biologique | 32 |
| II .2 Méthodes..... | 32 |
| II 2.1 Méthodes de culture des paramécies | 32 |
| II. 2.2 La confirmation de la paramécie | 33 |
| II. 2.3 Mode de traitement | 33 |
| II .3 Evaluation de l'activité antiprotozoaire des 3 plantes | 33 |
| II .4 Calcul du pourcentage de réponse | 35 |

Chapitre IV : Résultats et Interprétation

| | |
|----------------------------------------------------------------------------------------|----|
| I. Préparation des plantes | 36 |
| I.1 Rendement de l'extrait aqueux de la plante Péganum harmala..... | 37 |
| I.2 Rendement de l'extrait aqueux de la plante d'Artemisia herba alba | 38 |
| I.3 Rendement de l'extrait aqueux de la plante de Hammada scoparia « Remth » | 39 |
| II. Teste in vitro et la confirmation de la paramécie | 39 |
| III. Evaluation de l'activité antiprotozoaire des 3 plantes | 39 |
| III.1 culture témoin | 39 |
| III.2 culture traitée par l'Extrait aqueux à 1%, 3% et 5% de P Harmala :..... | 41 |
| III.3 culture traitée par l'Extrait aqueux à 1%, 3% et 5% de hammada scoparia | 42 |
| III.4 culture traitée par l'Extrait aqueux à 1%, 3% et 5% d'artemisia herba alba | 43 |
| IV. Calcul du pourcentage de réponse..... | 44 |
| V. Discussion..... | 45 |

➤ **CONCLUSION**

➤ **REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

ILLUSTRATIONS

Liste des Abréviations

OMS : Organisation mondiale de la santé.

WHO : World health organization.

EMR : Région du Méditerranée oriental.

AMR : Région du Méditerranée des Amériques.

EUR : Région Européennes.

SEAR : Région de l'Asie du Sud-est.

AFR : Région Africaine.

WPR : Région du Pacifique Occidentale

n : noyau.

mt : mitochondrie.

f : flagelle.

pf : poche flagellaire.

P.harmala : peganum harmala.

H.Scoparia : Hammada Scoparia

Armoise blanche : Artemisia herba alba.

t : Teste.

R : Le rendement.

mi : La masse initiale de matière végétale.

mf : La masse finale (l'extrait en poudre après le séchage).

PR : pourcentage de réponse

CN : nombre des cellules témoins

EN : nombre final des cellules traitées

N : nombre de génération.

N1 : nombre des protozoaires au 2ème jour.

N0 : nombre des protozoaires au 1er jour.

G : temps de génération

Temps de croissance : 24 heures

N : nombre de génération.

Liste des Figures

Figure 1 : photo d'Artémisia herba alba.

Figure 2 : Dessin de détail d'après G. POTTER, 1981 d'Artémisia herba alba.

Figure 3 : La plante de peganum harmala (L'harmel).

Figure 4 : photo de Hammada scoparia.

Figure 5 : Schéma d'une cellule protozoaire.

Figure 6 : Position du genre Paramecium dans le système « Trois domaines ».

Figure 7 : Structure d'une paramécie sous microscope.

Figure 8 : Présentation de la paramécie.

Figure 9 : Cycle sexuel et réorganisation macronucléaire : Événements cellulaires.

Figure 10 : séchage des plantes dans l'étuve dans l'étuve du laboratoire de l'université.

Figure 11 : Broyage manuel de la plante.

Figure 12 : Protocole de macération.

Figure 13 : Protocole de filtration.

Figure 14 : Flacon avec extrait final.

Figure 15 : Montage de l'extraction par décoction.

Figure 16 : Le montage de soxhlet.

Figure 17 : l'extrait de macération avant séchage.

Figure 18 : l'extrait de macération après Séchage.

Figure 19 : mélange de décoction.

Figure 20 : filtration de mélange.

Figure21 : le poids de cristalliseur vide.

Figure22 : l'extrait de décoction après séchage.

Figure 23 : Le mélange de la souche protozoaire avec l'extrait de chacun des 3 plantes.

Figure 24 : Graphique du rendement obtenu pour chaque méthode d'extraction (Peganum harmala)

Figure 25 : Graphique du rendement obtenu pour chaque méthode d'extraction (Artemisia herba alba).

Figure 26 : La forme des paramécies sous le microscope optique (X100).

Figure 27 : Observation microscopique des paramécies témoins (X40) .

Figure 28 : observation microscopique des paramécie temoins (X100).

Figure 29 : Graphique du nombre des paramécies dans la culture témoin

Figure 30 : Résultats de l'effet de l'extrait aqueux (P.harmala).

Figure 31 : graphique représente l'effet antiprotozoaire de l'EA de P.harmala.

Figure 32 : Résultats de l'effet de l'extrait aqueux (hammada scoparia).

Figure 33 : graphique représente l'effet antiprotozoaire de l'EA de H scoparia.

Figure 34 : Résultats de l'effet de l'extrait aqueux (artemisia herba alba).

Figure 35 : graphique représente l'effet antiprotozoaire de l'EA de artemisia herba alba.

Liste des Tableaux

Tableau 01 : La composition chimique de Hammada scoparia.

Tableau 02 : Résultats du rendement de l'extrait aqueux de Peganum harmala .

Tableau 03 : Résultats du rendement de l'extrait aqueux de Artemisia herba alba.

Tableau 04 : Résultats du rendement de l'extrait aqueux de hammada scoparia.

Tableau 05 : l'effet antileishmanienne de l'EA de P.harmala.

Tableau 06 : Résultats du rendement de l'extrait aqueux de Peganum harmala

Tableau 07 : Résultats du rendement de l'extrait aqueux d'Artemisia herba alba

Tableau 08 : Résultats du rendement de l'extrait aqueux de Hammada scoparia

Tableau 09 : nombre des paramécies dans la culture témoin

Tableau 10 : nombre des paramécies traité par (P harmala) 1%, 3% et 5%

Tableau 11 : nombre des paramécies traité par (H scoparia) 1%, 3% et 5%

Tableau 12 : nombre des paramécies traité par (artemisia) 1%, 3% et 5%

Introduction :

La paramécie est un genre bien connu de protozoaire cilié. Elle est l'un des premiers organismes unicellulaires à avoir été observé au microscope. La taille de la cellule varie de 50 à 300 µm de long suivant les espèces. La paramécie utilise des cils pour se déplacer et se nourrir.

Aujourd'hui, la tendance est à la médecine naturelle qu'elle soit préparée en laboratoire ou chez soi parce que les solutions phytothérapeutiques trouvent toutes leurs origines dans les plantes dites médicinales, ces derniers dont l'utilisation concerne des milliers d'espèces différentes issues de la nature. Citons par exemple, les genres de *Peganum harmala* (harmel) ; *Hammada Scoparia* « Remth » ; *Artemisia herba alba* « chih»

Dans le cadre de cette étude, les capacités matérielles mises à notre disposition, nous ont permis de mettre en place une stratégie de recherche pour l'étude transversale, analytique, descriptive et de tester l'activité antiparasitaire in vitro des extraits de la plante.

Cette étude est consacrée à une compréhension approfondie des interactions physicochimiques et biologiques entre un modèle biologique unicellulaire d'eau douce considéré également comme bon bioindicateur de la pollution des eaux.

A travers ce travail, nous nous sommes intéressées dans la première étape à donner quelques connaissances bibliographiques concernant l'intérêt d'étude des trois plantes médicinales : *Hammada Scoparia* « Remth » ; *Peganum harmala* ; *Artemisia herba alba* « chih», et un aperçu scientifique sur les paramécies .

La deuxième étape décrit le climat expérimental : préparation des extraits à partir des plantes, préparation des milieux de cultures des parasites.

La troisième et dernière étape concerne essentiellement les essais de mise en culture du parasite dans des milieux aqueux et l'observation microscopique des paramécies traité.

Nous terminerons enfin ce travail par une conclusion où nous proposerons quelques perspectives quand l'amélioration des différents protocoles expérimentaux.

Chapitre I

Etat des connaissances Sur Les plantes :

-Armoise blanche (*Artemisia herba alba*).

-*Peganum harmala*.

-*Hammada scoparia*.

I. les plantes médicinales :

I. 1 La phytothérapie :

La phytothérapie est une branche de la médecine qui repose essentiellement sur l'emploi thérapeutique de plantes dites "médicinales". Consommées sous différentes formes, les plantes traitent ou soulagent différents troubles de la santé. Elles sont utilisées seules ou en complément d'une prise en charge médicale adaptée. La plupart des plantes ne sont pas utilisées en entier, leurs principes actifs étant souvent concentrés dans une seule partie : racines, feuilles, fleurs... Les plantes peuvent être présentées de diverses façons : fraîches ou séchées pour faire des infusions, en gélules, préparation magistrale, en ampoule buvable, etc. Il est conseillé d'avoir recours à la phytothérapie sur avis médical auprès de médecins ou pharmaciens formés à la discipline.

I. 2 Les avantages de la phytothérapie :

Malgré les énormes progrès réalisés par la médecine, La phytothérapie offre plusieurs avantages.

Aujourd'hui, les traitements à base des plantes reviennent au premier plan, car l'efficacité des médicaments tels que les antibiotiques (qui considèrent comme la solution quasi universelle aux infections graves) décroît car les bactéries et les virus sont adaptés aux médicaments et leur résistent plus en plus.

Les maladies les plus graves, le cancer, la sclérose qui sont soignées de façon très difficile, mais grâce à la phytothérapie qui est une alternative importante peut amener un confort dans le traitement classique de ces maladies graves.

I. 3 Définition d'une plante médicinale :

Une plante médicinale est une plante dont un des organes, par exemple la feuille ou l'écorce possède des vertus curatives, et quelquefois toxiques selon son dosage. Au Moyen Âge, on parlait de «simples».

En France, Il existe une définition officielle des plantes médicinales : celles inscrites à la Pharmacopée. Les plantes médicinales inscrites à la pharmacopée sont reconnues comme des médicaments. Leur vente est exclusivement réservée aux pharmaciens ainsi qu'aux herboristes, à l'exception de 145 d'entre elles qui sont en vente libre par dérogation (voir Liste des plantes médicinales en vente libre), et qui correspondent fréquemment aux plantes aromatiques utilisées dans les préparations culinaires.

I. 4 Etude des plantes médicinales :

La connaissance rationnelle des plantes médicinales date de l'Antiquité. C'est Hippocrate qui différencie l'usage interne et l'usage externe et qui définit la notion de dose qui permet de distinguer l'effet thérapeutique de l'effet toxique (Colette-Keller, 2004). Au cours des dernières décennies, les recherches scientifiques les plus modernes n'ont fait que confirmer le bien-fondé des vertus thérapeutiques de la plupart des plantes médicinales utilisées (Carillon, 2000). Ce savoir traditionnel ancestral se transmet de génération en génération et est devenu aujourd'hui une mine d'informations extrêmement précieuses pour les chercheurs d'industrie pharmaceutique (Fouché et al, 2000).

Aujourd'hui la pharmacologie s'oriente de plus en plus vers des traitements à base de plantes, car l'efficacité de la synthèse chimique a largement atteint ses limites et n'arrive plus à être créative. L'exemple de l'antibiorésistance microbienne, à l'origine de la recrudescence des maladies nosocomiales se passe de tout commentaire (Iserin, 2001).

I. 5 Intérêt de l'étude des plantes médicinales :

La plupart des espèces végétales contiennent des substances qui peuvent agir, à un niveau ou un autre, sur l'organisme humain et animal. On les utilise aussi bien en médecine classique qu'en phytothérapie. Elles présentent en effet des avantages dont les médicaments sont souvent dépourvus (Iserin, 2001). La raison fondamentale est que les principes actifs végétaux proviennent de processus biotiques répandus dans tout le monde vivant, alors que l'essentiel des médicaments de synthèse sont des xénobiotiques aux effets secondaires très mal maîtrisés (Bruneton, 2009).

Les plantes médicinales sont donc importantes pour la recherche pharmaceutique et l'élaboration des médicaments, directement comme agents thérapeutiques, mais aussi comme matière première pour la synthèse des médicaments ou comme modèle pour les composés pharmaceutiquement actifs (**Decaux, 2002**). La tubocurarine, le relaxant musculaire le plus puissant dérive du curare (*Chondrodendron tomentosum*).

La morphine, alcaloïde caractéristique des papavères (*papaver somniferum*) est l'analgésique le plus puissant, utilisé dans la chirurgie lourde et la thérapie anticancéreuse (Iserin, 2001 ; Bruneton 2009). Il est difficile d'imaginer le monde sans la quinine (dérivée du genre *Cinchona*) qui est un alcaloïde anti malarique, sans la digoxine (du genre *Digitalis*) qui est cardiotonique, ou encore l'éphédrine (du genre *Ephedra*) que l'on retrouve dans de nombreuses prescriptions contre le rhume : stimule l'automatisme cardiaque, elle est bronchodilatatrice et stimulante du centre respiratoire bulbaire. (Iserin, 2001 ; Bruneton, 2009).

Les plantes aromatiques constituent une catégorie à part, par le fait qu'elles élaborent des substances volatiles, odorantes, caractéristiques appelées *huiles essentielles*. (Iserin, 2001). Ces plantes, connus depuis l'antiquité, sont généralement utilisées en médecine traditionnelle comme agents antibactériens et antifongiques. Ces propriétés antifongiques ont été confirmées par de nombreux travaux sur les souches de levures, dermatophytes et *Aspergillus* (Pinto et al. 2003 ; Salgueiro et al. 2003), et présentent un potentiel

thérapeutique, principalement dans les maladies fongiques impliquant les muqueuses, la peau et autres infections des voies respiratoires. Certaines espèces de *Juniperus*, sont aussi utilisées en médecine populaire comme antiseptiques (Newall et al. 1996). *Juniperus communis* est traditionnellement utilisée pour le traitement des infections urinaires, *Juniperus oxycedrus* est utilisée comme un remède pour les infections dermatologiques (Cosentino et al, 2003) et *Juniperus phoenicea* est considérée comme antimicrobien et antioxydant (Bouzouita et al, 2008 ; Hayouni et al, 2007).

II. Armoise blanche (*Artemisia herba alba*)

II.1 Généralités :

L'*Artemisia Herba Alba*; l'Armoise herbe blanche est une plante mensuelle très répandue dans les zones arides à semi-aride. C'est une espèce du genre *Artemisia* (Armoise) qui appartient à la famille des *Astéracées*. Herbacée et peut mesurer de 30cm à 50cm de haut. Ses tiges sont florifères et élancées, un peu velues et ses feuilles sont oblongues, découpées en segments de couleur vert foncé sur la face et blanc cotonneux sur leur partie inférieure (figure1), elle possède aussi des petites fleurs tubuleuses jaunes ; elle dégage une odeur très forte, parfois désagréable (**Ozenda, 1983; Baba Aissa, 2000**).

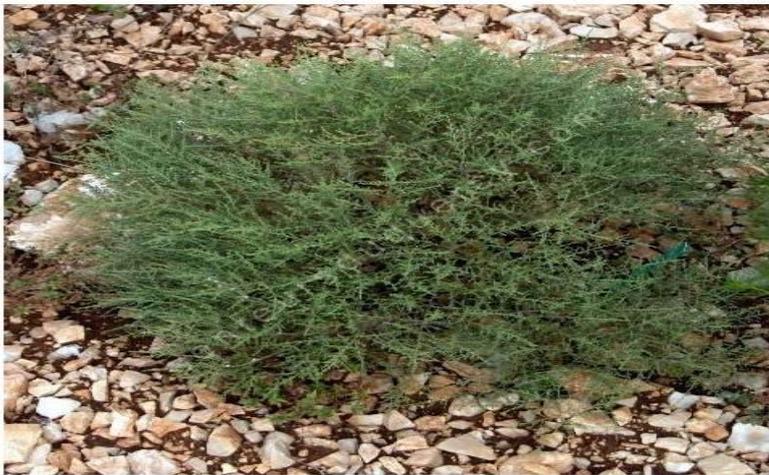


Figure 1: photo d'Artémisia herba alba

La période de floraison est de juillet à octobre, ses fruits sont des akènes ovoïdes (**Pottier, 1981**). Les parties de la plante utilisées en phytothérapie sont notamment les feuilles et les sommités fleuries. (**Mucciarelli et Maffei., 2002**).

Il a été rapporté que le genre *Artemisia* est riche en métabolites secondaires tels que les flavonoïdes, les acides cafféoylquiniques, les coumarines, les huiles essentielles (**Kundan et Anupam., 2010**). Les espèces qui appartiennent au genre *Artemisia* possèdent des propriétés thérapeutiques, et non seulement elles utilisées dans la médecine traditionnelle, mais aussi dans l'industrie alimentaire et pharmaceutique (**Mirjalili et al., 2007**).

II.2 Habitat :

L'Armoise est largement répandue depuis les îles Canaries et le sud-Est de l'Espagne Jusqu'aux steppes d'Asie centrale (Iran, Turkménistan, Ouzbékistan) et à travers l'Afrique du Nord, l'Arabie et le Proche-Orient. En Afrique du nord, cette espèce couvre d'immenses territoires évalués à plus de dix millions d'hectares, *Artemisia herba-alba* est absente des zones littorales nord et se raréfie dans l'extrême sud (Nabli, 1989).

II.3 Ecologie de la plante :

L'Armoise blanche existe dans les bioclimats allant du semi-aride jusqu'au saharien. Elle est indifférente aux altitudes et peut vivre dans les régions d'hiver chaud à frais. Dans le sud, cette plante pousse sur les sols bruns steppiques de texture moyenne et en extrême sud sur les sols sableux. Elle résiste à la sécheresse, supporte le gypse et des niveaux de salinité modérément élevés (Nabli, 1989).

II.4 classification de l'Armoise blanche :

Règne : *végétal*

Phylum: *Angiospermeae.*

Sous Phylum: *Dicotylédones*

Ordre: *Gampanulatae*

Famille: *Asteraceae.*

Sous-famille: *Asterioideae.*

Tribu: *Anthemideae.*

Sous-tribu: *Artemisiinae.*

Genre: *Artemisia.*

Espèce: *Artemisia Herba-alba.*

II.5 Description botanique :

L'*Artemisia herba alba* est une plante vivace qui forme des buissons de 30 à 50 cm, blanche et laineuse, à tiges nombreuses, tomenteuses. Les feuilles sont courtes, généralement pubescentes argentées avec des capitules sessiles de 2-5 fleurs. Ces derniers sont hermaphrodites alors que le fruit est akène. Le réceptacle est nu et la corolle est insérée très obliquement sur l'ovaire

II.5.1 Partie souterraine :

L'artemisia herba alba présente une racine principale, épaisse et ligneuse, bien distincte des racines secondaires, qui s'enfoncent dans le sol comme un pivot.

Le système racinaire a une extension peu profonde avec un grand nombre de ramifications latérales particulièrement abondantes entre 2 à 5 cm de profondeur mettant en relation cette forme de racine avec l'existence d'un court calcaire superficiel.

Quand l'armoise se développe dans une région plus humide, ses racines pénètrent profondément jusqu'à 40 à 50 cm et ne se ramifient qu'à cette profondeur. **(Pourrat, 1974)**
La biomasse racinaire diminue très vite avec la profondeur et très peu de racines sont retrouvées à partir de 50 cm **(Aidoud, 1983)**.

II.5.2 Partie aérienne :

Elle est représentée par la partie ligneuse, la tige, les feuilles et les fleurs

La tige :

L'artemisia herba alba présente une tige principale très épaisse, rougeâtre, qui se ramifie et se prolonge par de nombreuses tiges de plus en plus fines. Chaque tige se distingue par une taille allant de 30 à 50 cm **(Bendahou, 1991)**.

Les feuilles et les rameaux :

Les feuilles sont courtes, blanches laineuses, et argentées. Elles sont très petites et entières, ce qui réduit considérablement la surface transpirante et permet ainsi à la plante de résister à la sécheresse **(Pourrat, 1974)**.

La fleur :

La floraison s'effectue en automne à partir du mois de septembre. La fleur est formée d'inflorescences en capitules.

Ces derniers sont très petits, étroits (12 à 5 mm) ovoïdes à involucre scarieux de contenant que 3 à 8 fleurs, tous hermaphrodites.

Ces capitules pauciflores, en général homogames sont insérés directement sur l'axe et sans aucun support. **(Ozenda, 1985)**.

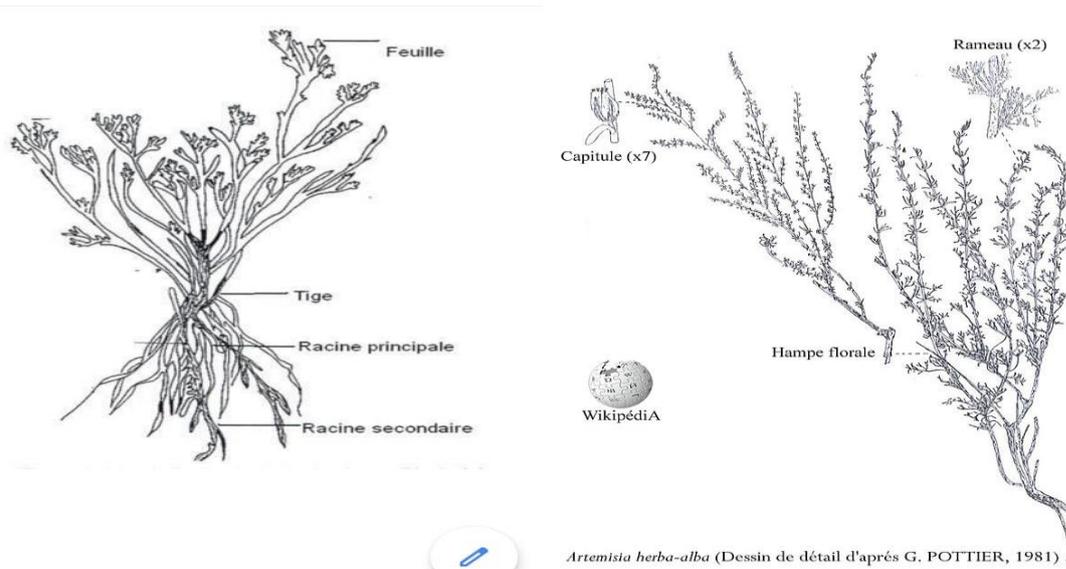


Figure 2 : Dessin de détail d'après G.POTTER, 1981 d'Artémisia herba alba

II.6 Composition chimique :

La partie aérienne d'*Artemisia herba alba* possède des activités antioxydantes significatives. En effet cette partie de la plante est riche en composés doués d'activité antioxydantes tels que: les flavonoïdes, les polyphénols et les tanins, ces différents constituants exercent ses actions antioxydantes en inhibant la production de l'anion su peroxyde, l'hydroxyle, comme ils inhibent la peroxydation lipidique au niveau des microsomes (Bruneton, 1999).

II.7 Usages traditionnels et médicinaux :

L'*Artemisia herba alba* est très utilisé en médecine traditionnelle lors d'un désordre gastrique tel que la diarrhée et les douleurs abdominales. Elle est aussi utilisée en tant que remède de l'inflammation du tractus gastro-intestinal (Gharabi, 2008). De loin le remède le plus fréquemment cité dans la bibliographie est l'utilisation de l'*Artemisia herba alba* dans le traitement du diabète Sucré (Twaijha et Al-badrel, 1988). Plusieurs études scientifiques ont également prouvées l'efficacité de l'armoise blanche en tant qu'agent antidiabétique, antiparasitaire, antibactérien, antiviral, antioxydant, anti malarien, antipyrétique, antispasmodique et antihémorragique (Boudjeladi, 2013).

L'armoise est plus connue en Algérie, le Chih est un remède très populaire auquel on a souvent recours pour faciliter la digestion, calmer les douleurs abdominales et certains malaises du foie et antidiabétique. Ses racines sont indiquées contre certains troubles nerveux (Baba aissa, 2000).

III. *Peganum harmala* (L'harmel)

III.1 Description botanique :

L'harmel est une plante herbacée, vivace, glabre, buissonnante de 30 à 90 cm de hauteur à rhizome épais, à odeur forte, désagréable qui rappelle celle de la rue. Les tiges dressées, très rameuses disparaissent l'hiver; elles portent des feuilles alternes, découpées en lanières étroites. Les fleurs solitaires, assez grandes (25 à 30 mm), d'un blanc-jaunâtre veinées de vert. Les graines: nombreuses, petites, anguleuses, subtriangulaires, de couleur marron foncé, dont le tégument externe est réticulé, ont une saveur amère; on les récolte en été, le tégument externe de la graine renferme un pigment rouge connu sous le nom de "Turkey red". Cette plante développe surtout dans les zones arides, sur les sols sableux et légèrement nitrés (Iserin, 2001).



Figure 3 : La plante de *peganum harmala* (L'harmel).

III.2 Distribution géographique :

Elle est largement distribuée à travers le monde, généralement dans la zone méditerranéenne surtout dans les zones sèche en Europe comme l'Espagne, la Russie, Hongrie, en Afrique (Maroc oriental, Sahara septentrional et hauts plateaux Algériens, Tunisie, steppes de la Lybie, déserts d'Egypte), et en Asie, elle est répandue dans les steppes de l'Iran, du Pakistan, du Turkestan jusqu'au Tibet et en Sibérie (Bézanger-Beauquesne *et al.*, 1980).

III.3 Classification :

Règne : *Plantae*

Sous règne : *Tracheobionta*

Division : *Magnoliophyta*

Classe : Magnoliopsida

Ordre : Sapindales

Famille : *Zygophyllaceae*

Genre : *Peganum*

Sous genre : *peganum harmala*

III.4 Constituants chimiques de la plante :

Les constituants chimiques de la plante sont les suivants :

➤ **Acides aminés :** phénylalanine, valine, proline, thréonine, histidine, acides glutamique et carbo-hydrates.

➤ **Flavonoïdes :** coumarines, bases volatiles, tanins, stérols.

➤ **Pigment :** le tégument externe de la graine renferme un pigment rouge dit « Turkey Red » et un composé fluorescent.

➤ **Des alcaloïdes** qui ont un noyau indole: harmane, harmine, harmaline, harmalol (harmol) qui représentent les principales toxines. Le taux d'alcaloïdes est beaucoup plus élevé dans la graine que la racine, la tige, et la feuille, cette teneur s'élève en été durant la maturité du fruit. (Kartal *et al.*, 2003)

➤ **Les alcaloïdes de *Peganum harmala* L.**

L'espèce *Peganum harmala* est très riche en alcaloïdes indoliques (dérivés de l'acide aminé Tryptophane) de type β -carboliniques . Les plus importants sont l'Harmaline, L'Harmane, l'Harmine et le Tetrahydroxyharmine (THH) (Kartal *et al.*, 2003).

Les graines de *Peganum harmala* contiennent également une autre classe d'alcaloïdes, les quinazolines, dont le précurseur est l'acide anthranilique et qui sont représentés par la Péganine, le Vasicinone, et la Desoxypéganine (Khashimov *et al.*, 1969 ; Zharekeev *et al.*, 1974).

III.5 Usage traditionnel et courant :

Le Harmal est emménagogues, abortives, hypnotiques, antalgiques, antiseptiques, hypnotique, antipyrétique, antalgique, antitussif, antiseptique et cicatrisant possède une action contre: coliques, troubles digestifs, stérilité féminine, dermatoses et brûlures, conjonctivites .

a) Usage externe : La plante fraîche est employée en cataplasme, soit après extraction du suc pour la composition d'un liniment à base de graisse de mouton, plante sèche ou graines sous forme de fumigations.

L'huile de graines est obtenue par décoction de graines dans l'huile d'olive. Les préparations en usage externe sont préconisées surtout pour le traitement de rhumatisme. (Aouadhi, 2010)

b) Usage interne :

- **Pour l'hypertension et le diabète :**

Une cuillère à café de graines, soit environ 2.5 g, avalés telles quelles avec un verre d'eau ou mélangées au miel ou pilées avec de l'huile d'olive, est recommandé en cas d'anurie, de dysurie, d'hypertension ou de diabète.

La plante fraîche hachée et bouillie dans l'huile et les feuilles sèches en décoction sont signalées pour leurs propriétés antipyrétiques et sont efficaces pour traiter le rhume et la carie dentaire. La plante sèche pulvérisée et tamisée est utilisée contre la conjonctivite purulente, la blépharite et dans le traitement de l'eczéma. (Aouadhi, 2010)

III.6 La toxicité :

Les doses élevées peuvent provoquer la paralysie. Les graines de harmal renferment en moyenne de 3 à 4% d'alcaloïdes avec une brusque élévation de ce taux à la phase de mûrissement du fruit. Ces alcaloïdes sont au nombre de quatre : Harmane, Harmine, Harmaline et Harmalol ou Harmol. Leur structure chimique, parfaitement connue, associe un noyau indole à un noyau pyridine. Elle conditionnerait l'effet stimulant du système nerveux central des quatre alcaloïdes. La spécificité de l'action d'un alcaloïde par rapport à l'autre serait, par contre, en rapport avec la variation des radicaux et du nombre de doubles liaisons portées par le cycle commun. C'est cette variation qui expliquerait les nuances constatées au niveau des mécanismes d'action : Les Harmane, Harmine et Harmaline exerceraient :

- soit un blocage direct des récepteurs cérébraux GABAergiques (Acide Gamma Amino Butyrique) et donc de leur médiation inhibitrice, produisant un effet stimulant qui serait responsable de l'élévation du tonus musculaire et au maximum de convulsions.

- soit une facilitation de l'accès aux récepteurs GABAergiques d'une substance endogène qui serait du thromboxane A₂, dérivée des prostaglandines, et qui pourrait jouer un rôle important dans la régulation des mouvements calciques neuronaux et donc de l'excitabilité neuronale, Quoiqu'il en soit ces alcaloïdes prédisposeraient aux modifications des conductances membranaires sodiques et/ou calciques.

La Harmine et l'Harmaline exerceraient une action anti-cholinergique centrale pouvant expliquer la crise d'agitation et les manifestations digestives observées.

La Harmane et Harmaline exerceraient une action inhibitrice du système Dopaminergique central induisant une sédation et des perturbations du sommeil paradoxal. (Aouadhi, 2010)

IV. Hammada scoparia (Pomel), « Remth » :

IV.1 Position systématique :

Règne : Végétal

Embranchement : Phanérogames

Sous Embranchement : Angiospermes

Classe : Eudicots

Ordre : Caryophyllales

Famille : Amaranthaceae

Genre : *Hammada*

Espèce : *H. scoparia*



Figure 4 : photo de Hammada scoparia

IV.2 Description botanique :

Haloxylon scoparium POMEL appartient à la famille des Amaranthaceae, qui est composée de 800 espèces répartis sur 75 genres.

C'est un arbrisseau à tiges grêles, très nombreuses, qui noircissent en séchant, avec des épis floraux courts, des fruits à ailes vivement colorées, souvent rose ou rouge.

C'est une plante qui se trouve dans les régions arides et semi-arides de l'Algérie, et d'autres régions de la méditerranée, et aussi en proche orient.

IV.3 répartition géographique

Se développant dans les regs, les sols un peu salés ou gypseux, *H. scoparium* est très commun dans tout le Sahara septentrional jusqu'au Tademaït (Ozenda, 1958) ; et est distribué en Espagne du sud-est, l'Iran, la Turquie, l'Irak et la Syrie.

IV.4 Phytochimie :

La composition chimique de *H. scoparia*, a été bien étudiée, les structures des principaux métabolites secondaires ont été identifiées.

C'est une plante surtout très riche en alcaloïdes et en flavonoïdes. Les principales molécules isolées et identifiées sont montrées dans le tableau n°1.

Tableau 1 : La composition chimique de Hammada scoparia.

| Métabolites | Classe | Nom chimique | Références |
|-------------|-------------------------|----------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------|
| Secondaires | | | |
| Alcaloïdes | Tétrahydroisoquinolines | - Carnéguine - N-methylisosalsoline | Benkrief et al., 1989. El-Shazly, 2003. |
| | Isoquinolines | -Isosalsoline -Salsolidine -Dehydrosalsolidine | |
| | Indole | -Tryptamine -N-méthyltryptamine | |
| | Isoquinolone | N-méthylcorydaldine | |
| | β -carboline | 2-Méthyl-1,2,3,4- tétrahydro- β - Carboline | |

| | | | |
|---------------------------------------|------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------|
| Composés Phénoliques | Flavonol triglycosides | Isorhamnetin 3- <i>O</i> -β -D-xylopyranosyl- (1'''→3''')-α -L-rhamnopyranosyl- (1'''→6'')-β -D galactopyranoside | Ben Salah et al., 2002. |
| | | Isorhamnetin 3- <i>O</i> -β-D-apiofuranosyl- (1'''→2'')[α -L-rhamnopyranosyl- (1'''→6'')]-β -D-galactopyranoside | |
| | | Isorhamnetin 3- <i>O</i> -α -L-rhamnopyranosyl-(1'''→2'')[α -L-rhamnopyranosyl-(1'''→6'')]-β -D-Galactopyranoside | |
| | Flavone | Chrysoeriol | |

| | | | |
|--|----------------|-------------------------------------------------------------------|-----------------------|
| | Phénol simple | Catéchol | Chao et al., 2013. |
| | Acides phénols | -Acide coumarique -Acide cinnamique -Acide cafféoylquinique | |

IV.5 Activité biologique

Hammada scoparia appartient à un groupe de plantes appelées les halophytes. Ces plantes ont la capacité de croître dans des conditions de stress abiotique comme la haute salinité et la haute température. Cette capacité remarquable résulte du développement de mécanismes de défense et la synthèse de molécules conçues pour résister aux conditions extrêmes de l'environnement. De ce fait ces plantes sont très riches en molécules bioactives, et sont considérées comme une potentielle source de nouveaux médicaments (Ksouri et al., 2012).

H. scoparia est connue sous le nom vernaculaire de « *Remth* » en Algérie, Maroc et en Tunisie. C'est une plante utilisée en médecine traditionnelle comme remède pour le traitement des désordres de l'œil et de la vision, des maladies de la peau, du diabète sucré (Bellakhdar, 1997 ; Allali et al, 2008) et de l'hypertension (Eddouks et al, 2002), mais aussi pour le traitement du cancer, des hépatites, des inflammations, et de l'obésité.

En revanche, plusieurs travaux ont été réalisés sur différents extraits de *H. scoparia*, et différentes activités biologiques ont été prouvées. Des extraits aqueux et méthanolique, administrés à des rats traités par l'éthanol, ont diminué d'une façon importante, le stress Oxydative et l'altération hépatique engendrés par la toxicité de l'éthanol (Bourogaa et al., 2013 ; Bourogaa et al, 2014).

Ces activités hépato-protective et antioxydante, ont été reliées à la présence de composés phénoliques dans la plante (Bourogaa et al, 2014). De plus dans un autre travail, l'équipe de Bourogaa a aussi démontré que *H. scoparia* est efficace contre les cellules leucémiques, et les molécules responsables sont les flavonols triglycosides (Bourogaa et al., 2011).

D'autre part *H. scoparia* s'est révélée aussi puissante contre les mollusques, plusieurs extraits ont été testés, et leur activité molluscicide a été prouvée. Ces travaux ont aussi identifié la molécule ayant la plus importante activité, il s'agit d'un alcaloïde, le N-methylisosalsole (Mezghani-Jarraya et al., 2009). Récemment un extrait éthanolique de *H. scoparia*, a montré une activité d'inhibition de la mélanogénèse in vitro, cette activité a été attribuée au catéchol et à des dérivés tétrahydroisoquinoliniques (Chao et al, 2013).

Chapitre II

Etat des connaissances Sur les paramécies.

I. Rappel sur la biodiversité microbienne :

Un des aspects les plus fascinants et les plus attrayants du monde microbien est son extraordinaire diversité avec ces trois domaines d'êtres vivants : Bacteria, Archea et Eucarya.

Le domaine Bacteria comprend un règne : le règne des Eubactéries (les vraies bactéries).

Le domaine Archea (du grec *arkhaios*, ancien) comprend aussi un règne : le règne des Archaeobactéries (les bactéries anciennes).

Le domaine Eucarya comprend quatre règnes qui incluent : les champignons, les algues, les protozoaires et tous les autres règnes.

Les Archaeobactéries, les Bactéries et les Eucaryotes d'aujourd'hui sont tous le produit de milliards d'années de sélection naturelle et tous hautement adaptés à l'environnement actuel et aucun d'entre eux n'est « primitif ».

I.1 Rappel sur les protistes :

En systématique, selon la classification classique, le terme Protiste (du grec *Protos* = Premier) désigne l'un des règnes du vivant regroupant tous les êtres vivants mobiles et Unicellulaires.

Le règne des Protistes se divise généralement en deux parties : les Protozoaires et les Protophytes.

Les Protozoaires sont des organismes unicellulaires, formant une entité paraphylétique, ils possèdent une cellule Eucaryote (c'est à dire possédant un vrai noyau, contrairement aux Bactéries, dites Procaryotes), très différenciée qui remplit de nombreuses fonctions nécessaires à la vie et comportant des organites complexes : "vacuoles pulsatiles", "cils", "flagelles" (**Patterson, 1999**).

On leur distingue cinq sous-embranchements (**Adl et al., 2005**) :

- Les Actinopodes qui émettent de fins pseudopodes rayonnants.
- Les Cnidosporidies sont des parasites dont le stade initial est un germe amiboïde et le stade final une spore pourvue d'un filament dévaginable.
- Les Rhizoflagellés qui comprennent les rhizopodes et les flagellés.
- Les Sporozoaires (ou Apicomplexés) sont dépourvus à l'état adulte d'appareil locomoteur. Ce sont des parasites des cellules animales pourvus d'un complexe apical et se reproduisant par sporogonie.
- Les Infusoaires ou Infusoires sont des Protistes de grande taille (jusqu'à 300 µm pour la paramécie).

Ils sont munis d'un macronucléus et d'un micronucléus. On y distingue :

- *Les Holotriches (paramécie).
- *Les Spirotriches ayant une ciliature buccale en spirale à droite (Stylonicchia).
- *Les Péritriches ayant une ciliature buccale en spirale à gauche (vorticelle).

Les Protophytes sont des organismes végétaux unicellulaires ou à cellules peu différenciées.

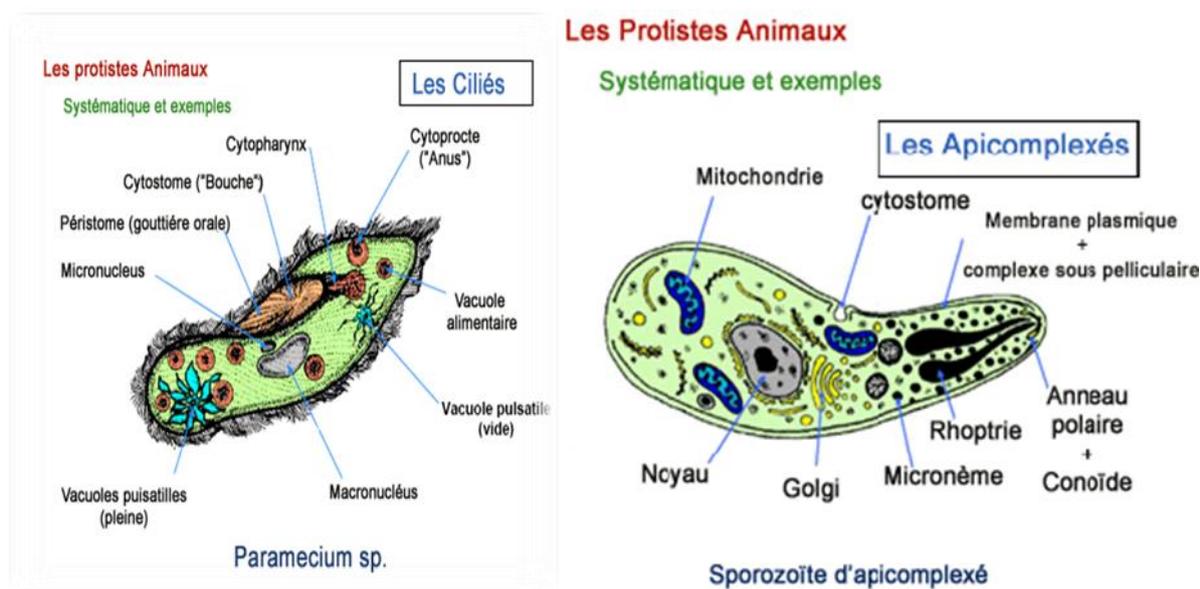


Figure 5 : Schéma d'une cellule protozoaire.

I.2 Phylogénie des Protistes :

Les relations évolutives entre les divers groupes de Protistes, et même la composition de ces derniers, sont toujours un sujet de controverse. Cependant, certaines propositions pour une phylogénie naturelle ont été faites fondées sur les séquences d'ARNr et d'autres techniques de biologie moléculaire (Purves et al., 2000).

Pour la classification phylogénétique moderne, le règne des Protistes n'est plus pertinent. Certains Protistes sont rattachés aux Opisthocoèles d'autres à la lignée des algues brunes (Straménopiles) ou à la lignée verte des algues et plantes terrestres (Chlorophyta). D'autres Protistes sont divisés en lignées monophylétiques qui pourraient avoir rang de règne. Enfin, la position d'autres Protistes aux affinités incertaines est encore en cours d'étude.

Au total les scientifiques reconnaissent aujourd'hui une soixantaine de lignées. De plus, en phylogénétique moderne (figure 6), végétal et animal deviennent des termes obsolètes (Cavalier Smith et al., 2003).

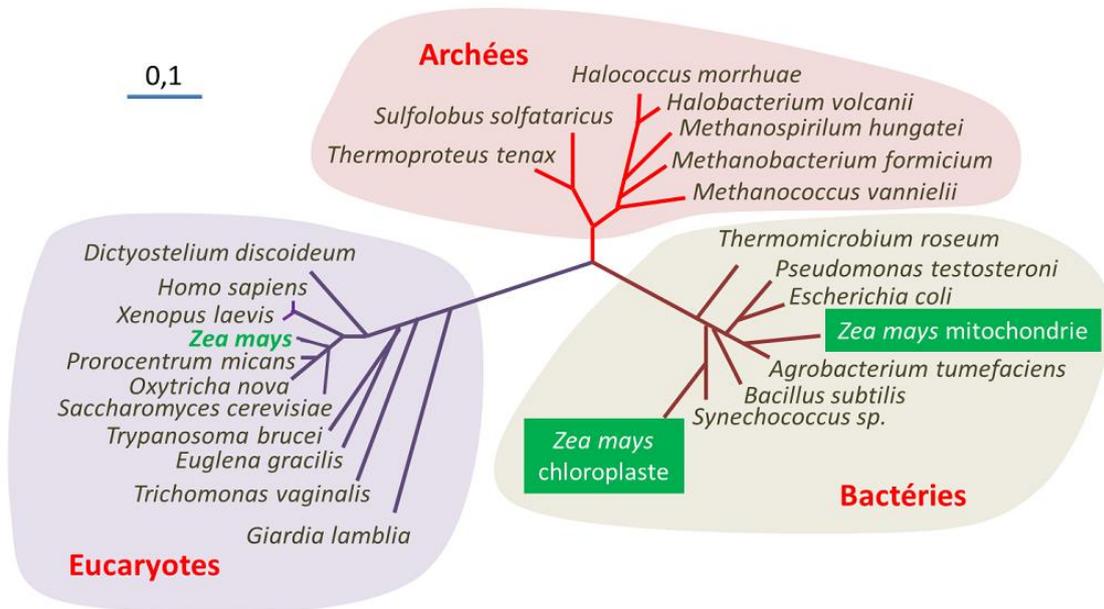


Figure 6 : Position du genre *Paramecium* dans le système « Trois domaines ».

I-3- Taxinomie :

Les différentes espèces de paramécie ont été connues depuis plusieurs années, mais c'est en 1950 et grâce aux contributions de Fauré-Frémiet (1924) que le genre *Paramecium* doit sa position systématique en tant que cilié. Ses observations ont été confirmées par Corliss (1961) et Roque (1961).

D'après Müller, 1773 (Cudmore et al., 1977), les paramécies appartiennent au :

Règne : Protista

Embranchement : Ciliophora

Classe : Oligohymenophora

Ordre : Peniculida

Famille : Parameciidae

Genre : *Paramecium*

La systématique actuelle du genre *Paramecium*, après Corliss (1961) et Honigberg (1964), peut être établie comme suit :

Phylum : Protozoa

Subphylum : Ciliophora

Classe : Ciliatea

Sous-classe : Holotrichia

Ordre : Hymenostomatida

Sous-ordre : Peniculina

Famille : Parameciidae

Paramecium caudatum, espèce la plus courante et la mieux connue, de plus elle est largement utilisée comme matériel de recherche (**Beaumont et Cassier, 1998**).

II. Rappels sur la paramécie (*Paramecium sp.*) :

Les paramécies sont des organismes unicellulaires (Protozoaires), de forme oblongue, dont le corps uniformément couvert de cils (ciliés, holotriches) est fréquemment visible à l'œil nu ; en effet, leurs dimensions sont, selon les espèces prises en considération, comprises entre 60 et 350 μ .

Les représentants du genre *Paramecium* sont parmi les plus fréquentes des Protozoaires. Ils sont très abondants dans les eaux contenant des débris végétaux ou dans les infusions de foin (infusoires) car les bactéries dont ils se nourrissent pullulent à la surface des végétaux en décomposition. Le genre *Paramecium* inclut environ 15 espèces, actuellement enregistrées, mais moins de 10 peuvent être considérés comme *Paramecium* vrai.

En 1928, Wenrich définit les caractéristiques de 8 espèces en termes précis :

P. aurelia, *P. caudatum*, *P. multimicronucleatum*, *P. bursarja*, *P. calkinsj*, *P. polycaryum*, *P. woodruffi* et *P. trichium*.

Kahl (1935) a ajouté la description de : *P. traunsteineri*, *P. nephridjatum*, *P. chilodonides*, *P. glaucum*, *P. putrjnum*, *P. chlorelligerum*, *P. pyriforme* et *P. pseudoputrinum*.

Wichterman (1953) a fait une étude critique détaillée des 16 espèces, mais 2 espèces enregistrées avant par Kahl (1935) (*P. glaucum* et *P. pyriforme*) non pas été étudiées pendant que 2 autres espèces (*P. duboscquj* et *P. ficarium*) ont été mentionnées.

Selon cet auteur, seules les 8 espèces décrites par Wenrich sont bien définies et appartiennent à 2 groupes :

- Groupe Aurelia (3 espèces) : P. caudatum 290 microns
P. aurelia 170 microns
P. mutlimicronucleatum 310 microns

- Groupe Bursaria (5 espèces) : P. bursaria 150 microns
P. trichium 70 microns
P. calkinsi
P. polycaryum
P. woodruffi

Pour chaque espèce il est possible de définir, en ce qui concerne la taille, un polygone de distribution spécifique et de mettre en évidence des différences géographiques ou d'origine nutritionnelle ; ces dernières différences sont fugaces et non transmissibles. Les autres sont si mal définies qu'elles ne peuvent être considérées comme appartenant au genre Paramecium.

Quelques espèces ont été ajoutées au genre Paramecium et sont :

P. silesiacum, P. jenningsi, P. porculus, P. arcticum, P. africanum et P. pseudotrichium. Ces espèces ont été établies sur la base des critères morphologiques qui sont les seuls qui peuvent être employés efficacement et facilement.

Par leur grande taille et l'extrême facilité de leur élevage, les paramécies constituent un matériel de choix pour l'étude morphologique, cytologique et cytochimique des protozoaires ciliés.

Leur cytoplasme limité par une mince cuticule présente une zone périphérique hyaline et visqueuse, cette cuticule est résistante, souple, et élastique, limite l'amplitude des déformations du corps de la paramécie, elle s'oppose à l'émission de pseudopodes. Après toute déformation, grâce à la présence de cette différenciation superficielle le corps de la paramécie reprend sa forme initiale (**Beaumont et Cassier, 1998**).

Vivant dans un milieu hypotonique par rapport à son cytoplasme, la cellule absorbe constamment l'eau de son environnement par osmose. L'excès d'eau dans le cytoplasme est alors évacué grâce à des vacuoles pulsatiles, où le cytoplasme se contracte périodiquement pour expulser l'eau à travers la membrane plasmique.

La paramécie (figure 7) possède deux noyaux contenant le matériel génétique à fonctions complémentaires :

. **Le macronucléus** : volumineux, polyploïde, ovoïde dont la fonction est indispensable à la survie de la cellule car il assure toutes les fonctions, végétatives.

Il se forme à chaque génération sexuelle par des réarrangements programmés de tout le génome germinal, qui aboutissent à des chromosomes redessinés pour l'expression des gènes.

• **Le micronucleus** : sphérique, de taille réduite, diploïde et souvent difficile à observer. Il subit la méiose et transmet l'information génétique à la génération sexuelle suivante (**Cohen, 2007**).

S'il existe un seul micronucleus chez *Paramecium caudatum*, *Paramecium aurelia* en possède deux.

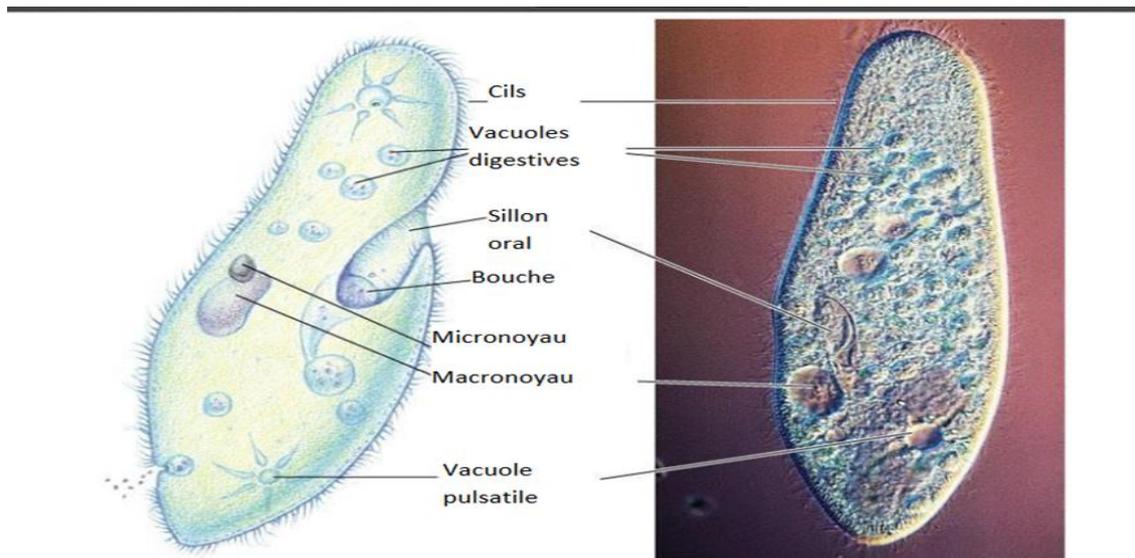


Figure 7 : Structure d'une paramecie sous microscope (**Génoscope, 2007**).

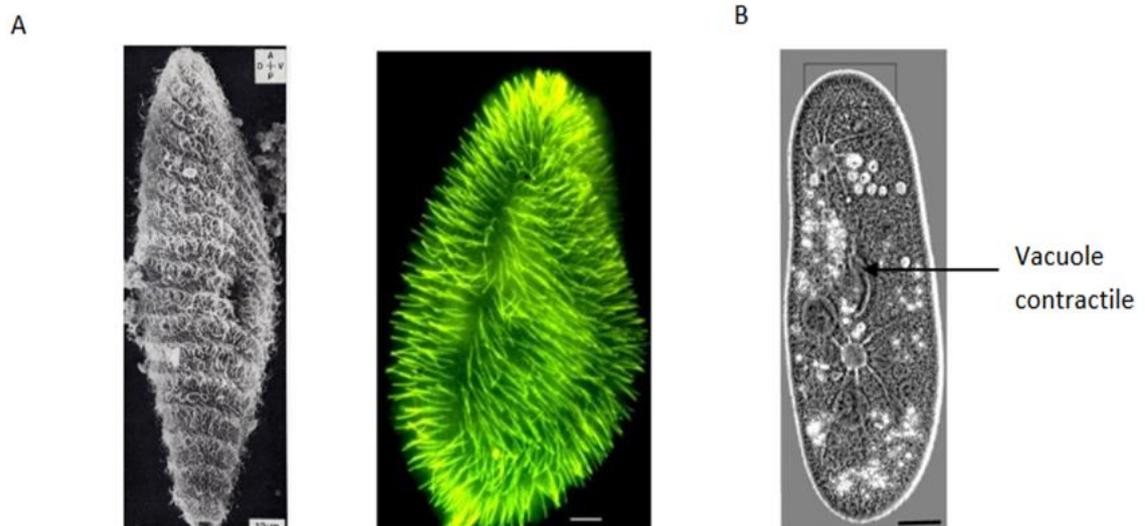


Figure 8 : Présentation de la paramecie.

A- Vue d'une paramecie en microscopie électronique à balayage, la ciliature d'une paramecie vue en immunofluorescence.

B- Paramécie vue en contraste de phase.

II.1 Mouvement :

Les cils sont le mode de locomotion des paramécies. Ces dernières peuvent diriger les battements de leurs cils pour se déplacer en avant ou en arrière dans un mouvement spiralé. Une paramécie peut effectuer un brusque retrait au contact d'un obstacle.

II.2 Reproduction :

Les paramécies se reproduisent (figure 9) par :

- **Division cellulaire** : les micronucleus se divisant par mitose, le macronucléus se divisant simplement en deux micronucleus fils.

- **Conjugaison** : la conjugaison des paramécies est un processus sexuel de recombinaison génétique (des paramécies individuelles échangent un micronucleus pendant la recombinaison), mais ce n'est pas un processus de reproduction. Les deux mêmes cellules débutent et achèvent le processus et aucune nouvelle cellule n'est créée (**Purves et al., 2000**).

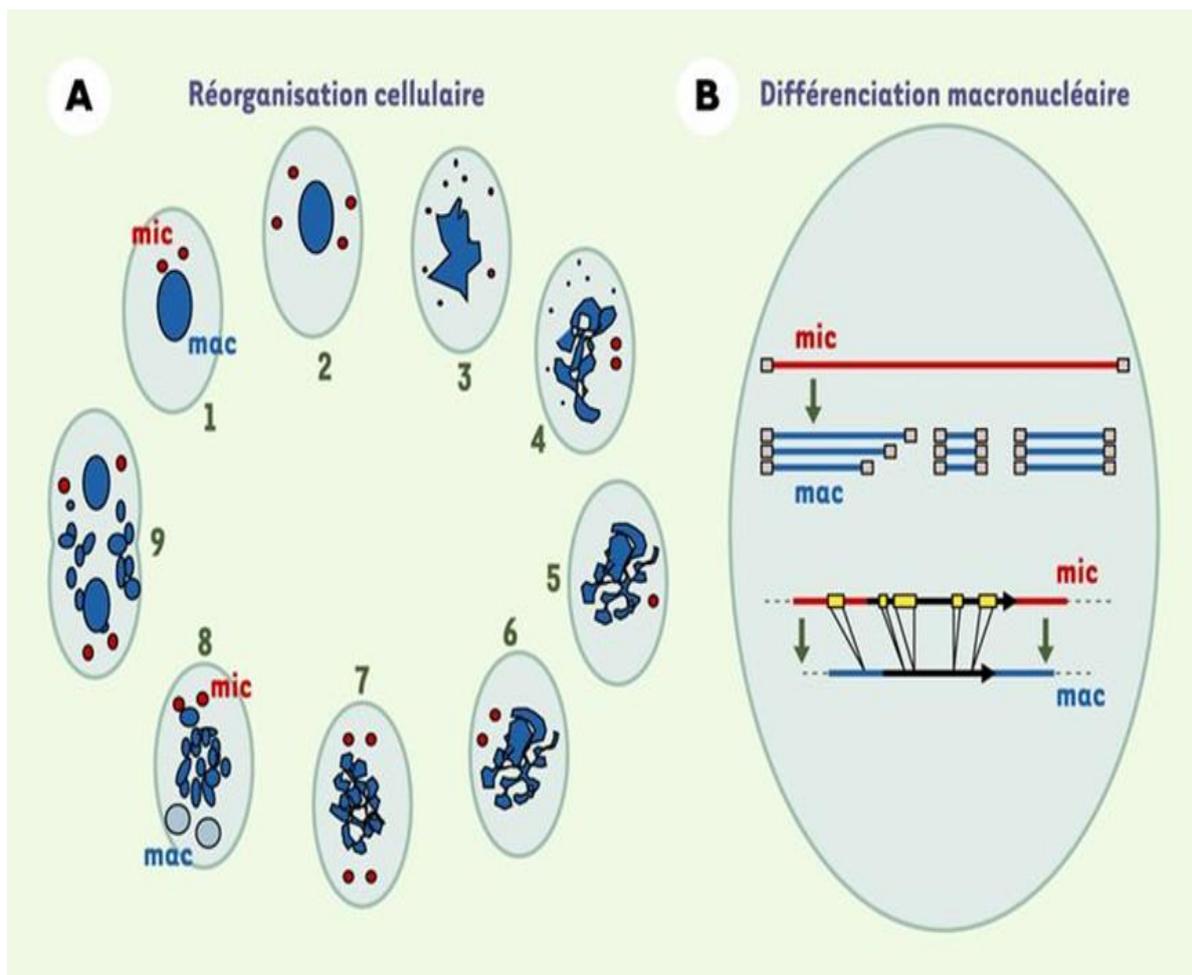


Figure 9 : Cycle sexuel et réorganisation macronucléaire : Événements cellulaires (**Meyer et al., 2005**)

1. La paramécie en croissance végétative possède deux micronoyaux diploïdes (mic, en rouge) et un macronoyau (mac, en bleu) polyploïde (800 à 1 000 n). Des conditions de jeûne modéré induisent la réactivité sexuelle : en présence d'un partenaire de type sexuel complémentaire, la cellule conjuguera ; sinon, elle subira l'autogamie.

2.3. Conjugaison et autogamie déclenchent la méiose des micronoyaux, aboutissant à 8 noyaux haploïdes dont 7 dégénèrent et un seul survit, tandis que le macronoyau entame un processus de fragmentation.

4. Le noyau haploïde survivant subit une mitose.

5. Dans le cas de l'autogamie, les produits de cette mitose fusionnent ; dans le cas de la conjugaison, il y a échange réciproque de l'un des produits de cette mitose et fusion dans chaque conjuguant pour donner un noyau zygotique diploïde.

6.7. Le noyau diploïde subit deux mitoses post-zygotiques. Le macronoyau a achevé sa fragmentation.

8. Les deux noyaux localisés au pôle postérieur de la cellule se différencient en macronoyaux.

9. À l'issue de ce processus sexuels, lors de la première division, les deux macronoyaux nouvellement formés sont répartis entre les deux cellules filles, tandis que les deux micronoyaux subissent chacun une mitose. Lors des divisions suivantes, le macronoyau se divise en même temps que les micronoyaux, tandis que les fragments de l'ancien macronoyau, qui ne répliquent plus leur ADN, sont répartis au hasard dans les cellules filles, et finalement dégradés.

II.3 Alimentation :

La paramécie possède un mécanisme d'alimentation permanent constitué par une cavité buccale (péristome) prolongée vers l'arrière : le vestibule; c'est une cavité tubulaire invaginée dans l'endoplasme (l'endoplasme contient les organites de la nutrition: le péristome et les vacuoles digestives) où les aliments sont collectés par la combinaison de l'action des cils couvrant le corps et les autres cils couvrant le vestibule, les paramécies se nourrissent des organismes comme les bactéries et autres protozoaires (**Samworth et Morgan, 2000**).

II.4 Respiration :

Les paramécies sont avides d'oxygène, leur respiration se fait par des échanges gazeux avec l'environnement exclusivement par la surface corporelle car présentant un rapport surface /volume donc surface / masse corporelle élevé (**Wehner et Gehring, 1995**).

II.5 Génomique et mécanismes d'évolution de la paramécie :

La paramécie est l'un des premiers organismes unicellulaires à avoir été observé lors de l'invention du microscope au dix-septième siècle. Depuis lors, sa facilité de culture, sa grande taille, et la facilité d'observation de ses fonctions cellulaires variées en ont fait un modèle d'étude privilégié pour les scientifiques. Depuis 50 ans, une petite communauté de biologistes américains, européens et japonais l'utilise pour l'étude de l'organisation cellulaire et de l'hérédité, en particulier des phénomènes épigénétiques.

Des chercheurs du CNRS et du Géosciences ont réalisé le séquençage du génome somatique de la paramécie et découvert qu'il possède près de 40000 gènes, contre "seulement" 25000 pour l'homme. Ils ont ensuite démontré que ce patrimoine exceptionnel résultait d'au moins trois duplications successives de tout le génome.

Les duplications de génome sont des événements rares mais qui se sont produits de manière récurrente au cours de l'évolution des eucaryotes. Depuis longtemps, on postulait qu'elles pouvaient être à l'origine de transitions évolutives majeures, car le doublement du nombre de gènes offre un large potentiel d'innovation, et donc d'adaptation des espèces (**Cohen, 2007**).

III. Choix de *Paramecium* Comme modèle biologique :

L'espèce que l'on utilise lors de notre étude est choisie afin de répondre au mieux à ces critères, qui se traduisent par les contraintes suivantes :

- Le taxon est présent, abondant et facilement identifiable (**Marchese et Brinkhurst., 1996**).
- Il joue un rôle important dans le fonctionnement de l'écosystème (**Kosmala et al., 1999**).
- Leur facilité à être cultivés en laboratoire, leur manipulation rapide (cycle de vie court) ainsi que leur moindre coût (**Beal et Anderson 1993 ; Kamola 1995**).
- Il est sensible au produit testé (**Mc Pherson et Chapman 2000**).
- Produit et éventuellement sa bioaccumulation (**Chapman, 2001**).
- Leur mobilité grâce à des cils possédant la même structure que ceux des cellules épithéliales des mammifères (**Druez et al., 1989 ; Gräf et al., 1999**).

Paramecium sp. est l'une parmi de nombreuses espèces qui soit susceptibles de satisfaire au moins partiellement ces critères. En effet, cette espèce eucaryote unicellulaire est, d'une part, facile à cultiver, sa taille permet de suivre, à faible grossissement, cycle cellulaire, conjugaison,

Comportement, sécrétion et morphogénèse, et de cribler visuellement des mutations touchant une gamme de fonctions cellulaires. Plusieurs particularités biologiques en facilitent l'étude biochimique. D'autre part, le processus d'autogamie, qui produit des clones 100% homozygotes et simplifie l'analyse toxicologique. L'ensemble de ces données expérimentales nous ont donc conduits à choisir *Paramecium* sp. Comme modèle d'étude.

Chapitre III

Matériels & méthodes

I. Préparation des extraits à partir de 3 plantes *P.harmala*, *Artemisia herba Alba*, *hammada scoparia* :

I.1 Le choix de la plante :

Les trois plantes choisies comme support naturel en vue de tester leur effet antiprotozoaire, en effet, parmi tant d'autres ces plantes sont utilisées par la population des régions steppiques à des fins médicinales pour lutter contre les diarrhées, les vomissements, certaines formes d'intoxication, ainsi que pour améliorer la saveur du café.

I.2 Préparation des extraits des plantes

Les plantes, sont récoltées dans les régions d'El Kheither, wilaya d'El Bayadh. On procède d'abord à un séchage à l'ombre à température ambiante puis à un fin broyage, le but étant d'obtenir un extrait aqueux par les différents moyens prévus à cet effet et disponible dans le laboratoire de la faculté des sciences département de biologie de l'université de Saida.

I.2.1 La récolte de la matière végétale :

La récolte a été faite cette année (2020) à partir du début du mois de février où cette plante pousse en abondance dans la région.

Après cueillette d'une quantité suffisante, les échantillons ont été séchés dans une étuve.



Figure 10 : séchage des plantes dans l'étuve dans l'étuve du laboratoire de l'université.

Après un séchage de 7 jours, les plantes sont broyées jusqu'à obtention d'une poudre de couleur vert foncé qui est ensuite conservée dans des boîtes hermétiques en plastiques, pour qu'elle soit utilisées ultérieurement. On a procédé d'abord au broyage et tamisage des plantes ce qui nous a donné une poudre qui nous permis d'avoir une plus grande surface de contact avec l'eau, permettant d'améliorer le rendement à l'extraction.



Figure 11 : Broyage manuel de la plante.

I.2.2 Préparation de l'extrait aqueux de *P.harmala*:

I.2.2.1 Par Macération :

Il s'agit d'une technique d'extraction solide-liquide destinée à retirer d'une substance solide les espèces chimiques qu'elle contient en les diluants dans un liquide. La macération est en effet une extraction « à froid », ce qui ne signifie pas qu'elle s'accompagne d'un refroidissement mais tout simplement qu'elle se fait à température ambiante sans bénéficier d'une hausse de température qui accélère la plupart des phénomènes chimiques. **(Lehout R et Laib M – 2015)**

Matériel :

Le matériel utilisé pour réaliser cette extraction est :

- 12.5 g de *P.harmala* -Bécher
- 250 ml d'eau distillé -Agitateur
- Papier filtre + entonnoir + erlenmeyer

-Papier aluminium + flacon en verre.

Protocole :

Dans un bécher on met les 12.5 g de poudre de *P.harmala* et les 250 ml d'eau distillé, puis on les place dans un agitateur pendant 24 heures.

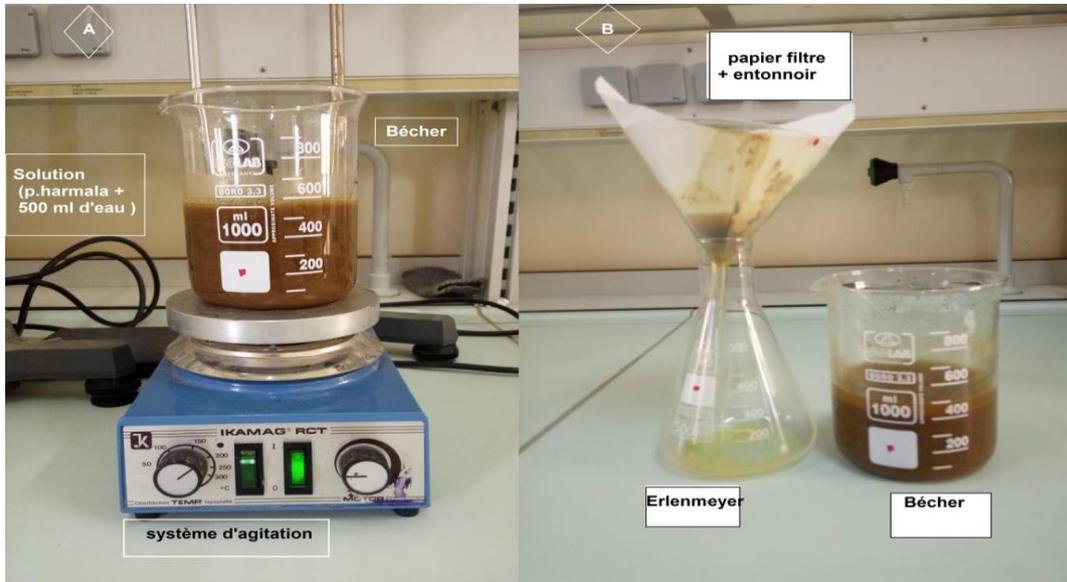


Figure 12 : Protocole de macération (harmala). **Figure 13** : Protocole de filtration (harmala)

Après les 24 heures on a procédé à la filtration, puis on récupère le filtrat dans un flacon en verre recouvert par de l'aluminiumn, la conservation s'effectue à 4°C.

Note : Pour réaliser les tests in vitro on a préparé l'extrait aqueux par macération en trois concentrations différentes 1%, 3% et 5 % (1 g pour 100ml, 3g pour 100ml et 5g pour 100ml).



figure 14 : Flacon avec extrait final.

I.2.2.2 Par Décoction :

La décoction est une méthode d'extraction consistant à chauffer avec d'eau, jusqu'à ce que cette dernière soit bouillisse, afin d'extraire les principes actifs. (Lehout R et Laib M – 2015)

Matériel :

- 12.5 g de *P.harmala* -250 ml d'eau distillé.
- chauffe - Ballon.
- Réfrigérant associé d'une source d'eau froide.
- Erlenmeyer + entonnoir + Papier filtre. -Flacon en verre + papier aluminium.

Protocole :

Dans un ballon numéro 1 on met 12.5 g de *P.harmala* et les 250 ml d'eau. On les place dans un chauffe-ballon associé au réfrigérant (figure 15).

Après 02 heures on filtre notre solution.

Le filtrat est conservé à 4°C dans un flacon en verre recouvert par de l'aluminium (figure14).

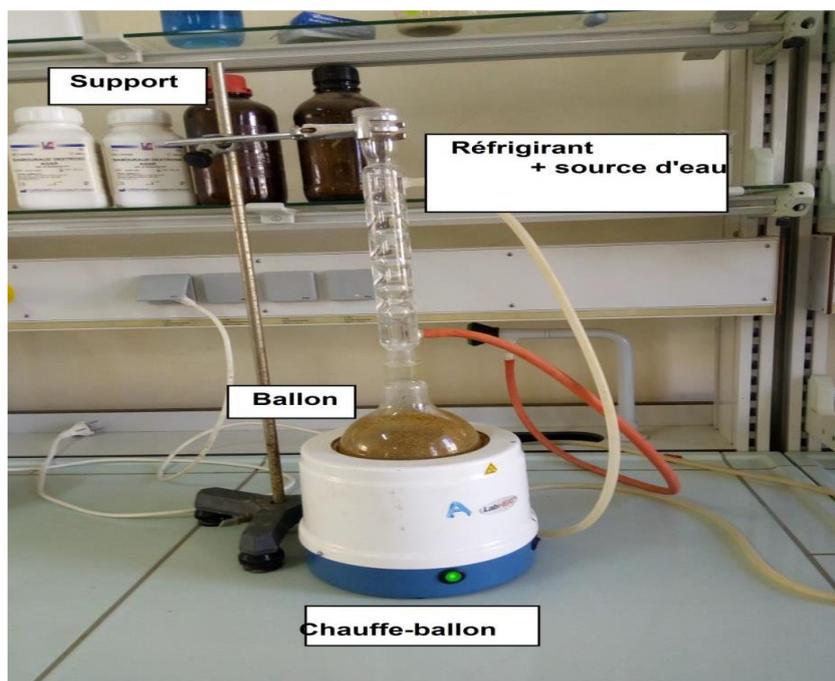


Figure 15: Montage de l'extraction par décoction.

I.2.2.3 Par la méthode de soxhlet :

Un extracteur de Soxhlet (ou appareil de Soxhlet) est une pièce de verrerie utilisée en chimie analytique et en chimie organique qui permet de faire l'extraction par solvant en continu d'une espèce chimique contenue dans une poudre solide. Elle requiert nettement moins de solvant que la méthode des macérations successives pour une même efficacité d'extraction. **(Penchev p – 2010)**

Matériel :

- 12.5 g de *p.harmala*
- 250 ml d'eau distillé.
- Ballon.
- Chauffe-ballon
- Extracteur de soxhlet.
- cartouche en cellulose.
- Réfrigérant associé à une source d'eau froide.
- Flacon en verre +aluminium

Protocole :

On place les 12.5 g de *P. harmala* dans la cartouche, puis dans le réservoir de soxhlet et remplir le ballon avec l'eau distilles. Dans les 12.5 g de *P.harmala* on met 250 ml d'eau distillé et on surmonte l'extracteur d'un réfrigérant. A l'aide d'un chauffe ballon, on porte le solvant à ébullition (figure 16).

Le produit passe par la première tubulure et est condensé par le réfrigérant. Il tombe alors dans le réservoir contenant la cartouche et solubilise la substance à extraire .

Le réservoir se remplit dès que le niveau de solvant est à la hauteur du deuxième coude, le réservoir se vidange automatiquement. Le solvant et la substance à extraire sont entraînés dans le ballon. Pour réaliser une extraction correcte d'une substance, on réalise trois cycles tels que décrit précédemment.

- Le 1er cycle commence après 01 heure et 09 minutes de la réalisation de notre protocole.

-Le 2eme s'effectue après 11 minutes du 1er cycle.

-Le 3eme et dernier cycle se termine 6 minutes après le 2eme cycle. L'extrait final est conservé à 4°C dans un flacon recouvert par de l'aluminium (figure14).

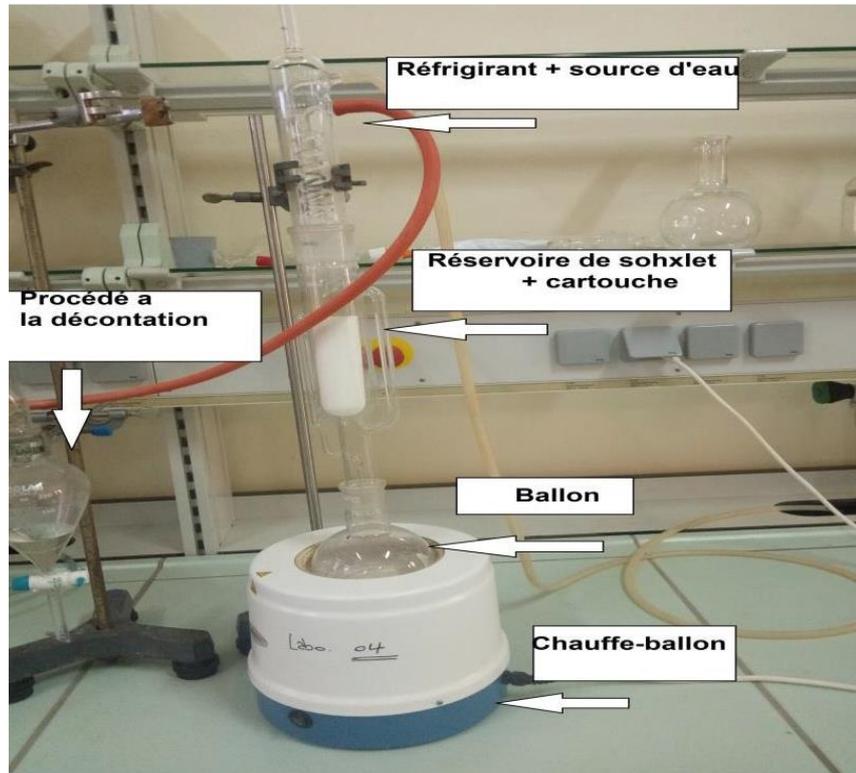


Figure 16 : Le montage de soxhlet.

I.2.3 Préparation de l'extrait aqueux d'*Artemisia herba alba* :

Matériel :

- des béchers
- des agitateurs magnétiques
- Barreau aimanté
- Erlenmeyer
- papier filtre
- Entonnoir
- eau distillé
- verre de montre
- mortier et pilon
- pissette
- balance
- flacon
- étuve
- cristallisoir
- cuillère
- Papier aluminium

I.2.3.1 Extraction par macération :

Protocole :

La première étape on utilise 10 grammes de poudre de feuilles et on ajoute 200 ml d'eau distillé on met le mélange sur un agitateur pendant 24h, puis on filtre avec du papier filtre.

. Après les 24 heures on a procédé à la filtration puis récupère le filtrat dans un flacon en verre recouvert par de l'aluminium, la conservation s'effectue à 4°C. (Figure 17,18).



Figure 17 : protocole de macération

(Herba alba)



Figure 18 : protocole de filtration

(Herba alba)

I.2.3.2 Extraction par décoction :

Protocole :

La première étape : on utilise 10 grammes de poudre de feuilles et on ajoute 200 ml d'eau distillé on met le mélange sur un agitateur pendant 1h30min à 100°, puis on filtre avec du papier filtre. (KONKON et al., 2006)

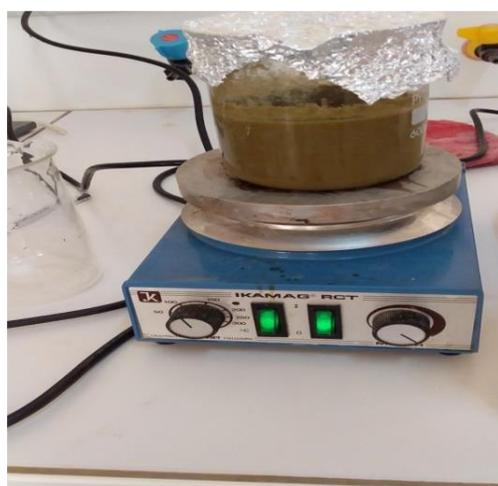


Figure 19 : mélange de décoction

Figure 20 : filtration de mélange

Le filtrat ainsi obtenu a été évaporé à sec dans une étuve à une température de 40°C, pour donner un extrait aqueux (EA).

I.2.4 Préparation de l'extrait aqueux Hammada scoparia :

I.2.4.1 Préparation par décoction :

Matériel :

-25g de - 500ml d'eau distillé.

-chauffe - Ballon.

-Réfrigérant associé d'une source d'eau froide.

-Erlenmeyer + entonnoir + Papier filtre. -Flacon en verre + papier aluminium.

Protocole :

- Mettre la plante en poudre dans l'eau distillée et chauffer sur un agitateur magnétique pendant 30 minutes à 10°C,
- Après 30 minute ouverture du bouton de température à 100 °C pendant 1 heure.
- Refroidissement du mélange puis filtration sous vide, le filtrat ainsi obtenu a été évaporé à sec dans une étuve à une température de 40°C, pour donner un extrait aqueux (EA).
- Nous avons préparé deux extraits :

Extrait 1 : le filtrat ainsi obtenu a été évaporé à sec dans une étuve à une température de 40°C, pour donner un extrait aqueux (EA) puis calcul du rendement.

Extrait 2 : conserver le filtrat au réfrigérateur à +4°C pour son utilisation dans l'évaluation de l'activité antiprotozoaire in vitro.

II. Préparation milieu culture de paramécies :

II.1 Matériel biologique :

Nous avons utilisé une culture d'un micro-organisme uni-cellulaire d'eau douce :

Paramecium sp qui constitue un bon bio-indicateur de pollution chimique d'eau douce de plus, les paramécies présentent des caractères physiologiques comparables à celle des cellules épithéliales des êtres humains, ce protiste constitue un excellent modèle biologique pour la modélisation des tests antiprotozoaire.

II .2 Méthodes

II 2.1 Méthodes de culture des paramécies :

La méthode utilisée est celle de (**Beaumont et cassier, 1998**) et comprend :

a. Une culture mixte : il est effectué selon les étapes suivantes

- Du foin est coupé en petits morceaux et infusé dans un récipient contenant de l'eau de robinet ou l'eau de pluie c'est possible.
- La préparation est laissée dans un lieu tiède (15 à 20°C), sombre et bien aéré.

Quelques jours plus tard (3 à 4 jours) apparaît un voile bactérien sur la solution.

- On filtre l'infusion et on observe, sous microscope optique et sans coloration, les premiers ciliés (Ces organismes se nourrissent au dépend du voile bactérien).

b. Une culture pure (repiquage) :

Pour suivre pendant plusieurs semaines la descendance d'une paramécie ou pour obtenir un grand nombre de ces Protozoaires, il est nécessaire de réaliser des cultures pures (**Wichterman, 1953**).

Le milieu de culture est préparé selon la méthode de (**Beisson et al., 2010**).

- Pour obtenir une culture pure nous avons utilisé l'infusion des laitues.
- On fait une répartition du milieu de culture dans des flacons de 250 ml de l'eau puis, on filtre le liquide chaud.
- On Laisse reposer au moins une nuit avant l'ensemencement (**Beaumont et Cassier, 1998**).
- L'ensemencement : il se fait au fur et à mesure des besoins, le milieu est dilué (2 parts de milieu de culture mère pour une part d'eau distillée).

- On récupérer quelques cellules des paramécies à l'aide d'une pipette et on l'ajoute au milieu de culture.
- On laisse 48h, qui est le temps nécessaire pour la multiplication des paramécies.

II. 2.2 La confirmation de la paramécie :

Nous avons confirmé la présence du parasite « Paramécium sp » dans la culture obtenue.

L'examen direct s'effectue sous microscope optique (objectif x40 et objectif x100). Après confirmation de la présence des paramécies à cilié, nous avons procédé à leur repiquage sur de nouveaux milieux de culture et à leur mise à l'étuve à 26° pendant 7 jours.

II. 2.3 Mode de traitement :

On subdivise la culture pure sur 10 erlenmeyers contenant chacun 200ml de culture pure, nous avons retenu :

- Un erlenmeyer pour le témoin ;
 - Trois erlenmeyers d'Extrait aqueux à 1%, 3% et 5% traite par Peganum harmala.
 - Trois erlenmeyers d'Extrait aqueux à 1%, 3% et 5% traite par Hammada Scoparia.
 - Trois erlenmeyers d'Extrait aqueux à 1%, 3% et 5% traite par Artemisia herba alba.
- On repique à partir de la culture mère de paramécie 2ml d'extrait en prélevant au niveau de la surface de la culture pure à l'aide d'une seringue.
 - On laisse la culture pendant 48h.

II .3 Evaluation de l'activité antiprotozoaire des 3 plantes :

Le test de l'activité paramécium de l'extrait aqueux des 3 plantes se fait par :

- On Ajout 1 ml de l'extrait aqueux à 1%, 3% et 5% dans les neuf tubes sec contenant la souche parasitaire (figure 23).
- Puis on compter les cellules au microscope.

- J0: Observation microscopique.
- J1: Observation microscopique.
- J2: Observation microscopique.
- J3: Observation microscopique.
- J4: Observation microscopique.
- J5: Observation microscopique.
- J6 : Observation microscopique.
- J7 : Observation microscopique.

L'observation microscopique est réalisée sous un microscope photonique au grossissement objectif (x100) a (x400). **(D)** **(E)**

- Lors de ces observations on prend en considération : le mouvement, morphologie, la taille, nombre, et la division cellulaire.
- Le résultat de ces tests est comparé à une culture témoin.
- Chaque jour on compter les cellules puis on ajout 1 ml d'extrait aqueux des 3 plantes.



Figure 23 : Le mélange de la souche protozoaire avec l'extrait de chacun des 3 plantes.

II .4 Calcul du pourcentage de réponse :

C'est une évaluation de la réponse du protiste vis-à-vis de l'extrait aqueux, les valeurs positives de pourcentage de réponse indiquent une inhibition de la croissance, tandis que les valeurs négatives de pourcentage de réponse indiquent une stimulation de la croissance **(Wong et al., 1999)**.

$$PR = \frac{CN - EN}{CN} \times 100$$

PR : pourcentage de réponse

CN : nombre des cellules témoins

EN : nombre final des cellules traitées

Chapitre IV

Résultats & Interprétation

I. Préparation des plantes

I.1 Rendement de l'extrait aqueux de la plante *Péganum harmala* :

Nous avons procédé à l'extraction des solutions aqueuses à partir de *Peanum harmala* par trois méthodes différentes : la macération, la décoction et la méthode de soxhlet.

Afin de comparer les rendements de chacune d'entre elles, nous avons à cet égard standardisé les quantités : 12.5g de *P. harmala* + 250 ml d'eau distillée. On a calculé le rendement (**R%**) après l'évaporation de l'extrait résultant de chaque méthode utilisée par l'équation suivante :

$$\mathbf{R\%} = \mathbf{mf/mi} \times 100$$

R% : Le rendement.

mi : La masse initiale de matière végétale.

mf : La masse finale (l'extrait en poudre après le séchage).

| Méthode de l'extraction | MI (g) | MF (g) | RENDEMENT % |
|-------------------------|--------|--------|-------------|
| Macération | 12.5 | 5.3 | 42.2 |
| Méthode de soxhlet | 12.5 | 1.9 | 15.5 |
| Décoction | 12.5 | 3.88 | 31 |

Tableau 02 : Résultats du rendement de l'extrait aqueux de *Peganum harmala*.

Parmi les trois méthodes d'extraction, le meilleur rendement est obtenu par macération (**R% = 42.2 %**) par rapport les deux autres méthodes (décoction **et méthode de soxhlet**), la pluparts des manipulateurs préfèrent cette méthode, c'est généralement une extraction à froid et par conséquent elle limite la libération et la perte de substances chimiques volatiles dans l'air. Elle permet aussi d'éviter l'altération de substances organiques fragiles qui peuvent à température plus élevée réagir et se dégrader, elle nécessite également moins de dispositif spécial de chauffage, il s'agit là d'une méthode simple et peu coûteuse.

Cependant, il existe souvent un risque de contamination et de prolifération bactérienne par rapport aux autres méthodes, et ceci à cause de sa durée relativement longue nécessitant souvent plusieurs heures, de plus, la solubilité est moins bonne dans le solvant à froid.

La décoction est une très ancienne méthode, mais qui arrive cependant juste derrière la macération en terme de rendement, (**R% = 31 %**), le rendement le plus faible a été obtenu par la méthode de soxhlet qu'il a un rendement faible (**R% = 15.2 %**) (**graphique 24**), mais cette méthode moderne et facile est plus rapide et prend beaucoup moins de temps que les deux précédentes. (**F**) (**G**)

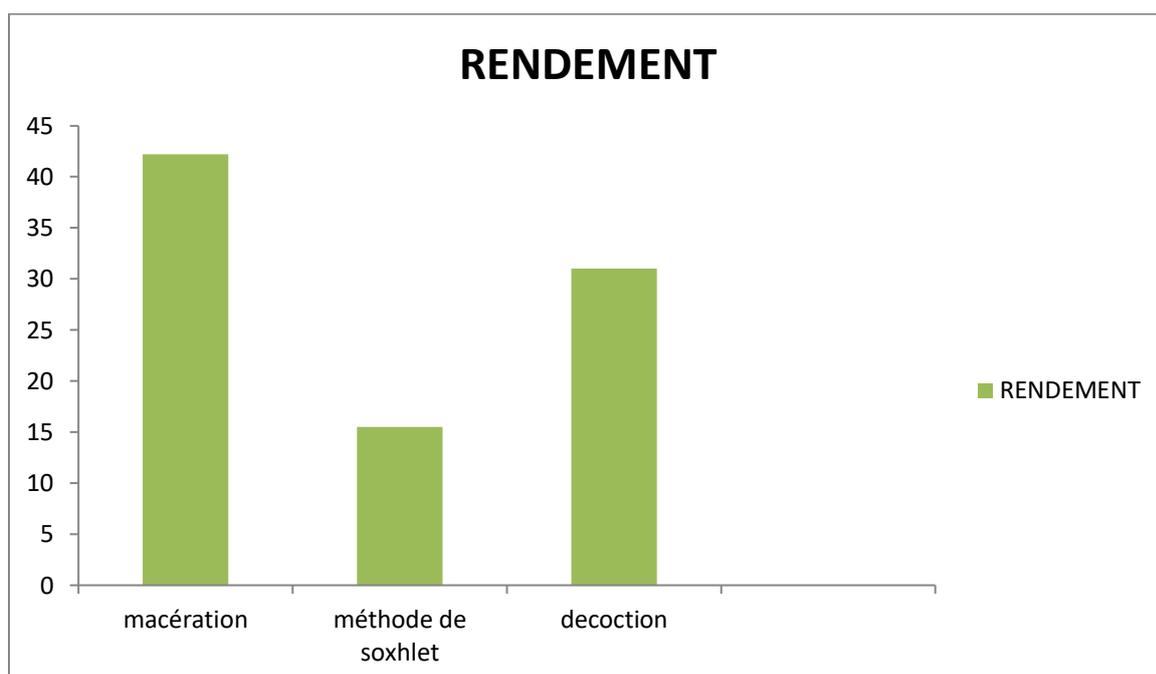


Figure 24 : Graphique du rendement obtenu pour chaque méthode d'extraction (*Peganum harmala*).

I.2 Rendement de l'extrait aqueux de la plante d'*Artemisia herba alba* :

Nous avons : 10g de *H. scoparia* + 200 ml d'eau distillée. On a calculé le rendement (R%) après l'évaporation de l'extrait.

Les résultats de cette manipulation sont représentés dans le **tableau03**.

| Méthode de l'extraction | MI (g) | MF (g) | RENDEMENT % |
|-------------------------|--------|--------|-------------|
| Macération | 10 | 1.33 | 13.3 |
| Décoction | 10 | 2.1 | 21 |

Tableau 03 : Résultats du rendement de l'extrait aqueux d'*Artemisia herba alba*.

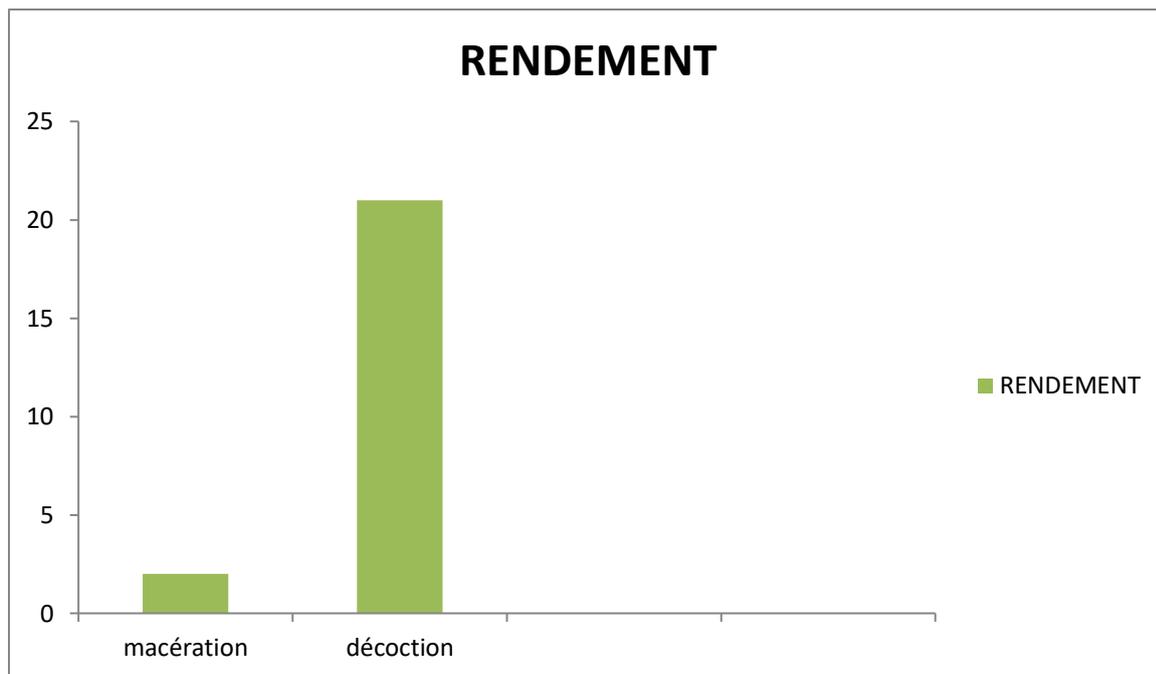


Figure 25 : Graphique du rendement obtenu pour chaque méthode d'extraction (*Artemisia herba alba*)

Le rendement le plus élevé a été obtenu par la méthode d'extraction par décoction suivie par la méthode d'extraction par macération.

I.3 Rendement de l'extrait aqueux de la plante de *Hammada scoparia* « Remth » :

Nous avons à cet égard standardisé les quantités : 25g de *H. scoparia* + 500 ml d'eau distillée. On a calculé le rendement (R%) après l'évaporation de l'extrait.

$$R\% = mf/mi \times 100$$

| Méthode de l'extraction | MI (g) | MF (g) | RENDEMENT % |
|-------------------------|--------|--------|-------------|
| Décoction | 25 | 3.675 | 14.7 |

Tableau 04 : Résultats du rendement de l'extrait aqueux de *Hammada scoparia*.

Les résultats obtenus pour les extraits, montrent que le rendement le plus élevé est celui de l'extrait de *Haloxylon scoparium* (Remth) séché à l'étuve (14,7 %) En parallèle.

II. Teste in vitro et la confirmation de la paramécie :

Nous avons confirmé la présence des paramécies mobile vivant, la lecture se faite sous microscope optique (**objectif x100**)



Figure 26 : La forme des paramécies sous le microscope optique (X100).

Ont observé au bout de quelques jours un voile grisâtre qui s'est développé en surface. Il est dû à la présence d'êtres vivants microscopiques observables seulement au microscope

Les paramécies : sont des êtres vivants formés d'une seule cellule. Leurs cils présents sur toute la membrane leur permettent de bouger et de se nourrir.

III. Evaluation de l'activité antiprotozoaire des 3 plantes :

III.1 culture témoin :

On observe que le nombre des paramécies dans le milieu de cultures témoin est augmenté en fonction du temps.

Les paramécies témoins ont des formes normales allongées (**figure 27**), (**figure 28**), avec un déplacement selon une trajectoire bien définie.



Figure 27 : Observation microscopique Des paramécies témoins (X40).

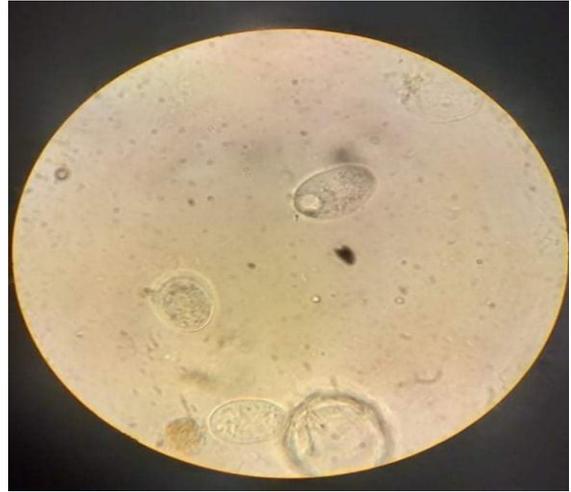


Figure 28 : observation microscopique Des paramecie temoins (X100).

| Les jours | J1 | J2 | J3 | J4 | J5 | J6 | J7 |
|-----------------------------------------|----|----|----|----|----|----|----|
| N des paramécies dans la culture témoin | 32 | 35 | 38 | 41 | 44 | 48 | 51 |

Tableau 05 : nombre des paramécies dans la culture témoin

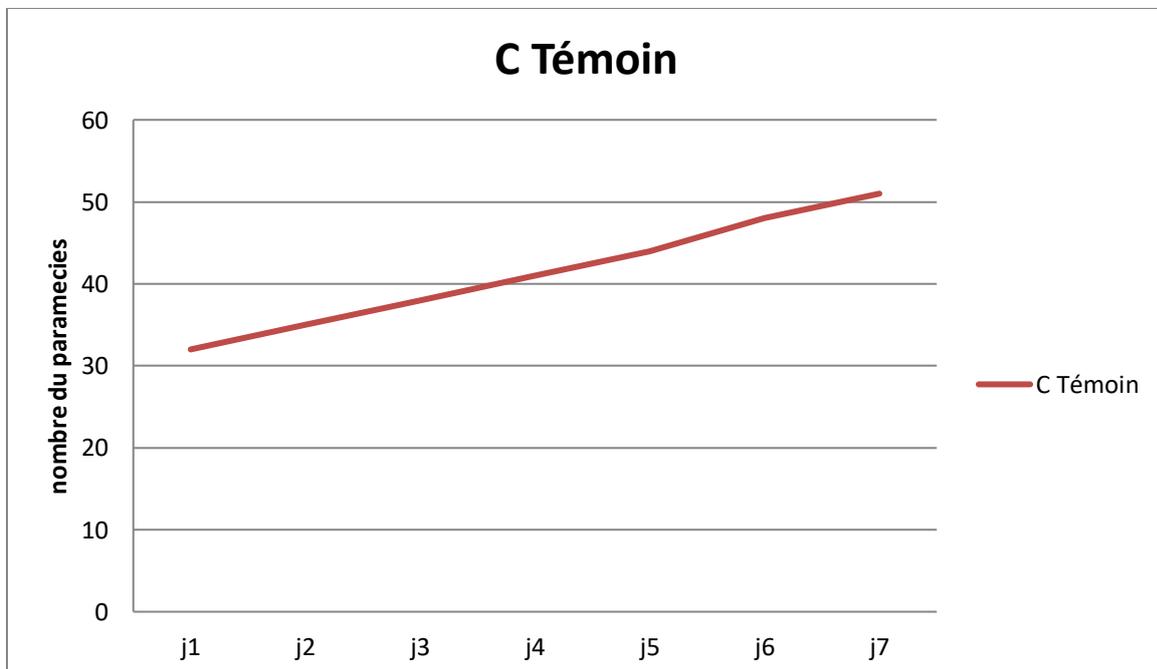


Figure 29 : Graphique du nombre des paramécies dans la culture témoin.

III.2 culture traitée par l'Extrait aqueux à 1%, 3% et 5% de *P Harmala* :

Observation microscopique



Figure 30 : Résultats de l'effet de l'extrait aqueux (*P.harmala*).

| | 1% | 3% | 5% |
|-----------|----|----|----|
| J1 | 33 | 33 | 30 |
| J2 | 27 | 25 | 22 |
| J3 | 25 | 20 | 19 |
| J4 | 22 | 18 | 15 |
| J5 | 19 | 15 | 10 |
| J6 | 15 | 12 | 10 |
| J7 | 14 | 11 | 8 |

Tableau 06 : nombre des paramécies traité par (*P harmla*) 1%, 3% et 5% .

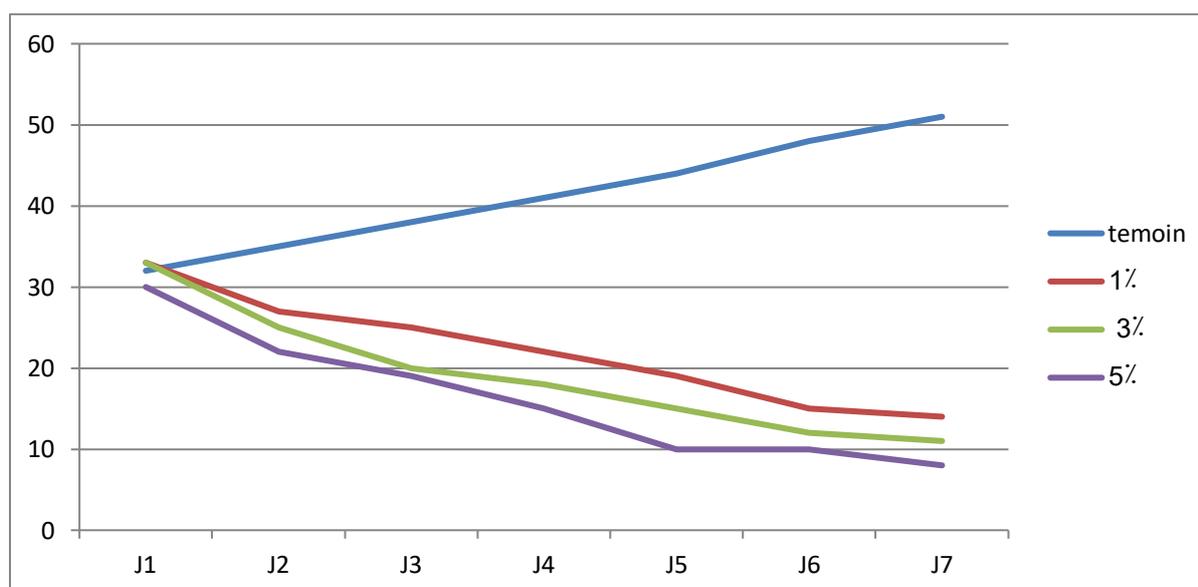


Figure 31 : graphique représente l'effet antiprotozoaire de l'EA de *P. harmala*.

III.3 culture traitée par l'Extrait aqueux à 1%, 3% et 5% de *hammada scoparia* :

Observation microscopique

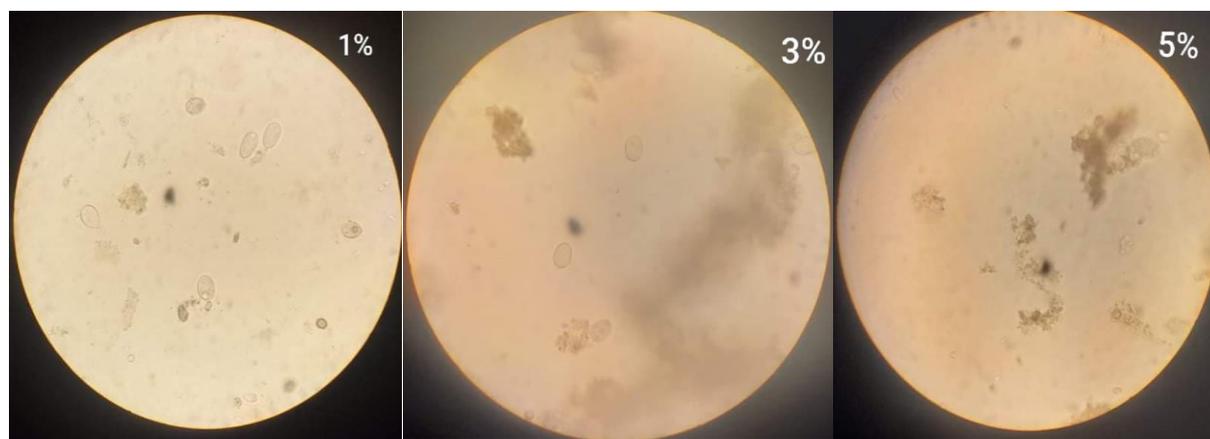


Figure 32 : Résultats de l'effet de l'extrait aqueux (*hammada scoparia*).

| | 1% | 3% | 5% |
|-----------|----|----|----|
| J1 | 33 | 33 | 30 |
| J2 | 32 | 29 | 23 |
| J3 | 27 | 25 | 21 |
| J4 | 23 | 21 | 20 |
| J5 | 21 | 22 | 18 |
| J6 | 20 | 18 | 11 |
| J7 | 19 | 16 | 10 |

Tableau 07 : nombre des paramécies traité par (*H scoparia*) 1%, 3% et 5%.

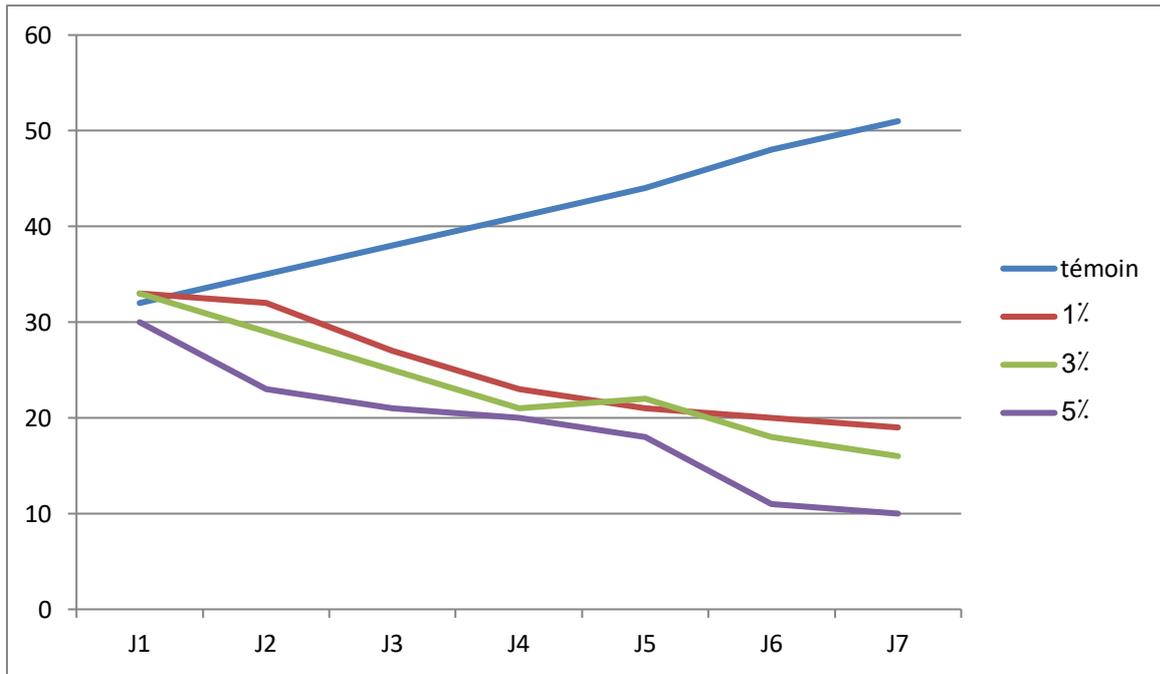


Figure 33 : graphique représente l'effet antiprotozoaire de l'EA de *H scoparia*.

III.4 culture traitée par l'Extrait aqueux à 1%, 3% et 5% d'*artemisia herba alba* :

Observation microscopique :

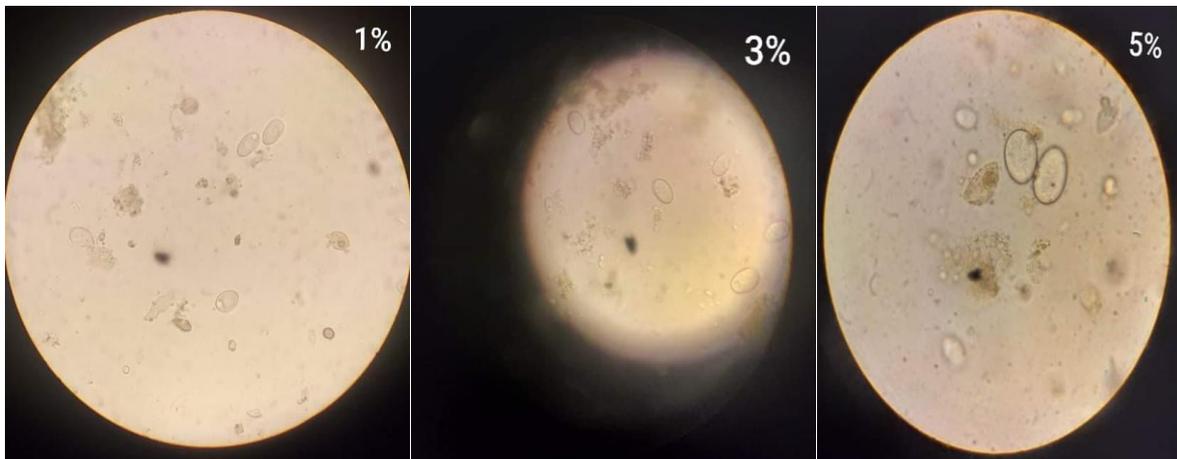


Figure 34 : Résultats de l'effet de l'extrait aqueux (*artemisia herba alba*).

| | 1% | 3% | 5% |
|-----------|----|----|----|
| J1 | 35 | 35 | 32 |
| J2 | 32 | 28 | 25 |
| J3 | 28 | 26 | 25 |
| J4 | 26 | 23 | 22 |
| J5 | 25 | 20 | 16 |
| J6 | 22 | 19 | 14 |
| J7 | 21 | 19 | 13 |

Tableau 08 : nombre des paramécies traité par (*artemisia*) 1%, 3% et 5%.

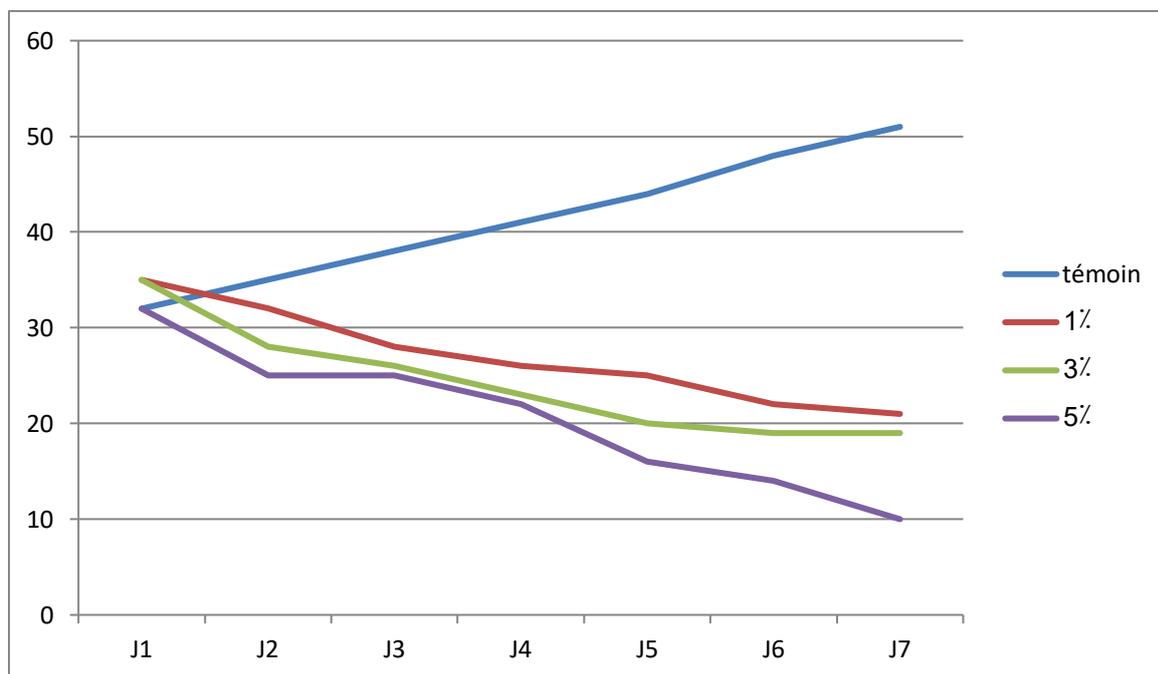


Figure 35 : graphique représente l'effet antiprotozoaire de l'EA de *artemisia herba alba*.

IV. Calcul du pourcentage de réponse :

P. Harmala :

$$\text{Pr 1\%} = 51 - 14 / 51 \times 100 = 72\%$$

$$\text{Pr 3\%} = 51 - 11 / 51 \times 100 = 78\%$$

$$\text{Pr 5\%} = 51 - 8 / 51 \times 100 = 84\%$$

H. Scoparia :

$$\text{Pr 1\%} = 51-19 / 51 \times 100 = 62\%$$

$$\text{Pr 3\%} = 51-16 / 51 \times 100 = 68\%$$

$$\text{Pr 5\%} = 51-10 / 51 \times 100 = 80\%$$

Artemisia herba alba :

$$\text{Pr 1\%} = 51-21 / 51 \times 100 = 58\%$$

$$\text{Pr 3\%} = 51-19 / 51 \times 100 = 62\%$$

$$\text{Pr 5\%} = 51-13 / 51 \times 100 = 74\%$$

IV. Discussion :

Les figures (31, 33,35) représente l'effet antiprotozoaire dès l'EA de *P.harmala*, *hammada scoparia*, *artemisia herba alba* en fonction du temps et à différents concentration.

Ainsi, nous constatons que pour les témoins, le nombre des paramécies augmente progressivement jusqu'à la 7^{ème} jour.

Cependant, pour les traitées par les trois concentrations, nous constatons une diminution progressive du nombre des paramécies jusqu'à la 7^{ème} jour. Donc Plus la concentration des extraits aqueux est élevée, plus le nombre de cellules est faible.

Les résultats obtenus pour les extraits, montrent que l'extrait de *P harmala* ont une effet antiprotozoaire élevé suivi par l'extrait de *H scoparia*, et l'effet le plus faible a été obtenu par l'extrait de *artemisia herba alba*.

De conclusion même si l'alittérature indique que l'activité antiprotozoaire de *P.haramala*, a été testée avec succès en Iran. (**Parvaneh R-M 2011**) et pour *artemisia herba alba* a été testée au maroc.

Conclusion :

Le protiste cilié utilisé dans notre travail occupe une position privilégiée dans les écosystèmes aquatiques, notamment par ce qu'il constitue à la fois l'un des éléments de base des réseaux trophiques et un modèle alternatif de choix pour l'étude de l'impact de la pollution sur notre environnement.

Cette étude montre l'intérêt de *Paramecium sp* comme espèce modèle cellulaire pour l'évaluation de l'effet antiprotozoaire de trois plantes médicinales *Peganum harmala* ; *Hammada Scoparia* ; *Artemisia herba alba*.

Les résultats obtenus dans l'analyse de l'activité antiprotozoaire a relevé que les extraits de trois plantes étudiées ont montré leur effet antiprotozoaire vis-à-vis des paramécies.

D'un autre côté, montrent que l'extrait de *P harmala* ont un effet antiprotozoaire élevé suivi par l'extrait de *H scoparia*, l'effet le plus faible a été obtenu par l'extrait de *artemisia herba alba*, tandis qu'exerce un effet antiprotozoaire dans les différentes concentrations 1%, 2% et 3% pendant la période du testes.

Tous ces résultats convergent vers un comportement de ce modèle cellulaire très proche de celui d'organismes supérieurs. Ceci conforte nos travaux et confirme leur intérêt en tant que modèles biologiques pour les bio-essais.

Références bibliographiques :

- AIDOU, A., NEDJRAOUI, D., DJEBAILI, S. & POISSONET, J. (1983). — Évaluation des ressources pastorales dans les Hautes- Plaines steppiques du Sud-Oranais : productivité et valeur pastorales des parcours. *Mém. Soc. Hist. Nat. Afr. Nord*, Nov. Sér. 13: 33-46 .
- AOUADHI S. (2010). Atlas des risques de la phytothérapie traditionnelle. à l'étude de 57 plantes recommandées par les herboristes. Faculté de médecine de Tunis - Master, 104- 106. 15-166p.
- Adl S.M. et al.; 2005: The new higher level classification of eukaryotes with emphasis on the taxonomy of protists. *Journal of Eukaryotic Microbiology* 52: 399-451.
- BABA AISSA F., 2000: Encyclopédie des plantes utiles, flore d'Algérie et du Maghreb; P: xvii-xxxxv, 4-77,101-87.
- BELLAKHDAR, J. (1997).La pharmacopée marocaine traditionnelle: médecine arabe ancienne et savoirs populaires-Saint–Etienne, Edit. Ibis Press.
- BEZANGER-BEAUQUESNE L., Pinkas M., Torck M. et Trotin F. - Plantes médicinales des régions tempérées, Paris, Maloine éd., 1980, 439 p., 350 fig.
- BOUROGAA, E., JARRAYA, R. M., Nciri, R., Damak, M. & Elfeki, A. (2014). Protective effects of aqueous extract of Hammada scoparia against hepatotoxicity induced by ethanol in the rat. *Toxicology And Industrial Health*, 30 (2), 113–22.
- BOUZOUITA N., KACHOURI F., Ben Halima M., Chaabouni M. (2008). Composition chimique et activités antioxydante, antimicrobienne et insecticide de l'huile essentielle de *Juniperus phoenicea*. *Journal de la Société Chimique de Tunisie*, (10) :119-125.
- BRUNETON, J. (1999). Pharmacognosie, Phytochimie – Plantes médicinales – 3 Ed Techniques et documentations. Paris. pp: 227-310-312-313-314.494.
- BRUNETON J. Pharmacognosie : Phytochimie, plantes médicinales. 4 Ed. Éditions médicales internationales (Tec & Doc), Paris, 2009, 1288.
- Beaumont et Cassier ; 1998 : Travaux Pratiques de Biologie Animale, Zoologie, Embryologie, Histologie, 3ème édition DUNOD, pp : 123-143.
- Beal D.L. and Anderson R.V.; 1993 : Response of Zooplankton to rotenone in a small pond.*Bull.Environ.Contam.Toxicol.*51 : 551-556.
- Beisson J., Be´termier M., Bre´ M., Cohen J., Duharcourt S., Duret L., Kung C., Malinsky S., Meyer E., Preer J.R. et al.; 2010: Paramecium tetraurelia: the renaissance of an early unicellular model. *Cold Spring Harb. Protoc.*, 2010, pdb.emo140.
- CARILLON E. (2000). La phytothérapie face à l'évolution médicinale. Ed : Phyto. 10-15.

- Chao, H. C., Najjaa, H., Villareal, M. O., Ksouri, R., Han, J., Neffati, M. & Isoda, H. (2013). *Arthrophytum scoparium* inhibits melanogenesis through the down-regulation of tyrosinase and melanogenic gene expressions in b16 melanoma cells. *Experimental Dermatology*, 22(2), 131-136.
- Colette-Keller D. (2004). Les plantes médicinales. ALS (séance du 25 Avril 2004). P 58.
- Cosentino S. et al, 1999. *In vitro* antimicrobial activity and chemical composition of Sardinian *Thymus* essential oils. *Lett. Appl. Microbiol.*, **29**(2), 130-135.
- Cavalier Smith T. and Chao E.E.Y.; 2003: Phylogeny and classification of phylum Cercozoa (Protozoa). *Protist* 154: 341-58.
- Cohen J.; 2007: Génétique de la dynamique cellulaire chez la paramécie. Centre National de la Recherche Scientifique (C.N.R.S.).Département de Génétique des Fonctions Cellulaires.
- Cudmore Larison David & Charles, Newton Abbot; 1977: The Center of Life, A Natural History of the Cell.
- Chapman P.M., 2001. Utility and relevance of aquatic oligochaetes in ecological risk assessment. *Hydrobiologia*: 463. p149.
- Decaux I. (2002). *Phytothérapie : Mode d'emploi*. Ed : Le bien public. Pp 6.
- Druez D., Marano F., Calvayrac R., Volochine B. and Soufir J.C.; 1989: Effect of gossypel on the morphology, mobility and metabolism of a flagellated protist, *Dunaliella bioculata*. *J. Submicrosc. Cytol. Pathol.*, 21(2): 367-374.
- Eddouks, M., Maghrani, M., Lemhadri, A., Ouahidi, M.-L. & Jouad, H. (2002). Ethnopharmacological survey of medicinal plants used for the treatment of diabetes mellitus, hypertension and cardiac diseases in the south-east region of Morocco (Tafilalet). *Journal Of Ethnopharmacology*, 82(2), 97-103.
- Fouché GP. , Marquet A. et Hambuckers A. (2000). Les plantes medicinale : de la plante au médicament. Exposition temporaire de 19.09 au 30.09.2000.
- GHARABI Z SAND RL, 2008: *Artemisia herba alba* Asso. A Guide to Medicinal Plants in North Africa : 49 - 49.
- Génoscope; 2007: Centre National de Séquençage. France.
- Gräf F. and Stahr K.; 1999: A Soil and Terrain Map of SW-Niger (NiSOTER). In: Atlas of Benin and Niger
- Iserin P., (2001). *Encyclopedie des plantes medicinales*. Ed : Larousse Bourdasse .Paris .p.335.

- Kamola Z.; 1995: Notes on the Use of Invertebrates, especially Ciliates, in Studies on Pollution and Toxicity. *Folia biologica*(Krakow), vol 43, No 1-2.
- Kartal M, Altun ML, & Kurucu S. (2003). HPLC method for the analysis of harmol, harmalol, harmine and harmaline in the seeds of *Peganum harmala* L. *Journal of Pharmacological and Biomedical Analysis*, 31: 263-269.
- Khashimov K, Telezhenetskaya M, & Yunusov S. (1969). Desoxypeganine: A new alkaloid from *Peganum harmala*. *Chemistry of Natural Compounds*, 5: 381-382.
- Konkon N G., Simaga D and Adjoungova A. (2006) Etude phytochimique de mitragyna inermis (willd.) o. ktze (rubiaceae), plante a feuille antidiabetique», *Pharm Méd Trad Afr*. Vol. 14 , pp 73-80.
- Ksouri, R., Ksouri, W. M., Jallali, I., Debez, A., Magné, C., Hiroko, I. & Abdelly, C. (2012). Medicinal halophytes: potent source of health promoting biomolecules with medical, nutraceutical and food applications. *Critical Reviews In Biotechnology*, 32(4), 289-326.
- Kundan S., and Anupam S. (2010). The Genus *Artemisia*: A Comprehensive Review. *J. Pharm. Biol.* pp:1-9.
- Kosmala, A.; Charvet, S.; Roger, M.C. and Faessel, B.; 1999: Impact assessment of a wastewater treatment plant effluents using in stream invertebrates and the *Ceriodaphnia dubia* chronic toxicity test. *Water Res.*, 33(1), 266-278.
- Lehout R et Laib M – 2015 : Comparaison de trois méthodes d'extraction des composés phénoliques et des flavonoïdes à partir de la plante médicinale : *Artemisia herba alba* Asso - Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master-Département de Biochimie et Biologie Cellulaire et Moléculaire - Université des Frères Mentouri Constantine – p age 9.
- Mezghani-Jarraya, R., Hammami, H., Ayadi, A. & Damak, M. (2009). Molluscicidal activity of *Hammada scoparia* (Pomel) Iljin leaf extracts and the principal alkaloids isolated from them against *Galba truncatula*. *Memórias Do Instituto Oswaldo Cruz*, 104(7) ,1035-1038.
- Mirjalili. M.H., Tabatabaei S.M.F., Hadian J., Nejad S.E.,and Sonboli. A. (2007). Phenological Variation of the essential oil of *Artemisia scoparia* from Iran. *J. Essent. Oil Res.* 19 : 326–329.
- Mucciarelli M and Maffei M. (2002). *Artemisia*: Introduction to the Genus Vol. 18 Ed Colin W.W. in Taylor & Francis. Ed. London and New York. pp: 10-16.
- Meyer E et Beisson J. ; 2005 : Épigénétique: la paramécie comme modèle d'étude. *MEDECINE/SCIENCES* n° 4, vol; 21 : 377-83.
- Marchese M.R. & Brinkhurst R.O.; 1996: A comparison of two tubificid oligochaete species as candidates for sublethal bioassay tests relevant to subtropical and tropical regions. *Hydrobiologia* 334: 163-168.

- N.NAHAL BOUDERBA, 2016, étude, ethnobotanique, écologique et activités biologiques de la coloquinte (*Citrulluscolocynthis .L*) et du contenu floristique de la région de Béchar, thèse, université Mustapha Stamboli –MASCARA p : 7.
- Nabli m.a. (1989). — Essai de synthèse sur la végétation et la phyto-écologie tunisiennes. I-Eléments de botanique et de phyto-écologie. Faculté des sciences de Tunis, Tunis.
- Newall CA, Anderson LA, Phillipson JD (1996). Herbal medicines, a guide for health-care professionals. The Pharmaceutical Press. London p. 154.
- Ozenda, P. (1958) Flora of Northern and central Sahara. National Center for Scientific Research, Paris.
- Ozenda P., 1983- Flore du Sahara. 2^{ème} Edition. Ed. C.N.R.S. Paris. 622 p.
- Ozenda.P : Flore du Sahara, 2ème éd CNRS, (France), 441pp, 1985.
- Parvaneh R-M, Soltan A-E, Hourmazd O., Monavvar S, Maryam K, Giti H-H, Mohammad H-Al, Massoud M., Massoumeh S-In vitro and in vivo activities of *Peganum harmala* extract against *Leishmania major*-J Res Med Sci / August 2011; Vol 16, No 8-p1033.
- Patterson D. J.; 1999: The diversity of eukaryotes. *American Naturalist* 154: S96-S124.
- Penchev p – 2010 : Étude des procédés d'extraction et de purification de produits bioactifs à partir de plantes par couplage de techniques séparatives à basses et hautes pressions – thèse en vue de l'obtention du doctorat - Institut National Polytechnique de Toulouse – page 50.
- POTTIER. G, 1981. *Artémisia herba alba* Flore de Tunisie: angiospermesdicotylédones gamopétales, 1012p.
- POURRAT.Y: Propriétés éco-physiologiques associées à l'adaptation d'*artémisia herba alba*, plante d'intérêt pastoral au milieu désertique, thèse du 3ème cycle à l'université de Paris, 1974.
- Purves W.K. ; Orians G.H. ; Heller H.G. et Sadava D.; 2000: Le monde du vivant, 2ème édition Flammarion, pp : 552-577.
- Twajj H.A., Al-badr A. (1988). Hypoglycaemic activity of *Artemisia herba-alba*. *J Ethnopharmacol.* 24 (2-3):123-126.
- Wehner et Gehring; 1995: *Biologie et Physiologie Animales. Bases moléculaires, cellulaires, anatomiques et fonctionnelles : Orientation comparée et évolutive.* Deboeck Université.Thieme Verlag, pp : 286-287.
- Wichterman N.R.; 1953:*The Biology of Paramecium.* Blakiseon (Pa), 527 p.

Site web :

(A) <http://webphysique.fr/maceration/>- La macération-publié le 11/06/2017- vu le 12/04/2019.

- (B) <http://www.maxicours.com/se/fiche/3/1/182131.html> -Les différentes techniques de l'extraction- vu le 14/04/2019.
- (C) <https://sante.journaldesfemmes.fr/fiches-sante-du-quotidien/2560760-phytotherapie-comment-se-soigner-avec-les-plantes/>
- (D) <http://www.bioltrop.fr/spip.php?article361> vue le 06/05/2019.
- (E) http://www.cscq.ch/SiteCSCQ/FichierPDF_FR/FT-Neubauer.pdf vue le 06/05/2019. □
- (F) <http://webphysique.fr/maceration/>- La macération-publié le 11/06/2017- vu le 12/04/2019.
- (G) <http://www.maxicours.com/se/fiche/3/1/182131.html> -Les différentes techniques de l'extraction- vu le 14/04/2019.

