



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

UNIVERSITE ABDELHAMID IBN BADIS MOSTAGANEM

Faculté Des Sciences de La Nature et de La Vie

Département de Biologie



UNIVERSITE  
Abdelhamid Ibn Badis  
MOSTAGANEM

UNIVERSITE  
Abdelhamid Ibn Badis  
MOSTAGANEM

# Mémoire

Présenté pour l'obtention du diplôme de

**MASTER EN SCIENCE BIOLOGIQUE**

**Spécialité :** Microbiologie Fondamentale

Par

**BAHRI EL-Mokhtar**

**THEME**

**Evaluation du pouvoir antimicrobien des huiles essentielles ou des extraits de *Thapsia garganica L.***

Soutenue le 14/06/2023 devant le jury composé de :

<b><u>Membres de jury:</u></b>			
Ait Chaabane Ouisa	MCA	Université de Mostaganem	Présidente
Chiali Fatima Zohra	MCA	Université de Mostaganem	Examinatrice
Laisouf Ahlam	MCA	Université de Mostaganem	Directrice de thèse
Zaoui Soumia	Doctorante	Université de Mostaganem	Co-Encadreur

Année universitaire 2022/2023

# *Remerciement*

*Au terme de ce travail, je dois remercier tout d'abord dieu qui ma a donné la force et le courage de suivre mes études et d'arriver à ce stade et à mes parents qui m'ont beaucoup soutenu pendant tout le long de mon parcours.*

*Un grand remerciement à mon encadreur Mme Laissouf Ahlam qui m'a beaucoup aidée, soutenue, conseillée, et sa patience, avec moi pour présenter un travail souhaitable.*

*Mes remerciements vont également à mon Co-encadreur mademoiselle Zaoui soumiapourson aide et leur soutien pendant les moments difficiles.*

*Jeremerci grandement Mme Ait Chaabane Ouisa, MCA à l'université de Mostaganem, de m'avoir fait l'honneur d'accepter la présidence de ma mémoire. Mme Chiali Fatima Zohra MCA à l'université de Mostaganem pour avoir accepté d'examiner et d'évaluer ce travail, je vous prierais de trouver ici l'expression de ma très haute considération.*

*Enfin, je renouvèle mes remerciements à ceux qui m'ont aidé de près ou de loin pour réaliser ce travail sans oublier les enseignants qui ont contribué à ma formation.*

*Dédicace*

*Je dédie ce modeste travail à :*

*A moi-même.*

*Mes parents pour les efforts et les sacrifices faites pour moi.*

*À toute ma famille élargie grands et petits.*

*À mes amies et mes collègues.*

*À tous les étudiants de la promotion master*

*2022/2023.*

## Résumé

*Thapsia garganica* est une plante endémique qui pousse spontanément dans le bassin méditerranéen. Elle est utilisée par la population algérienne pour certains cas de rhumatisme. Dans cette étude nous avons testé l'activité antibactérienne et antioxydante de l'extrait hydrométhanolique des racines de *Thapsia garganica* sur sept souches responsables des infections nosocomiales. L'humidité des racines de l'espèce *Thapsiagarganica* a révélé un taux de 61.91%. Le rendement moyen en extraits hydrométhanolique par macération est de 8,6 (%). Les teneurs des polyphénols, des flavonoïdes et des tanins obtenus dans la racine de *Thapsia garganica* sont de 405mg/mL, 11,65mg/mL et de 0,18 mg/mL respectivement. Les résultats de l'activité antimicrobienne de l'extrait hydrométhanolique montrent que ce dernier a exercé un pouvoir antimicrobien contre les souches microbiennes testées, les diamètres des zones d'inhibition varient entre 10.63 et 13.56 mm. Les souches les plus sensibles sont le genre de *Bacillus* : *B. cereus* ATCC 10876, *B. cereus* ATCC 11778 et *B. subtilis* ATCC 6633 avec des diamètres de zones d'inhibition de 13.56, 11.4 et 10.63 mm respectivement. La souche la moins sensible est *S. aureus* ATCC 25923 avec un diamètre de zone d'inhibition de 10.63mm. Les résultats des paramètres antimicrobiens de l'extrait hydrométhanolique montrent une activité contre les souches microbiennes testées, les valeurs obtenues sont d'une gamme allant de 31.25 à 15.625µl/mL pour la CMI et de 125 µl/mL pour la CMB et la CMF. L'extrait hydrométhanolique a présenté un pourcentage d'inhibition de 10,09 %.

**Mots clés :** *Thapsia garganica*, infections nosocomiales, extrait hydrométhanolique, activité antimicrobienne, activité antioxydante.

## Abstract

*Thapsia garganica* is an endemic plant that grows spontaneously in the Mediterranean basin. It is used by the Algerian population for certain cases of rheumatism. In this study we tested the antibacterial and antioxidant activity of the hydromethanolic extract of the roots of *Thapsia garganica* on seven strains responsible for nosocomial infections. The humidity of the roots of the species *Thapsia garganica* revealed a rate of 61.91%. The average yield of hydromethanolic extracts by maceration is 8.6 (%). The contents of polyphenols, flavonoids and tannins obtained in the root of *Thapsia garganica* are 405mg/mL, 11.65mg/mL and 0.18 mg/mL respectively. The results of the antimicrobial activity of the hydromethanolic extract show that the latter exerted an antimicrobial power against the microbial strains tested, the diameters of the zones of inhibition vary between 10.63 and 13.56 mm. The most sensitive strains are the Bacillus genus: B. cereus ATCC 10876, B. cereus ATCC 11778 and B. subtilis ATCC 6633 with inhibition zone diameters of 13.56, 11.4 and 10.63 mm respectively. The less sensitive strain is S. aureus ATCC 25923 with an inhibition zone diameter of 10.63mm. The results of the antimicrobial parameters of the hydromethanolic extract show activity against the microbial strains tested, the values obtained range from 31.25 to 15.625 µl/mL for the CMI and 125 µl/mL for the CMB and the CMF. The hydromethanolic extract showed a percentage inhibition of 10.09%.

**Key words:** *Thapsia garganica*, nosocomial infections, hydromethanolic extract, antimicrobial activity, antioxidant activity.

## ملخص

*Thapsia garganica* هو نبات مستوطن ينمو تلقائيًا في حوض البحر الأبيض المتوسط. يتم استخدامه من قبل السكان الجزائريين في حالات معينة من الروماتيزم. اختبرنا في هذه الدراسة النشاط المضاد للبكتيريا والأكسدة للمستخلص الميثانولي من جذور ثابسيا جارجانكا على سبع سلالات مسؤولة عن التهابات المستشفيات. بلغت نسبة متوسط إنتاج مستخلصات الهيدروميثانول بالنقع 8.6 (%). بلغت نسبة الرطوبة 61.91% الجذور لنوع والعفص التي تم الحصول عليها في جذر ثابسيا جارجانكا هي 405 مجم / مل و 11.65 مجم / مل و 0.18 مجم / مل على التوالي. أظهرت نتائج النشاط المضاد للميكروبات للمستخلص الميثانولي أن الأخير يمارس قوة مضادة للميكروبات ضد السلالات الميكروبية التي تم اختبارها ، وتتراوح أقطار تثبيط بين 10.63 و 13.56 ملم. أكثر السلالات حساسية هي *Bacillus cereus* ATCC 10876 ، *B. cereus* ATCC 11778 و *B. subtilis* ATCC 6633 مع منطقة تثبيط قطرها 10.63 مم. تظهر نتائج المعلمات المضادة للميكروبات لمستخلص الهيدروميثانول نشاطاً ضد السلالات الميكروبية التي تم اختبارها ، وتتراوح القيم التي تم الحصول عليها من 31.25 إلى 15.625 ميكرو لتر / مل أظهر مستخلص الهيدروميثانول نسبة تثبيط بنسبة 10.09% CMF و CMB لـ 125 ميكرو لتر / مل لـ

**الكلمات المفتاحية:** *Thapsia garganica*، مستخلص هيدرو-ميثانول، عدوى المستشفيات، نشاط مضاد للميكروبات

# *Table des matières*

## Tables des matières

<b>I. Introduction</b>	1
<b>II. Synthèse bibliographique</b>	
II.1. Espèce végétale étudiée	4
II.1.1. La famille des Apiacées.	4
II.1.1.1. Caractéristiques des Apiaceae	4
II.1.1.2. Distribution	5
II.1.1.3. Reproduction	5
II.1.2. Genre <i>Thapsia</i>	5
II.1.3. <i>Thapsia garganica</i> L.	5
II.1.3.1. Classification botanique	5
II.1.3.2. Noms vernaculaires	5
II.1.3.3. Description morphologique de <i>Thapsia garganica</i> (Figure n° 2)	2
II.1.3.4- Principales caractéristiques botaniques	7
II.1.4. La composition chimique	8
II.1.4.1. Composés phénoliques (Figure n° 3)	8
II.1.4.1.1. Acides phénoliques	8
II.1.4.1.2. Flavonoïdes	8
II.1.4.1.3 Coumarines	9
II.1.4.2. Autres métabolites secondaires de <i>Thapsia garganica</i> L.	10
II.4.2.1. Sesquiterpènes lactones (Figure n°4)	10
II.1.5. La toxicité de <i>Thapsia garganica</i>	10
II.1.5.1. Toxicité chez les animaux	10
II.1.6. Utilisation en médecine traditionnelle et moderne	11
II.7. Activités pharmacologiques du <i>Thapsia garganica</i>	12
II.1.7.1. Activité antimicrobienne de <i>Thapsia garganica</i>	12
II.1.7.2. Activité antioxydante de <i>Thapsia garganica</i>	13
<b>III. Matériel et Méthodes</b>	
III.1. Matériel végétal	15
III.2. Détermination de la teneur en eau	15
III.3. Préparation du matériel végétale	16
III.4. Extraction par Macération (Fadili et <i>al.</i> , 2017)	16
III.5. Détermination du rendement de l'extrait hydrométhanolique	17
III.6. Screening phytochimique	17
III.6.1. Test pour les phénols : Test au chlorure ferrique	17



III.6.2. Test pour les flavonoïdes	17
III.6.3. Test des tanins	17
III.6.4. Test pour les coumarines	17
III.6.5. Test pour les saponines	17
III.6.6. Test pour les alcaloïdes : Test de Mayer	18
III.6.7. Test pour les carbohydrates : Test de Fehling	18
III.6.8. Test de dépistage des protéines : Test de Biuret	18
III.6.9. Test pour les quinones	18
III.6.10. Détection de Terpénoïdes	18
III.6.11. Détection d'anthraquinones	18
III.7. Etude quantitative	18
III.7.1. Dosage des composés phénolique	18
III.7.1.1. Dosage des polyphénols totaux	18
III.7.1.2. Dosage des flavonoïdes totaux	19
III.7.1.2. Dosage des tanins condensés	19
III.8. Procédés d'étude microbiologique	20
III.8.1. Souches microbiennes testées	20
III.8.2. Etude de la sensibilité des souches vis-à-vis des agents antimicrobiens standards	20
III.8.3. Etude de l'activité antimicrobienne de l'extrait de <i>Thapsia garganica L.</i>	22
III.8.3.1. La méthode de Vincent (technique de l'aromatogramme)	22
III.8.3.2. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)	22
III.8.3.3. Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB - CMF)	23
III.9. Activités antioxydantes	23
III.9.1. Test DPPH	23
III.9.2. Test de FRAP	24
<b>IV. Résultats et discussion</b>	
IV.1. Matériel végétal	26
IV.1.1 Taux d'humidité	26
IV.1.2. Rendement en extrait bruts	26
IV.2 Screening phytochimique	27
IV.3. Dosage des composés phénoliques	28
IV.3.1. Dosage des polyphénols totaux	28
IV.3.2. Dosage des flavonoïdes	28
IV.3.3. Dosage des tanins	29
IV.4. Etude de l'activité antimicrobienne	30
IV.4.1. Etude de la sensibilité des souches vis-à-vis des agents antimicrobiens	30

standards	
IV.4.2. Etude de l'activité antimicrobienne de l'extrait hydrométhanolique de <i>Thapsia garganica</i>	32
IV.4. 3. Détermination des concentrations minimales inhibitrice (CMI), bactéricide (CMB) et fongicide (CMF)	33
IV.5. Activité antioxydante	34
<b>V. Conclusion</b>	<b>39</b>
<b>IV. References bibliographiques</b>	<b>40</b>
<b>Annexes</b>	<b>50</b>

## Liste des figures

**Figure n° 1 :** Photographie montrant la plante de *Thapsia garganica* L.

**Figure n° 2 :** Montre les différentes parties de la plante de *Thapsia garganica*.

**Figure n°3 :** Structures des principaux composés phénoliques de *Thapsia garganica*.

**Figure n° 4 :** La structure de sesquiterpènes lactones de *Thapsia garganica*.

**Figure n° 5:** Situation géographique de la région de collecte de la plante étudiée.

**Figure n° 6 :** Différentes étapes de la préparation de la poudre et des extraits de *Thapsia garganica* L.

**Figure n° 7 :** Taux d'humidité des racines de l'espèce *Thapsia garganica*

**Figure n°8:** courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux.

**Figure n° 9 :** courbe d'étalonnage de la quercétine pour le dosage des flavonoïdes.

**Figure n° 10:** courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des tanins.

**Figure n°11 :** Pourcentages d'inhibition de DPPH en fonction des différentes concentrations d'extrait.

**Figure n° 12 :** Pourcentages d'inhibition de DPPH en fonction des différentes concentrations utilisées d'acide ascorbique

**Figure n°13 :** Pouvoir réducteur de l'extrait

**Figure n°14 :** Pouvoir réducteur de l'acide ascorbique

## Liste des tableaux

**Tableau n° 1 :** Classification botanique de *Thapsia garganica* L. (Tropicos, 2015).

**Tableau n° 2 :** Nombre de cas d'intoxication par espèce animale et végétale entre 1995 2004.

**Tableau n°3 :** Nombre d'intoxications par espèce animale et végétale ente 2004 et 2013.

**Tableau n°4 :** Données géographiques de la récolte de espèces végétales étudiées.

**Tableau n° 5 :** Liste des souches microbiennes testées.

**Tableau n° 6 :** Liste des antibiotiques utilisés.

**Tableau n°7 :** Le rendement en extraits hydrométhanolique obtenus des feuilles de *Thapsia garganica*.

**Tableau n° 8 :** résultats du screening phytochimique des racines de *Thapsia garganica*.

**Tableau n° 9 :** Résultats de l'activité antimicrobienne des antibiotiques et des antifongiques exprimés par le diamètre de la zone d'inhibition en mm.

**Tableau n° 10 :** Résultats de l'activité antimicrobienne de l'extrait hydrométhanolique de *Thapsia garganica* exprimés par le diamètre de la zone d'inhibition en mm.

**Tableau n° 11 :** Valeurs des paramètres antimicrobiens de l'extrait hydrométhanolique de *Thapsia garganica*.

**Tableau n° 12 :** Résultats des IC50 exprimés en ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) d'inhibition de DPPH de l'extrait et l'acide ascorbique.

**Tableau n° 13 :** Valeurs de la concentration efficace 50 d'extrait d'espèce étudiée et de l'acide ascorbique

## **Liste des abréviations et symboles**

**AFNOR** : Association Française de Normalisation

**ATCC** : American Type Culture Collection

**BMR** : Bactérie multirésistantes

**CE50** : Concentration Efficace à 50%

**CMI** : Concentration Minimale Inhibitrice

**CMB** : Concentration Minimale Bactéricide

**CMF** : Concentration Minimale Fongicide

**FE** : Feuilles

**FL** : Fleurs

**HE** : Huile essentielle

**IR** : Indice de Rétention

**OMS** : Organisation mondiale de la santé

**UFC** : Unité Formant des Colonies

**UV** : Ultraviolet

# **Introduction**

## I. Introduction

Les plantes ont constitué le premier et principal outil thérapeutique à la disposition de l'homme et ce, pendant de nombreux siècles. Avec un don d'observation inégalé, les anciens ont pu mettre en évidence des propriétés curatives ou préventives des plantes médicinales qui n'ont d'ailleurs, jamais été démenties par l'usage (**Carillon, 2009**).

Les plantes médicinales sont devenues importantes pour la recherche pharmacologique et l'élaboration des médicaments (**OMS, 1998**).

Entre 20.000 et 25.000 plantes sont utilisées dans la pharmacopée humaine (**Abdelli, 2017**).

75% des médicaments ont une origine végétale et 25% d'entre eux contiennent au moins une molécule active d'origine végétale (**Adossides, 2003**).

La valorisation de ces ressources est devenue indispensable. A cet effet, nous nous sommes intéressés à une espèce poussant à l'état spontané à l'ouest du pays, à savoir, *Thapsia garganica* L. et plus particulièrement, à leurs métabolites secondaires ; les composés phénoliques.

Les composés phénoliques suscitent un grand intérêt car ils possèdent un large éventail d'activités biologiques (antibactérienne, anti cancérogène, anti inflammatoire, anti oxydante, etc.) (**Psotová et al., 2003**).

La recherche tendant à découvrir des agents thérapeutiques de plus en plus efficaces et avec le moins d'effets secondaires possible, trouvent en ces composés phénoliques de potentielles alternatives pour remédier à différents problèmes notamment, à l'émergence de la résistance microbienne aux antibiotiques. Ce phénomène se développe de plus en plus rapidement et de manière quasi universelle et est particulièrement marqué pour les germes responsables d'infections nosocomiales (**Hamberger et al., 1999**). Il est essentiellement dû à l'utilisation excessive des antibiotiques. Dans de nombreuses situations, seul un nombre restreint d'antibiotiques demeure efficace (**Wise et al., 1998**).

Par ailleurs, le stress oxydatif, un autre problème majeur de santé publique, suscite énormément d'attention. Se définissant comme un déséquilibre entre les systèmes pro-oxydants et antioxydants dans l'organisme, provoqué par une surproduction de radicaux libres, le stress oxydatif est impliqué dans le développement de plus d'une centaine de pathologies humaines différentes telles que l'athérosclérose, le cancer, les maladies cardiovasculaires et neurodégénératives, le diabète, les rhumatismes et le vieillissement prématuré de la peau (**Roberts et Sindhu, 2009**). L'utilisation des antioxydants commerciaux (synthétiques) tels que le butylhydroxyanisole (BHA), le butylhydroxytoluène (BHT), le

tertiobutylhydroquinone(TBHQ) et le propylgallate (PG), n'est pas sans risque puisqu'ils ont été suspectés, ces dernières années, de posséder une certaine toxicité et d'être responsables des dommages causés dans le foie et de carcinogénèse (**Atmani et al., 2009**).

Face aux différents problèmes encourus par l'utilisation des agents synthétiques, l'attrait pour des sources naturelles est devenu aujourd'hui et plus que jamais important. Notre présente étude cherche à approfondir les connaissances sur l'espèce *Thapsia garganica* L. et à la valoriser en évaluant les activités antimicrobiennes et antioxydantes de leurs composants phénoliques.

Notre travail a été organisé dans trois chapitres :

Le premier chapitre a été consacré à la revue bibliographique des connaissances sur *Thapsia garganica* L., ses principaux métabolites, leurs usages traditionnels et leurs activités biologiques.

Le deuxième chapitre a été réservé à la partie expérimentale :

- ✚ Extraction des composés phénoliques de *Thapsia garganica*.
- ✚ Dosage des polyphénols totaux, des flavonoïdes et détermination de l'activité antioxydante chez l'espèce étudiée.
- ✚ Preuve de l'activité antibactérienne de l'extrait méthanolique de *Thapsia garganica* L.

Le troisième chapitre est consacré à la présentation des résultats et de leurs discussions.

Ce travail a été achevé par une conclusion et une liste des références utilisées.



# **Synthèse- bibliographique**

## II.1. Espèce végétale étudiée

### II.1.1. La famille des Apiacées.

La famille des Apiacées (Apiaceae), appelées aussi Ombellifères (Umbelliferae) est une famille de plantes appartenant à la classe des Magnoliopsida. Elle est composée de 434 genres et d'environ 3700 espèces (**Bruneton, 2005**). La famille des Apiaceae est un ensemble relativement homogène de plantes dicotylédones. Ses espèces sont souvent aromatiques et réparties dans la majeure partie du globe, mais elles sont plus communes dans les régions montagneuses tempérées et relativement rares dans les régions tropicales (**Alkhatib, 2010**). Elles se caractérisent par des tiges creuses, des racines pivotantes et des grappes de fleurs à sommet plat appelées ombelles, d'où son nom d'ombellifère (**Lariushin, 2012**). Certaines sont toxiques et leur toxicité est due à des carbures acétyléniques (Ciguë aquatique), ou des lactones comme *Thapsia garganica* L. (**Bruneton, 2005**).

#### II.1.1.1. Caractéristiques des Apiaceae

La majorité des Apiaceae sont des plantes herbacées annuelles, bisannuelles ou vivaces. La caractéristique principale de cette Famille est l'inflorescence : à ombelles composées ou simples parfois en cymes. Les fleurs sont blanches ou plus rarement jaunâtres, généralement hermaphrodites. L'appareil souterrain pérenne est très varié : racines, rhizomes et tubercules. Les feuilles sont alternes, sans stipules, et le plus souvent composées, à folioles finement découpées, mais certaines espèces ont des feuilles entières. Les racines et les feuilles sont parcourues par des canaux sécréteurs qui contiennent un mélange d'essence et de résine. Les fruits, secs, sont des schizocarpes (diakènes) qui se scindent en deux à maturité, chaque partie contenant une graine (**Liu et al., 2006**). Ils sont très diversifiés par leurs formes externes : présence de crochets ou d'épines, de protubérances ou de poils, parfois d'ailes, qui sont importants à observer pour la détermination des espèces. Les tiges sont fistuleuses et elles sont à entre-nœuds souvent creux, à canaux sécréteurs contenant des huiles essentielles et des résines, des saponines triterpéniques, des coumarines, falcarinone, trisaccharide comme élément de réserve (**Lariushin, 2012**).

#### II.1.1.2. Distribution

Les Genres se répartissent entre les divers continents, avec une prédominance pour l'Asie (265), l'Amérique (197), l'Europe (139), l'Afrique (126) et l'Australie (36). Les Apiaceae occupent une place importante dans la flore algérienne où elle est représentée par 56 genres, 130 espèces (dont 24 endémiques) et 26 sous espèces (**Jabrane et al., 2009**).

### **II.1.1.3. Reproduction**

La plupart des Apiaceae sont polonisées par les insectes, principalement des mouches, moustiques, ou certaines abeilles et papillons. L'autofécondation est pourtant fréquente (Ibrahim et al., 2018).

### **II.1.2. Genre Thapsia**

Le genre Thapsia englobe huit espèces, largement distribuées dans le bassin méditerranéen survenant en Algérie, en France, en Grèce, en Italie, au Portugal, Libye, Espagne, Tunisie et Turquie (PujadasSalvà et Roselló, 2003 ; Weitzel et al., 2014). Les espèces de Thapsia préfèrent l'habitat est des champs cultivés abandonnés, des bords de routes et des bordures des terres cultivées (PujadasSalvà et Roselló 2003). Thapsia est un genre de plantes à fleurs avec 41 espèces, appartenant à la famille des Apiacées. Les plantes du genre Thapsia sont des plantes herbacées vivaces (Figure n° : 1)(Pujadas-Salvaà et Plaza-Arregui, 2003).

### **II.1.3. Thapsia garganica L.**

Dans la région méditerranéenne, *Thapsia garganica* L. est utilisé en médecine traditionnelle depuis plus de 2 000 ans pour le traitement des maladies pulmonaires, du catarrhe, de la fièvre, de la pneumonie et comme contre-irritant pour le soulagement des douleurs rhumatismales (Andersen et al., 2015). *Thapsia garganica* L. est communément appelée la carotte mortelle (Weitzel et al., 2014), en raison de sa production de composés hautement toxiques et irritantes.

D'après Lauzer (1968) le nom *Thapsia garganica* L. est composé de deux mots :  
- Thapsia : mot tiré de l'île de Thapsos où elle a été découverte pour la première fois.  
- garganica : épithète donné par rapport au nom d'une montagne en Italie nommée Gargano où elle se trouve en abondance (Cheurfa et Bachagha, 2013).

#### **II.1.3.1. Classification botanique**

La systématique botanique permet de classer *Thapsia garganica* parmi les systèmes du règne végétal en se référant à la classification de Tropicos (Nebeg, 2019).(Tableau n° 1).

#### **II.1.3.2. Noms vernaculaires**

Nom scientifique : *Thapsia garganica*.

Nom commun : Tapisia, بو نافع / درياس (Hammiche et al., 2013).



**Figure n° 1** : Photographie montrant la plante de *Thapsia garganica* L. (Nebeg, 2019).

**Tableau n°1** : Classification botanique de *Thapsia garganica* L. (Nebeg, 2019).

<b>Règne</b>	Plantae
<b>Classe</b>	Equisetopsida
<b>Sous- classe</b>	Magnoliidae
<b>Super- Ordre</b>	Asteranae
<b>Ordre</b>	Apiales
<b>Famille</b>	Apiaceae
<b>Genre</b>	Thapsia
<b>Espèce</b>	<i>Thapsia garganica</i> L.

### II.1.3.3. Description morphologique de *Thapsia garganica* (Figure n° 2)

- **Allure générale**

*Thapsia garganica* est une plante herbacée vivace à une tige striée, glabre, ramifiée dans sa partie supérieure ; les tiges sont à entre-nœuds souvent creux, pouvant atteindre 1,50 mètre de haut. Les feuilles sont vertes, glabres, alternes, composées, pennées, palmées ou simples. La racine est volumineuse en forme de rhizomes, noir à l'extérieure, blanche à l'intérieure. L'inflorescence est une grande ombelle composée de 15 à 20 rayons, portant des fleurs jaunes. Les fruits sont ovales, atteignant plus de 2 cm de long (**Pujadas-Salvaà et Plaza-Arregui, 2003**).

Il s'agit d'une plante vivace robuste avec des tiges florales droites et peu ramifiées, atteignant une hauteur d'environ 1,50 mètre (**Pujadas-Salvaà et Plaza-Arregui, 2003**).



#### II.1.3.4- Principales caractéristiques botaniques

- **Les feuilles** : Feuilles vertes glabres Les feuilles primordiales sont petites, elliptiques et entières, tandis que les suivantes sont de forme palmée. Les feuilles à la base de la tige sont énormes, 2-3 pennées, tandis que les feuilles supérieures sont réduites à une large gaine (**Pottier-Alapetite, 1979**).
- **La tige** : Elle se présente sous la forme de branches lâches, étalées et garnies de feuilles. Elle est fort, droit, légèrement striée, fistuleuse, ramifiée dans sa partie supérieure, atteignant 0,90 à 1,40m de hauteur (**Roques, 1835**).
- **Les racines** : sont des rhizomes cylindriques épais avec un extérieur noirâtre et un intérieur blanc (**Andersen et al., 2015**).



**Figure n° 2** : Montre les différentes parties de la plante de *Thapsia garganica*.

<b>A</b> : Plante de <i>Thapsia garganica</i>	<b>B</b> : Racine de <i>Thapsia garganica</i>
<b>C</b> : Tige de <i>Thapsia garganica</i>	<b>D</b> : Feuille de <i>Thapsia garganica</i>

#### **II.1.4. La composition chimique**

Les études phytochimiques sur les racines de *Thapsia garganica* L. montrent que la plante est riche en différents constituants bioactifs (**Dujardin-Beaumetz et Egasse, 1989**).

##### **II.1.4.1. Composés phénoliques (Figure n° 3)**

Dans les métabolismes secondaires, les composés phénoliques sont largement dispersés dans le règne végétal (**Martin et Andriantsitohaina, 2002**).

L'existence d'un ou de plusieurs cycles aromatiques qui sont liés à un ou plusieurs groupes hydroxyles, libres ou engagés dans une autre fonction, est la structure de base qui les distingue (**Bruneton, 1999**).

##### **II.1.4.1.1. Acides phénoliques**

Les acides phénoliques sont des composés organiques produits à partir d'acides benzoïque ou cinnamique qui possèdent au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique (**Bruneton, 1999**).

Les principales catégories d'acides phénoliques sont les acides hydroxycinnamiques (C6-C3) et les acides hydroxybenzoïques (C6-C1) (**Chira et al., 2008**).

Différents phénylpropanoïdes ont été identifiés à partir de plantes Apiaceae, dont *Thapsia garganica* L. Il s'agit d'un groupe de composés phénoliques fabriqués à partir de l'acide aminé phénylalanine (**Liu et al., 2006**). Ils font partie de la structure de la paroi cellulaire (**Hahlbrock et Scheel, 1989**). Les phénylpropanoïdes extraits de *Thapsia garganica* L. se sont révélés cytotoxiques dans une étude cytotoxique des composés bioactifs de *Thapsia garganica* L. (**Liu et al., 2006**).

##### **II.1.4.1.2. Flavonoïdes**

Les flavonoïdes tels que les flavones et les flavonoles sont abondants dans les sections aériennes de *Thapsia garganica* L. (**Djeridane et al., 2006**). Les flavonoïdes sont une collection de plus de 6 000 produits chimiques naturels que l'on trouve presque partout dans les plantes (**Erlund, 2004**). Ils ont un squelette carboné de C6-C3-C6, ou une activité phénylbenzopyrane (**Marais et al., 2006**).

Les flavonoïdes sont des pigments qui donnent à divers organes végétaux leurs couleurs jaune, orange et rouge (**Ghedira, 2005**).



## II.1.4.2. Autres métabolites secondaires de *Thapsia garganica* L.

### II.4.2.1. Sesquiterpènes lactones (Figure n°4)

On trouve des sesquiterpènes lactones dans les tissus de *Thapsia garganica* L. Environ 3 000 structures connues sont décrites sous le terme suggestif de "principes amers", ce qui en fait un groupe quantitativement important (Bruneton, 1999).

Un grand nombre de composés ses terpéniques ont été identifiés à partir des plantes *Thapsia*, les plus importants étant ceux isolés des racines.

Les thapsigargines et les thapsigargicines, qui ont été isolées des racines de *Thapsia garganica* L., sont les plus importantes (Figure n° 2). (Santarius et al., 1987 ; Liu et al., 2006 ; Kmonickova et al., 2008).

La Tg (thapsigargine) est un produit chimique naturel essentiel. Ce produit chimique est un inhibiteur puissant et spécifique de l'enzyme endo/sarcoplasmique calcium ATPase (SERCA), qui provoque la mort cellulaire, et il est utilisé comme un nouveau chimiothérapeutique du cancer (Kmonicková et al., 2008 ; Anthony et al., 2013).

Les thapsigargicines (Tc) sont une autre lactone sesquiterpénique présentant des similitudes structurelles et fonctionnelles avec la Tg. Une analyse structurelle a révélé que la seule différence entre les deux composés est la présence de quatre groupes méthylène dans l'acycle (R) de la Tc contre six dans celui de la Tg (Ali et al., 1985).

## II.1.5. La toxicité de *Thapsia garganica*

*Thapsia* est toxique et irritante pour la peau dans toutes ses sections, en particulier la racine, qui présente une résine très agressive à l'extérieur (Hammiche et al., 2014).

La présence de lactones sesquiterpénique, notamment de thapsigargine, rend *Thapsia* toxique. Le contact direct entraîne un érythème, des démangeaisons et la production de minuscules cloques, qui sont autant de symptômes de dermatite (Mohamed et al., 2018 ; Liu et al., 2006).

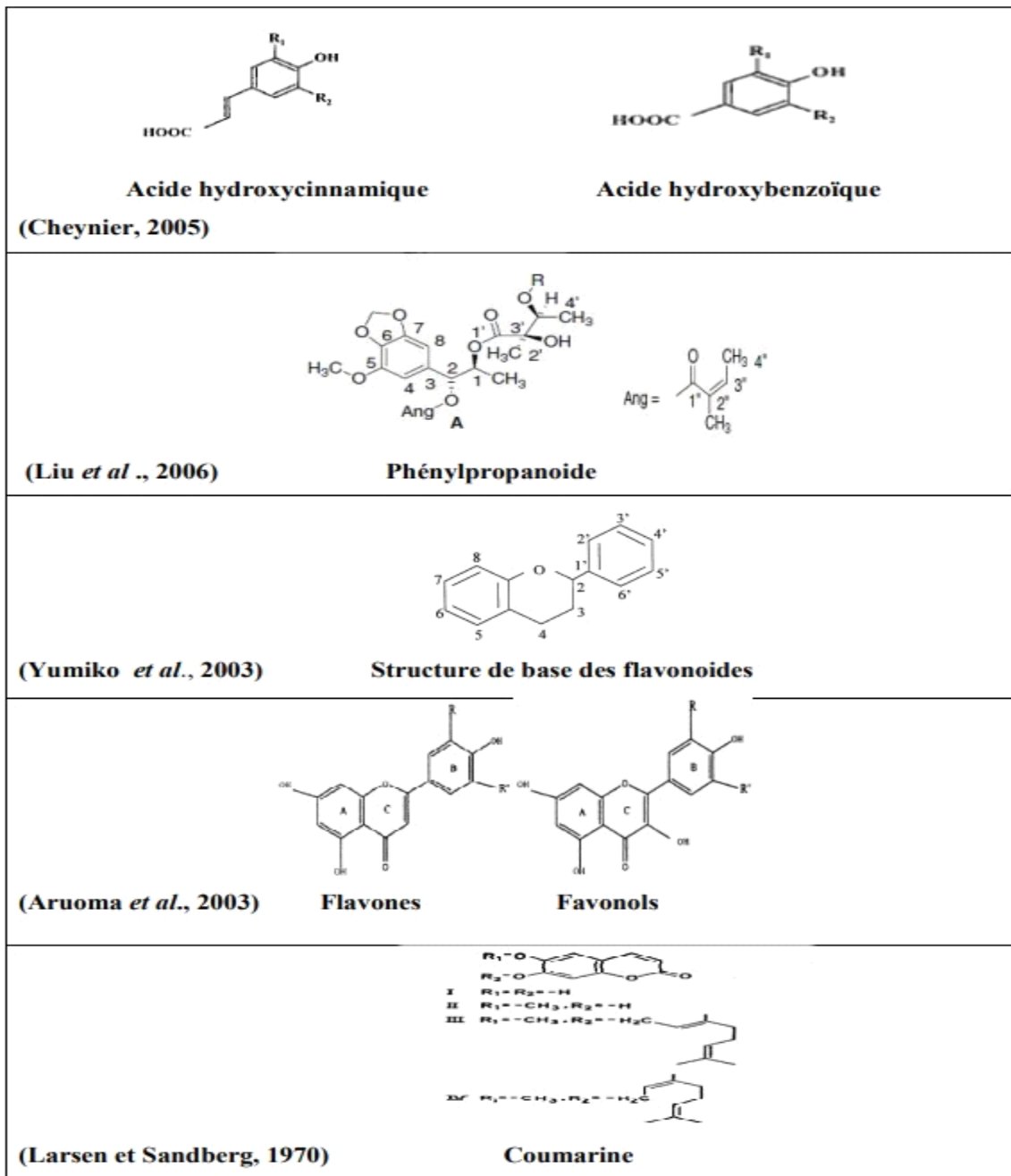
### II.1.5.1. Toxicité chez les animaux

Des données épidémiologiques en Algérie de Mohammedi et al., (2014) ont permis d'avoir les résultats des Tableaux n° 2 et 3 : (un cas représente jusqu'à une centaine d'animaux)

**Tableau n°2** : Nombre de cas d'intoxication par espèce animale et végétale entre 1995-2004.

Plante	Ovin	Bovin	Caprin	Dromadaires
<i>Thapsia garganica</i>	20	0	0	12





**Figure n° 4 :** La structure de sesquiterpènes lactones de *Thapsia garganica*.

**Tableau n°3 :** Nombre d'intoxications par espèce animale et végétale ente 2004-2013.

Plante	Ovin	Bovin	Caprin	Dromadaires
<i>Thapsia garganica</i>	170	0	0	36

### II.1.6. Utilisation en médecine traditionnelle et moderne

*Thapsia garganica L.* est une plante médicinale répandue dans la thérapeutique traditionnelle. Elle est connue par les Berbères et les Arabes dans le traitement des pathologies pulmonaires. Sa préparation est particulière : pour « l'engraissement », elle est

préparée sous forme d'une pâte absorbée. Elle est indiquée contre les douleurs et les problèmes pulmonaires, les éleveurs utilisent la racine qui est préparée souvent avec de l'huile pour frotter la partie malade du corps (**Hammiche et al., 2013**). Elle est connue pour ses effets diurétiques, émétiques et purgatifs. La plante a été utilisée dans le traitement pour soulager les douleurs rhumatoïdes comme anti-irritant (**Ali et al., 1985**). Les racines sont utilisées pour traiter les toux et bronchites rebelles ainsi que la stérilité féminine. On l'utilise aussi les racines, mélangés avec la farine et du son, en cataplasmes, contre les morsures d'animaux venimeux ou enragés (**Bammi et Douira, 2002**). **Hakii et al. (1986)** ont identifiés le thapsigargine comme non-ATP instigateur de tumeur dû à sa capacité d'inhiber le deuxième stade de carcinogenèse par l'intermédiaire d'un mécanisme qui ne fait pas impliquer directement l'activité de la protéine kinase C (**Makunga et al., 2003**). Aussi des études ont montré que thapsigargine et ses analogues induisent l'apoptose (mort cellulaire programmée) des cellules cancéreuses humaines et sont actuellement développées comme des agents thérapeutiques pour le traitement du cancer (**Makunga et al., 2003**). **Hammiche et al., (2013)** rapporte divers usages alimentaires de *Thapsia garganica* L. en Kabylie : les bulbes mis à bouillir servent à préparer un mets typique pour la célébration du 1er jour du printemps berbère : le couscous au Thapsia ou seksou uderyis. Le couscous seul est consommé (et pas les bulbes) pour ses vertus digestives et tonifiantes. Le même auteur ajoute d'autres emplois du thapsia : en usage externe, le bulbe trempé dans de l'huile d'olives et à masser les mamelles des animaux pour son effet galactogène. Le thapsia a également la propriété de "gonfler" la peau, ainsi les vendeurs de bétail malhonnêtes en frottent leurs animaux avant de les vendre.

## **II.7. Activités pharmacologiques du *Thapsia garganica***

L'emplâtre de *Thapsia* est la seule préparation pharmacologique à base de la plante *Thapsia garganica* ; il est fabriqué en mélangeant la résine de *Thapsia* avec de la colophane blanche, du brai blanc, de la térébenthine et d'autres ingrédients. (**Soubeiran, 1870**).

Cet emplâtre a une application cutanée, qui s'enflamme, s'échauffe, rougit, et devient la source de démangeaisons atroces. Une éruption de nombreuses vésicules miliaires, très serrées et remplies d'une sérosité purulente, apparaît alors (**Rebouleau, 1856**). Il n'y a pas d'inconfort, et le plâtre peut être retiré après 4 à 6 heures (**Finley Ellingwood, 1919**).

### **II.1.7.1. Activité antimicrobienne de *Thapsia garganica***

L'avènement de l'antibiothérapie, dans les années 1940, à complètement révolutionné le domaine médical et entraîne une réduction significative de la mortalité associée aux maladies

infectieuses. Malheureusement, la résistance bactérienne aux antibiotiques a rapidement constitué un problème de santé important à l'échelle mondiale (**Kraker et al., 2011 ; Diallo et al., 2019**). L'augmentation et la dissémination rapide des résistances bactériennes aux antibiotiques sont probablement l'un des problèmes de santé publique les plus inquiétants de ces dernières années (**Coates, 2012**). L'Organisation mondiale de la Santé (OMS) révèle que cette grave menace pour la santé publique n'est plus une prévision, mais bien une réalité dans chaque région du monde (**WHO, 2012**). La propagation des bactéries multi résistantes (BMR) et l'absence de nouveaux antibiotiques font courir un risque d'impasse thérapeutique de plus en plus fréquent (**Brun-buisson, 2010**). Ce phénomène se développe de plus en plus rapidement et de manière quasi universelle et est particulièrement marqué pour les germes responsables d'infections nosocomiales (**Zahir et al., 2019**). Dans de nombreuses situations, seul un nombre restreint d'antibiotiques demeure efficace (**Dinh et al., 2019**). L'alternative des antibiotiques se trouve dans les substances naturelles.

Plusieurs études ont montré l'activité antimicrobienne des composants des racines de *Thapsia garganica* ont (**Seoud et Touahria, 2021 ; Djerarda et al., 2021 ; Aici et Benmehdi, 2021**).

### **II.1.7.2. Activité antioxydante de *Thapsia garganica***

Par ailleurs, le stress oxydatif, un autre problème majeur de santé publique, suscite énormément d'attention. Se définissant comme un déséquilibre entre les systèmes pro-oxydants et antioxydants dans l'organisme, provoqué par une surproduction de radicaux libres, le stress oxydatif est impliqué dans le développement de plus d'une centaine de pathologies humaines différentes telles que l'athérosclérose, le cancer, les maladies cardiovasculaires et neurodégénératives, le diabète, les rhumatismes et le vieillissement prématuré de la peau (**Feillet-Coudray et al., 2019**). L'usage des antioxydants de synthèse chimique tels que le butylhydroxyanisole (BHA), le butylhydroxytoluène (BHT), le tertibutylhydroquinone (TBHQ) et le propylgallate (PG), n'est pas sans risque puisqu'ils ont été suspectés, ces dernières années, d'avoir une certaine toxicité et d'être responsables des dommages causés dans le foie et de la carcinogenèse (**Atmani et al., 2009**).

Face aux différents problèmes encourus par l'utilisation des agents synthétiques, l'attrait pour des sources naturelles est devenu aujourd'hui et plus que jamais important. Plusieurs travaux ont montré que les racines de *Thapsia garganica* ont un pouvoir antioxydant (**Boukriche et al., 2012 ; Attoum et al., 2012 ; Benseddik, 2021 ; Boussaada et al., 2008 ; Aici et Benmehdi, 2021**).

# **Matériel et Méthodes**

## II. Matériel et Méthodes

### III.1. Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé au cours de notre étude provient de la plante *Thapsia garganica* L. La partie souterraine (racines) est ciblée dans cette étude. La récolte a été réalisée le mois de février 2023 dans la région d'Ouled Sidi Amer, wilaya de Mostaganem, Algérie (**Figure n° 5**). Les coordonnées géographiques sont présentés ci-dessous (**Tableau n° 4**).

**Tableau n° 4** :Donnéesgéographiquesdelarécoltedesespècesvégétalesétudiées.

Espècevégétal	Region	Coordonnéesgéographiques
<i>Thapsia garganica</i> L.	Mostaganem Douar ouled sidi amer.	Altitude : 80m Longitude : 0°6'161E Laitude : 5°58'742N



**Figure n° 5**:Situationgéographiquede la régiondecollectede la planteétudiée.

L'identification botanique de l'espèce a été confirmée par le professeur Belhassaini Hachemi, botaniste de l'Université de Sidi Bel-Abbas, Algérie. Le voucher des racines de l'espèce étudiée a été déposé au niveau du Laboratoire de Microbiologie et de Biologie Végétale de l'Université de Mostaganem (Algérie).

### III.2. Détermination de la teneur en eau

Le contenu en humidité de la racine a été déterminé par le procédé de séchage à l'étuve. Une quantité des racines fraîches d'une masse de  $5g \pm 0.01$  a été exposée à une température de  $105^{\circ}C \pm 5$  dans une étuve jusqu'à l'obtention d'un poids constant (**Bourkhiss et al., 2009**).

Le taux d'humidité est exprimé en pourcentage et calculé par la formule suivante :

$$H (\%) = (M1 - M2) / M1 \times 100$$

H % = Taux d'humidité exprimé en pourcentage.

M1= Poids de l'échantillon en gramme avant le séchage (racine fraîche).

M2= Poids de l'échantillon en gramme après le séchage (racine sèche).

### III.3. Préparation du matériel végétale

Une fois ramenée au laboratoire, les racines ont été rincé afin d'éliminer toute trace de terre et recouverts de papier d'aluminium pour éviter l'accumulation des moisissures, et séché à l'ombre pendant 15 jours. La température de séchage est comprise entre 22 et 25°C (Ouafi *et al.*, 2015). Puis finement broyer à l'aide d'un broyeur électrique (Marque), tamiser et conservé dans un pilulier à l'obscurité. Ouafi *et al.*, (2015) (Figure n° 6).



**Figure n° 6** : Différentes étapes de la préparation de la poudre et des extraits de *Thapsia garganica L.*

### III.4. Extraction par Macération (Fadili *et al.*, 2017)

10 g en poudre des racines de **Thapsia garganica L.** ont été mises en contact avec 100 mL de solution méthanol et eau distillé (80/20). Le mélange a été soumis à une agitation pendant 48h à température ambiante à l'abri de la lumière. Après une triple filtration sous vide, deux sur papier filtre, la troisième sur papier wattman, les filtrats hydro-méthanolique ont été concentrés à sec sous pression réduite à une température de 45°C dans un évaporateur rotatif Büchi (R300). Les extraits bruts obtenus ont été pesés pour déterminer le rendement d'extraction, et conservés à 4°C jusqu'à leur usage.

### **III.5. Détermination du rendement de l'extrait hydro-méthanolique**

Le rendement d'extraction a été calculé par la formule suivante **Mahmoudi et al., 2012** :

$$R (\%) = M'/M \times 100$$

R : rendement d'extraction en pourcentage.

M' : masse de l'extrait sec ou d'huile essentielle en gramme.

M : masse de la matière végétale en gramme.

### **III.6. Screening phytochimique**

Le screening phytochimique est le moyen indispensable pour mettre en évidence les différents groupes de familles chimiques présents dans les plantes étudiées. En effet il consiste à réaliser des tests phytochimiques qualitatifs, basés soit sur des réactions de coloration, ou sur la formation des complexes insolubles en utilisant des réactions de précipitation plus ou moins spécifiques à chaque classe de principe actifs. Le principe consiste à l'épuisement de la matière végétale par des solvants à polarité croissante. L'étude tri-phytochimique a été réalisée sur la partie souterraine de *Thapsia garganica*, Le criblage phytochimique des extraits a été effectué en utilisant les procédures standard décrites par **(Shaikh & Patil, 2020)**. Les tests qualitatifs ont été effectués comme suivants :

#### **III.6.1. Test pour les phénols : Test au chlorure ferrique :**

Quelques gouttes de chlorure ferrique aqueux à 10 % ont été ajoutées à l'extrait. L'apparition d'une couleur bleue ou verte indique la présence de phénols.

#### **III.6.2. Test pour les flavonoïdes**

Une à cinq gouttes d'acide chlorhydrique concentré (HCl) ont été ajoutées à une petite quantité d'extrait Méthanolique du matériel végétal. L'apparition immédiate d'une couleur rouge indique la présence de flavonoïdes.

#### **III.6.3. Test des tanins**

Dans un tube à essai, on a ajouté 2mL du chlorure ferrique (5%) à 5mL d'extrait, la formation d'une couleur bleu foncé ou noir verdâtre montre la présence de tanins.

#### **III.6.4. Test pour les coumarines**

Dans un tube à essai, on a ajouté 1mL d'hydroxyde de sodium (NaOH) à 10% et 1mL d'extrait. La présence de coumarines est indiquée par la formation d'une couleur jaune.

#### **III.6.5. Test pour les saponines**

On a ajouté 5mL d'eau à 1mL d'extrait. Et le tube est secoué vigoureusement. La formation d'une mousse abondante formation d'une mousse abondante indique la présence de saponines.

### **III.6.6. Test pour les alcaloïdes : Test de Mayer :**

Deux ml d'extrait sont prélevés dans un tube à essai, puis 0,2mL de HCl dilué est ajouté, suivi de 1 ml de réactif de Meyer. Une coloration jaunâtre indique la présence d'alcaloïdes.

### **III.6.7. Test pour les carbohydrates : Test de Fehling :**

Des quantités égales de solution A et B de Fehling ont été ajoutées à l'extrait et, en chauffant, On a constaté la formation d'une couche de couleur rouge brique.

### **III.6.8. Test de dépistage des protéines : Test de Biuret :**

On a ajouté 1ml de solution d'hydroxyde de sodium à 40% à l'extrait et deux gouttes de solution de sulfate de cuivre à 1%. La formation d'une couleur violette indique la présence de protéines.

### **III.6.9. Test pour les quinones**

On a ajouté 1 mL d'acide sulfurique concentré à 1 mL de l'extrait. La formation d'une couleur rouge montre la présence de quinones.

### **III.6.10. Détection de Terpinoides**

2mL de chloroforme + 5mL d'extrait végétal, (évaporé au bain-marie) + 3mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentré (Une solution de couleur grise).

### **III.6.11. Détection d'antraquinones**

10mL de la solution d'ammoniaque à 10% + quelques ml de filtrat (agité vigoureusement pendant 30 sec) L'apparition d'une couleur rose, violette ou rouge **Shaikh & Patil, (2020)**.

## **III.7. Etude quantitative**

Des déterminations quantitatives des principaux groupes de métabolites secondaires : les polyphénols totaux, les flavonoïdes et les tanins condensés ont été effectuées sur l'extrait de *Thapsia Garganica*. Le choix du dosage de ces substances réside dans le fait que la majorité des propriétés biologiques de la plante lui sont attribués (**Boizot et Charpontier, 2006**).

### **III.7.1. Dosage des composés phénolique**

L'analyse quantitative des composés phénoliques : polyphénols totaux (PT), flavonoïdes totaux (FT), et tanins condensés (TC) est réalisée par le dosage spectrométrie à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible de type Jenway (6715 UV-Vis). La raison principale du choix de ces composés réside dans le fait que la majorité des activités biologiques des plantes leurs sont attribués.

#### **III.7.1.1. Dosage des polyphénols totaux**

Le dosage des polyphénols totaux dans l'extrait des racines de *Thapsia Garganica* a été effectué par la méthode au réactif de Folin-Ciocalteu. En milieu alcalin, le réactif de Folin-



Ciocalteu, oxyde les phénols en ions phénolates et réduit partiellement ses hétéro-polyacides, d'où la formation d'un complexe bleu (Daelsrakotoarison, 1999).

#### **Mise en œuvre pratique**

Selon le protocole décrit par Dewanto et al., (2002), un volume de 125µL des différents extraits (1mg/mL), a été mélangé avec 500µL d'eau distillée et 125µL du réactif de Folin-Ciocalteu 10 fois dilué. Le mélange a été laissé réagir pendant 6 min. Ensuite un volume de 1250 µL d'une solution de carbonate de sodium (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) à 7% a été ajouté au mélange précédent et le volume final a été ajusté à 3 mL avec de l'eau distillée. Les tubes ont été conservés à l'obscurité, à température ambiante pendant 90 mn. L'absorbance a été mesurée à 760 nm.

L'absorption de l'extrait a été comparée avec celle de l'acide gallique traité à différentes concentrations avec le même réactif et dans les mêmes conditions, une courbe d'étalonnage a été réalisée.

Les résultats ont été exprimés en milligrammes-équivalent d'acide gallique/gramme de matière végétale sèche (mg EAG/g).

#### **III.7.1.2. Dosage des flavonoïdes totaux**

Le dosage des flavonoïdes dans l'extrait des racines de *Thapsia garganica* a été effectué par la méthode au chlorure d'aluminium.

Le principe de la méthode est basé sur l'oxydation des flavonoïdes par le trichlorure d'aluminium (AlCl<sub>3</sub>) entraînant un complexe rose qui absorbe à 430nm.

#### **Mise en œuvre pratique :**

Selon le protocole décrit par Ullah et al., (2019) 500µL de différents extraits (1mg/mL), préparés dans le méthanol est mis dans des tubes à essai sur lesquels 500µL de trichlorure d'aluminium (AlCl<sub>3</sub>) à 2% (préparé dans le méthanol) a été ajouté. Le mélange est laissé incubé 15min à température ambiante à l'obscurité, avant la lecture de l'absorbance à 430nm. L'absorption de l'extrait a été comparée avec celle de la quercitrine (10-90µg/mL) est utilisée comme standard. Les concentrations des flavonoïdes contenus dans les extraits sont calculées en se référant à la courbe d'étalonnage de la quercétine (vitamine P).

Les résultats sont exprimés en milligrammes-équivalent de quercétine/g de matière végétale sèche (mg EQ/g).

#### **III.7.1.2. Dosage des tanins condensés**

Le dosage des tanins condensés dans l'extrait des racines de *Thapsia garganica* a été effectué par la méthode à la vanilline cette méthode est basée sur la capacité de la vanilline à réagir avec les unités des tanins condensés en présence d'acide.

### Mise en œuvre pratique

Selon le protocole décrit par **Ali-Rachedi et al., (2018)**, un volume de 50 µL de chaque extrait a été ajouté à 1500 µL de la solution vanilline (Alcoolique) à 4 %, puis mélangé vigoureusement. Ensuite, un volume de 750 µL de l'acide Chlorhydrique concentré (HCl) a été additionné. Le mélange obtenu est laissé réagir à température ambiante pendant 20 min. L'absorbance est mesurée à 550 nm contre un blanc.

L'absorption de l'extrait a été comparée avec celle de la catéchine traitée à différentes concentrations et dans les mêmes conditions, une courbe d'étalonnage a été réalisée.

Les résultats sont exprimés en milligrammes-équivalent de catéchine/gramme de matière végétale sèche (mg EQ/g).

### III.8. Procédés d'étude microbiologique

#### III.8.1. Souches microbiennes testées

Pour cette étude, sept souches microbiennes de références (American Type Culture Collection "ATCC")

connus comme responsables d'infections nosocomiales, ont été testées pour leur sensibilité vis-à-vis des agents antimicrobiens standards (antibiotiques et antifongiques) et biologiques (extrait hydro-méthanolique de *Thapsia garganica*). Les sept souches bactériennes, deux Gram négatives, quatre Gram positives et une levure proviennent de l'Institut Pasteur d'Alger (**Tableau n° 5**).

**Tableau n° 5** : Liste des souches microbiennes testées.

Souche	Code	Gram
<i>Bacillus cereus</i>	ATCC10876	positive
<i>Bacillus cereus</i>	ATCC 11778	positive
<i>Bacillus subtilis</i>	ATCC 6633	positive
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC25923	Positive
<i>Escherichia coli</i>	ATCC25922	Négative
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ATCC700603	Négative
<i>Candida albicans</i>	ATCC10231	

#### III.8.2. Etude de la sensibilité des souches vis-à-vis des agents antimicrobiens standards :

La sensibilité des souches testées aux antibiotiques et aux antifongiques a été évaluée par la méthode de Vincent (**NCCLS, 1997**). Pour les bactéries 100 µL de suspension bactérienne ajustée à une densité approximative de  $10^8$  UFC/mL a été ensemencé sur un milieu

de culture gélosé Mueller Hinton (**Brahmi et al., 2014**). Des disques d'antibiotiques ont ensuite été déposés à l'aide d'une pince stérile à la surface (**Tableau n° 6**). Pour la levure, un volume de 100 µL de suspension fongique ajustée à une densité approximative de 10<sup>6</sup> UFC/mL a été ensemencé sur un milieu de culture gélosé PDA (Potato Dextrose Agar), des disques imprégnés d'une solution d'antifongique (Deptil BFC et Sorbate de Potassium E202) ont ensuite été déposés à l'aide d'une pince stérile à la surface (**Pozzatti et al., 2010**).

**Tableau n° 6** : Liste des antibiotiques utilisés.

Antibiotique	Sigle	Charge du disque
Tobramycine	TOB	10 µg
Norfloxacine	NOR	10 µg
Chloramphénicol	C	30 µg
Acide Nalidixique	NA	30 µg
Erythromycine	E	15 µg
Néomycine	N	30 µg
Doxycycline	DXT	30 µg
Pipéracilline	PRL	30 µg
Polymyxine	PB	100 µg
Gentamicine	CN	30 µg
Carbénicilline	CAR	100 µg
Triméthoprime-Sulfaméthoxazole	SXT	25 µg
Oxacilline	OX	1 µg
Ampicilline	AMP	10 µg
Vancomycine	VA	30 µg
Amikacine	AK	30 µg
Sulfamide	(SSS)	300 µg
Lincomycine	(L)	2 µg

En parallèle, des témoins ont été utilisés pour le contrôle de la croissance des souches testées. Les boîtes de Pétri ont été fermées et laissées diffuser à température ambiante pendant 30 minutes, ensuite portées à incubation à 37°C pendant 24 h pour les bactéries et à 25°C pendant 48 h pour les levures. L'expérience a été répétée 3 fois pour chaque souche microbienne. Les résultats ont été évalués par la mesure, par une pierre de coulisse, de la zone d'inhibition

formant une auréole autour de chaque disque où aucune croissance n'est observée.

### **III.8.3. Etude de l'activité antimicrobienne de l'extrait de *Thapsia garganica* L.**

#### **III.8.3.1. La méthode de Vincent (technique de l'aromatogramme) :**

L'étude de l'activité antimicrobienne de l'extrait de *Thapsia garganica* a été réalisée par la méthode de Vincent, qui repose sur le même principe de l'antibiogramme (NCCLS, 1997). Des disques stériles de papier Wattman de 6 mm de diamètre imbibés de l'extrait à tester, sont déposés à l'aide d'une pince stérile à la surface d'un milieu gélosé ensemencé avec 100 µL de suspension microbienne dont la turbidité a été ajustée à 0.5 McFarland. Les boîtes de Pétri sont fermées et laissées diffuser à température ambiante pendant 30 minutes avant d'être incubées à 37°C pendant 24H pour les bactéries et à 25°C pendant 48H pour les levures. Les essais ont été effectués en triple.

L'activité antimicrobienne de l'extrait est évaluée par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition formée autour du disque.

#### **III.8.3.2. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)**

La Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) de façon générale est la plus faible concentration d'antimicrobien et en extraits des racines sans croissance microbienne visible (pas de turbidité) (Zhang et al., 2016) et pour le déterminer on utilise la méthode de dilution en milieu liquide (microplaque).

Tous les tests ont été effectués dans le milieu Mueller Hinton en bouillon. L'extrait de concentration de 100mg/mL étudié a été dissous dans le diméthylsulfoxyde (DMSO) à 10%, puis dilués à la concentration la plus élevée. Des dilutions en série ont été préparées dans une microplaque de microtitration de 96 puits dans la gamme de concentrations choisie, on met 200 µL de la solution mère dans le premier puits et 100 µL de MH dans le deuxième puits jusqu'au dixième et 100 µL de la solution mère ont été disposés dans le deuxième puits. Après homogénéisation par aspiration-refoulement à l'aide d'une micropipette on obtient 200 µL d'une solution d'extrait à 100mg/mL. 100 µL de cette nouvelle solution a été prélevés et mélangé au milieu MH contenu dans le troisième puits et ainsi de suite jusqu'au dixième puits dont on jette les 100 µL. 90 µL de MH ont été déposés dans chaque puits. Enfin 10 µL de la suspension bactérienne ont été ajoutés dans les puits de 1 à 10. Les 11ème et 12ème puits ont été respectivement le contrôle positif (souche+MH) et le contrôle négative (DMSO+MH) Après 18h d'incubation pour les bactéries et 48h pour les levures, la CMI a été déterminée à partir du premier puits où aucune croissance n'est visible. La lecture est effectuée après l'ajout de 40 µL de TTC préparé extemporanément dans de l'eau physiologique stérile (0.9% Na Cl). Les microplaques ont été réincubées pendant 10 à 30 min, la viabilité des cellules

dans chaque puits a été détectée par l'apparition d'une coloration rose (Balouiri et al., 2016). Les essais ont été effectués entriples.

### III.8.3.3. Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB - CMF)

Pour déterminer la concentration minimale bactéricide et fongicide, une sous-culture de chaque puits ou aucune croissance microbienne n'a été observée est ensemencée sur milieu gélosé MH pour les bactéries puis incubée à 37°C pendant 24H, et Sabouraud pour la levure *C. albicans* ensuite incubée à 25°C pendant 48H, en commençant par le puits correspondant à la CMI (Silva et al., 2010). La CMB et la CMF correspond à la plus faible concentration d'extraits dont le repiquage ne montre aucune croissance de germe (Zhang et al., 2016). Chaque essai a été répété trois fois.

En se référant au rapport CMB/CMI ou CMF/CMI, l'effet antimicrobien peut être jugé comme suit (Sbayou et al., 2014) :

Rapport CMB/CMI ou CMF/CMI < 4 : effet bactéricide

Rapport CMB/CMI ou CMF/CMI > 4 : effet bactériostatique.

## III.9. Activités antioxydantes :

### III.9.1. Test DPPH

La procédure décrite par Thaiponga et al., (2006) a été suivie pour évaluer l'effet de piégeage des radicaux libres des extraits de *Thapsia garganica* L. sur le radical DPPH. Des volumes de 150 µL d'extraits à diverses dilutions (500-250-125-62,5-31,25-15,625-7,8125 µg/mL) ont été mélangés avec 2850 µL de solution de travail DPPH (24 µg/100 mL dans du méthanol) ont été dilués pour obtenir une absorbance de  $1,1 \pm 0,02$  à 515 nm) pendant 30 min. L'absorbance a ensuite été enregistrée à 515 nm. L'acide ascorbique. (120-100-80-60-40-20 µg/mL).

Le % d'inhibition des extraits a été calculé selon la formule suivante :

$$I\% = (A_{\text{contrôle}} - A_{\text{extrait}}) / A_{\text{contrôle}} \times 100$$

Les concentrations des échantillons fournissant 50 % d'effet antioxydant (EC50) ont été déterminées à l'aide des graphiques des pourcentages d'effet antioxydant par rapport aux concentrations des échantillons.

### III.9.2. Test de FRAP

Cette technique est basée sur la capacité des huiles essentielles et des extraits de réduire le fer ferrique (Fe<sup>3+</sup>) présent dans le complexe ferrocyanure de potassium (K<sub>3</sub>Fe (CN)<sub>6</sub>) en fer ferreux (Fe<sup>2+</sup>), ce qui induit le virage de la couleur jaune du fer ferrique à la couleur bleu-vert de fer ferreux.

#### Mode opératoire :

Le pouvoir réducteur des huiles essentielles et des extraits a été déterminé selon le protocole

préconisé par **Oyaizu, (1986)**. Un volume de 2.5mL de solution tampon phosphate (0.2M, PH6.6), et de 2.5mL de ferrocyanure du potassium  $K_3Fe(CN)_6$  à 1% est mélangé avec 1mL de chacune des solutions Méthanoliques d'extrait à différentes concentrations. Le mélange est incubé à 50°C au bain-Marie pendant 20min, puis refroidi à température ambiante, 2.5mL d'acide trichloracétique (10%) a été ajouté pour stopper la réaction. Le mélange est centrifugé pendant 10 min à 3000 rpm, puis 2.5mL de surnageant est mélangé avec 2.5mL d'eau distillée et 0.5mL d'une solution de  $FeCl_3$  (0.1%). Après 10min d'incubation l'absorbance des solutions a été mesurée à 700nm, en utilisant l'eau distillée comme blanc. Une solution d'acide ascorbique préparée dans les mêmes conditions à différentes concentrations est utilisée comme contrôle positif.

La valeur IC50 est la concentration efficace en extrait ou l'huile essentielle qui fournit 0,5 d'absorbance, elle est déterminée par interpolation à partir de l'équation de la régression linéaire.

# **Résultats et discussion**

## V. Résultats et discussion

### IV.1. Matériel végétal

#### IV.1.1 Taux d'humidité

La détermination de l'humidité des racines de l'espèce *Thapsia garganica*, récolté du douar Ouled Sidi Amar (Mostaganem) a révélé un taux de 61.91%, ce qui signifie que le taux de matière sèche ayant servi réellement à l'extraction des extraits est de 39.09%. Le taux d'humidité de nos racines est inférieur à celui des racines de *Thapsia garganica* récoltée de la région d'Attallah (Wilaya de Bejaia) (Seoud et Touahria, 2022) et d'ElHamadia (Wilaya de Bordj-Bou-Argeridj) (Riah et Senouci, 2017) qui est de 78% et de 88% respectivement. Les variations rencontrées dans la teneur en eau de nos échantillons comparé aux travaux précités, peuvent être dues à des facteurs environnementaux tels que les conditions climatiques et la répartition géographique (Besombes, 2008).

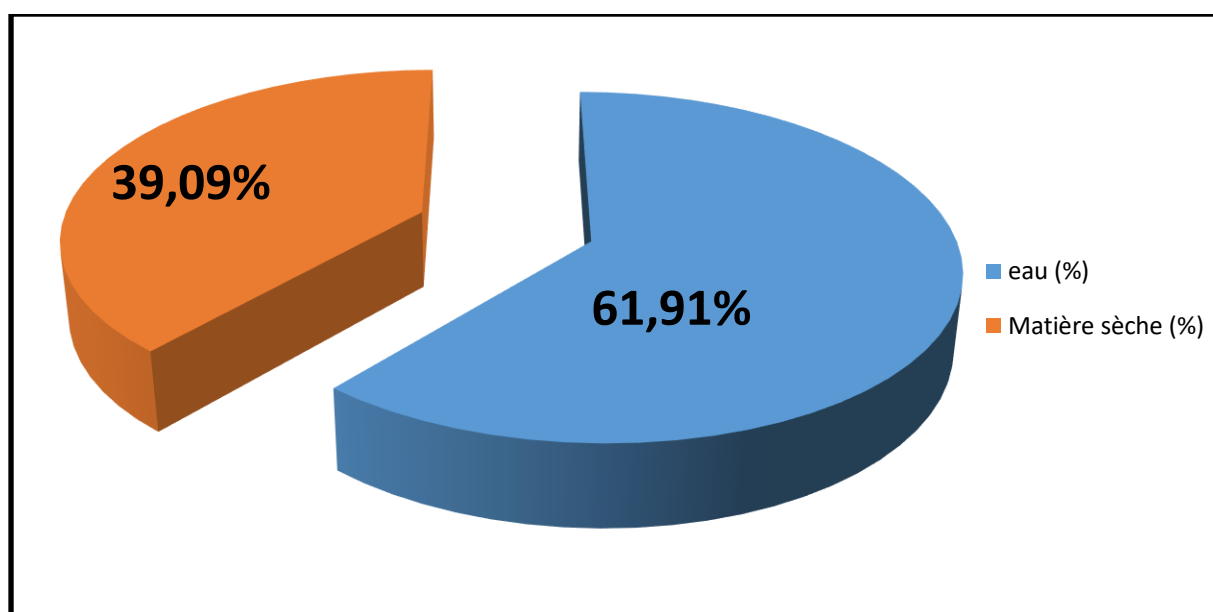


Figure n° 7 : Taux d'humidité des racines de l'espèce *Thapsia garganica*

#### IV.1.2. Rendement en extrait bruts

Le rendement moyen en extraits hydrométhanolique des racines de *Thapsia garganica* par macération est de 8,6 (%). Le résultat obtenu est exprimé dans le tableau n° 7.

Tableau n° 7 : Le rendement en extraits hydrométhanolique obtenus des racines de *Thapsia garganica*.

Extrait	Solvant utilisé	Rendement (%)
Extrait brut	Hydro- méthanolique	8,6



Le **Tableau n° 7** montre que les racines de *Thapsia garganica* ont donné un rendement de 8,6% en extrait bruts hydrométhanolique.

De nombreux travaux effectués sur *Thapsia garganica* provenant de différentes régions en Algérie ont montré des rendements variables et inférieurs comparés à nos rendements.

Des études faites sur les racines de *T. garganica* récoltées dans la région d'Attallah (Wilaya de Bejaia) à donner un rendement de 4,69% (**Seoud et Touahria, 2022**) et dans la région de Maadid dans la Wilaya de M'sila à donner un rendement de 3,6% (**Djerarda et al., 2022**), ces résultats sont inférieurs au rendement qu'on a obtenu. Une autre étude au Maroc a montré une valeur de 16.13% de rendement des racines de *T. garganica* récoltées dans la région d'Amizmiz (**Bouimeja et al., 2018**).

Cette variabilité des rendements est peut-être due aux variations géographiques et climatiques.

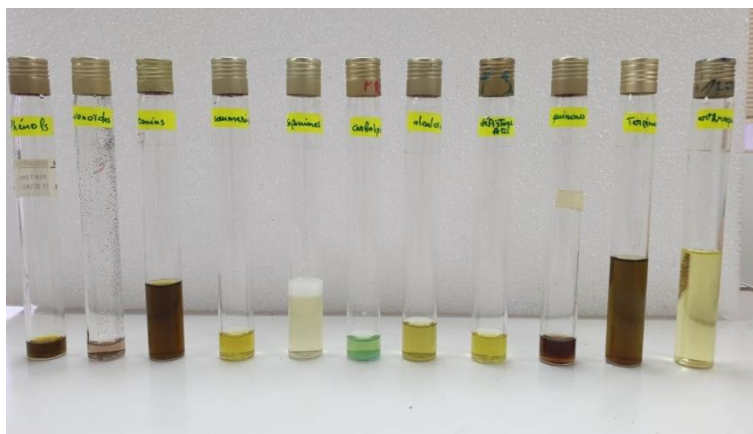
#### **IV.2 Screening phytochimique**

La détermination de la composition phytochimique des racines de *Thapsia garganica*, par les réactions de coloration et de précipitation, nous a permis de constater la présence de différents groupes chimiques. Les résultats sont exprimés dans le **tableau n° 8**. Ces résultats montrent la présence des phénols, des tanins, des coumarines, des saponines, des alcaloïdes, des quinones et des terpénoïdes et l'absence totale des flavonoïdes, des carbohydrates, des protéines et des anthraquinones.

Nos résultats ne sont pas en accord avec ceux obtenus par **Djerarda et al., (2022)**. En effet, ces derniers ont indiqué la présence des flavonoïdes, des tanins, des quinones et des terpénoïdes et l'absence des saponines, des coumarines et alcaloïdes dans les racines de *Thapsia garganica* récoltées dans la région de Maadid dans la Wilaya de M'sila.

**Tableau n°8** : résultats du screening phytochimique des racines de *Thapsia garganica*.

<b>Composés phytochimiques recherchés des racines de <i>Thapsia garganica</i></b>	
<b>Présent</b>	<b>Absent</b>
Phénols	Flavonoïdes
Tanins	Carbohydrates
Coumarines	Protéines
Saponines	Anthraquinones
Alcaloïdes	
Quinones	
Terpinoïdes	



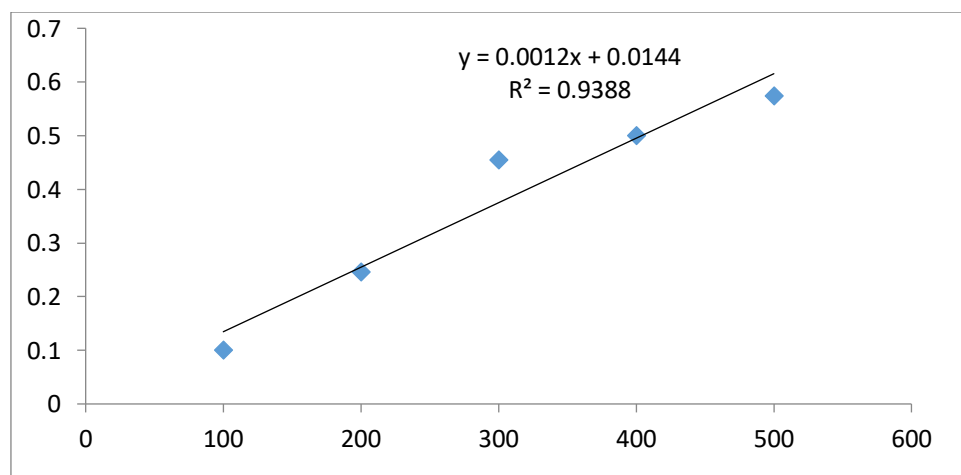
**Figure n°1** : Résultat de screening phytochimique.

### **IV.3. Dosages des composés phénoliques**

#### **IV.3.1. Dosages des polyphénols totaux**

Le dosage des polyphénols totaux est réalisé par la méthode au réactif du Folin-Ciocalteu, l'acide gallique pris comme contrôle positif nous a permis de réaliser une courbe d'étalonnage (**Figure n° 8**), ce qui nous a permis de calculer la teneur en polyphénols pour l'extrait de *Thapsia garganica* qui est exprimée en milligramme équivalent d'acide gallique par gramme de matière végétale sèche.

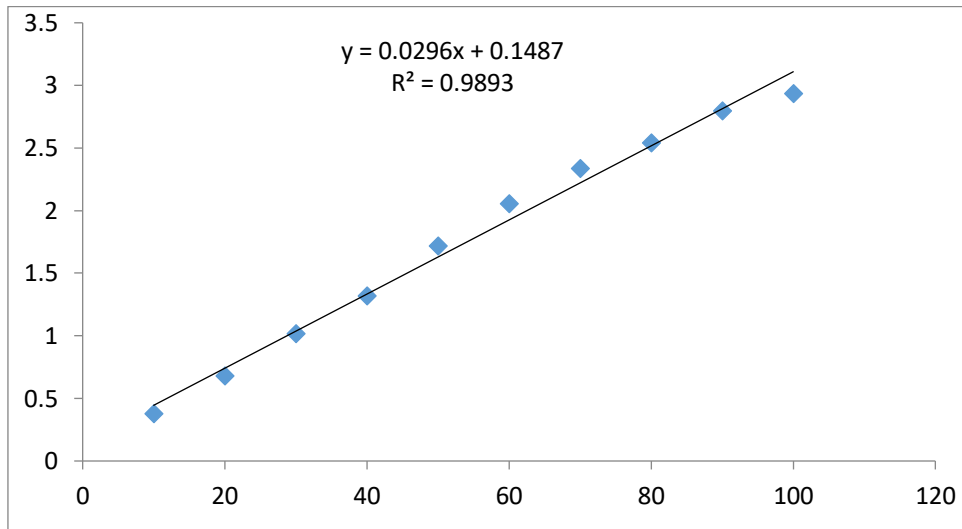
La teneur des polyphénols obtenu dans la racine de *Thapsia garganica* étudiée est de 405mg/mL. Notre résultat est inférieur à celle obtenu par **Khamadj & Dahman, (2019)** dans la région de Tasarast (Mansouria) Wilaya de BBA (507.79 mg/mL). Par contre la teneur trouvé par **Seoud et Touahria, (2022)** est de 44,81 mg/mL dans la région de Attallah (Willaya de Bejaia), nettement inférieur à notre résultat et à celle de **Khamadj & Dahman, (2019)**. Cette variation est peut-être dû à la variation de la région de collecte et la nature de sol.



**Figure n° 8** : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux.

#### IV.3.2. Dosage des flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes est déterminé par la méthode de chlorure d'aluminium, la quercétine prise comme contrôle positif nous a permis de tracer une courbe d'étalonnage (**Figure n° 9**), ce qui nous a permis de calculer la teneur en flavonoïdes dans l'extrait de *Thapsia garganica*, qui est exprimée en milligramme équivalent de quercétine par gramme de matière végétale sèche (mgEQ/g).

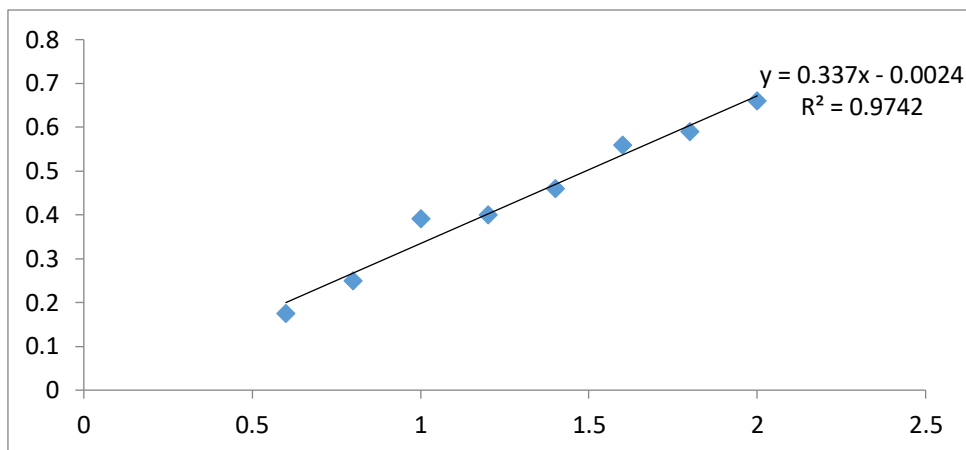


**Figure n° 9** : courbe d'étalonnage de la quercétine pour le dosage des flavonoïdes.

La teneur des flavonoïdes était de 11,65mg/mL. Notre valeur est supérieure à celle obtenue par **Seoud et Touahria, (2022)** dans la région de Attallah de la Wilaya de Bejaia (6,8 mg/mL) et inférieure à celle obtenue par **Belbagra et Bouguerra (2022)** dans la région de Ghilassa wilaya de Bordj Bou Arreridj (21.86 mg/mL). Là aussi la variation dans les teneurs est probablement due à la nature des sols de collecte et du climat.

#### IV.3.3. Dosage des tanins

Le dosage des tanins est évalué par la méthode à la vanilline, la catéchine prise comme contrôle positif nous a permis de tracer une courbe d'étalonnage (**Figure n° 10**), ce qui nous a permis de calculer la teneur en tanins dans l'extrait de *Thapsia garganica*, qui est exprimée en milligramme équivalent de catéchine par gramme de matière végétale sèche (mgEC/g).



**Figure n° 10:** courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage de tanins.

La valeur des tanins est de 0,18 mg/mL. Notre valeur est en accord avec celle obtenue par **Athmouni et al., (2015)** dans les racines de *Thapsia garganica* de la région de Gafsa (Tunis) (0,21 mg/mL).

#### **IV.4. Etude de l'activité antimicrobienne**

##### **IV.4.1. Etude de la sensibilité des souches vis-à-vis des agents antimicrobiens standards**

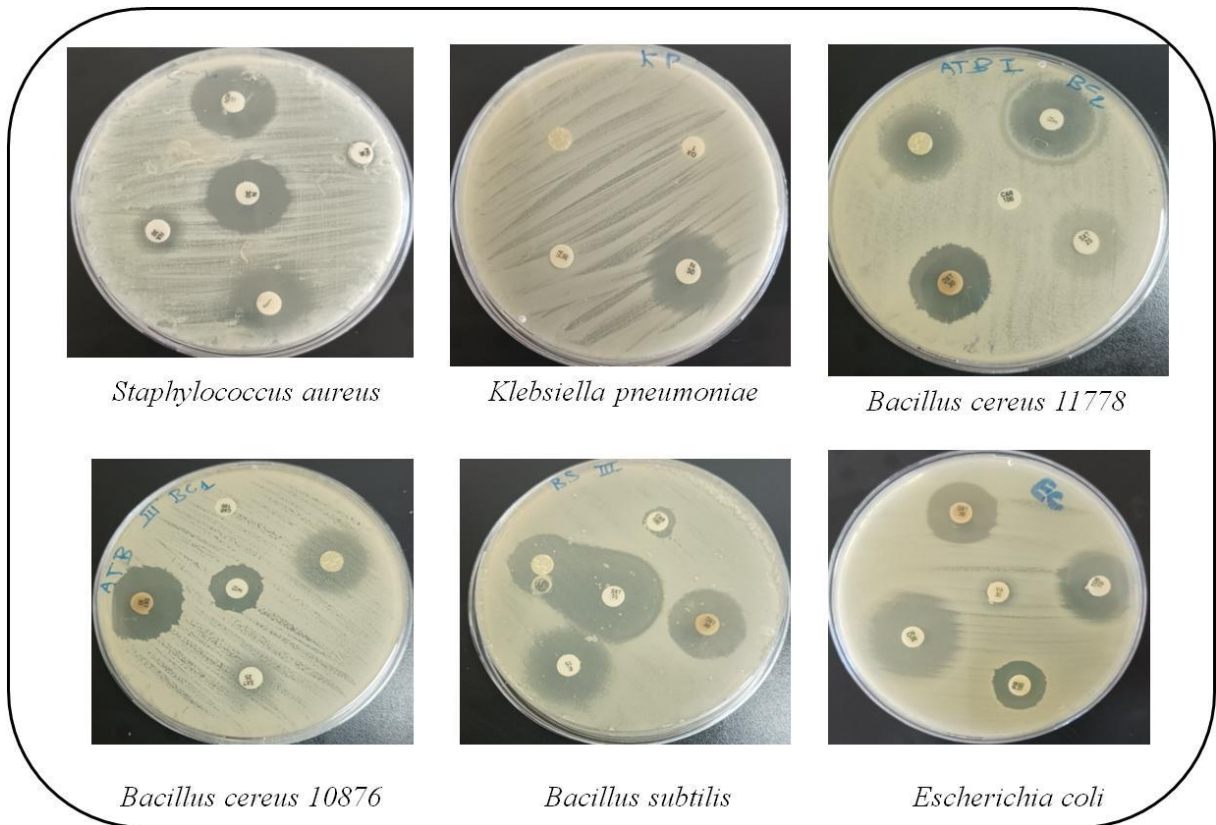
La sensibilité des souches microbiennes testées vis-à-vis des agents antimicrobiens standards a été évaluée par antibiogramme. Les résultats obtenus sont exprimés dans le **tableau n° 9** et **la figure n° 11 (Annexe n°)**. En se basant sur les résultats présentés dans le **tableau n° 9**, nous constatons que les souches bactériennes testées ont présenté différents degrés de sensibilité à la plupart des agents antibactériens employés. Les diamètres des zones d'inhibition enregistrés varient entre 7,11 et 33,29mm. Les antibiotiques qui ont donné les plus grandes zones d'inhibitions sont les suivants : NOR10 contre *E.coli* (33,29mm), *B.subtilis* (27,92mm), *B.cereus 10876* (21,76mm), *S.aureus* (21,4mm) et *B.cereus 11778* (20,42mm), C30 contre *E.coli* (31,53mm), *B.subtilis* (27mm), *S.aureus* (23,93mm) et *K.pneumoniae*, CN30 contre *B.subtilis* (30,32mm), *E.coli* (27,03mm), *B.cereus 11778* (22,53mm) et *B.cereus 10876* (21,22mm), DXT30 contre *S.aureus* (29,3mm), *B.cereus 10876* (23,11mm) et *E.coli* (20,18mm), SXT25 contre *B.subtilis* (26,98mm), *E.coli* (25,41mm) et *S.aureus* (23,33mm), NA30 contre *E.coli* (26,04mm), TOB 10 contre *B.subtilis* (25,03mm) et *E.coli* (21,19mm), AK30 contre *B.subtilis* (23,65mm), *E.coli* (22,09mm), *B.cereus 11778* (21,56mm) et *B.cereus 10876* (20,07mm), E15 contre *B.subtilis* (23,58mm) et *B.cereus 11778* (21,91mm), N30 contre *E.coli* (23,48mm), *B.subtilis* (22,88mm), *B.cereus 11778* (21,84mm), *S.aureus* (21,03mm) et *B.cereus 10876* (20,87mm), SSS contre *B.cereus 11778* (22,94mm), *E.coli* (21,96mm) et *S.aureus* (20,33mm), PB 100 contre *B.cereus 11778* (21,84mm) et

*B.cereus* 10876 (20,78mm) et VA30 contre *B.subtilis* (20,56mm). Les antibiotiques qui se sont montrés inactifs contre plus de deux bactéries sont : CAR100 vis-à-vis *B.cereus* 10876, *B.cereus* 11778, *E.coli* et *K.pneumoniae*, SXT25 vis-à-vis *B.cereus* 10876, *B.cereus* 11778 et *K.pneumoniae*, OX1 vis-à-vis *B.cereus* 10876, *B.cereus* 11778, *B.subtilis*, et *E.coli* et *K.pneumoniae*, PRL30 vis-à-vis PRL30 vis-à-vis *B.cereus* 10876, *B.cereus* 11778, *E.coli* et *K.pneumoniae* et AMP10 vis-à-vis *B.cereus* 10876, *B.cereus* 11778, *E.coli* et *K.pneumoniae*.

**Tableau n° 9** : Résultats de l'activité antimicrobienne des antibiotiques et des antifongiques exprimés par le diamètre de la zone d'inhibition en mm.

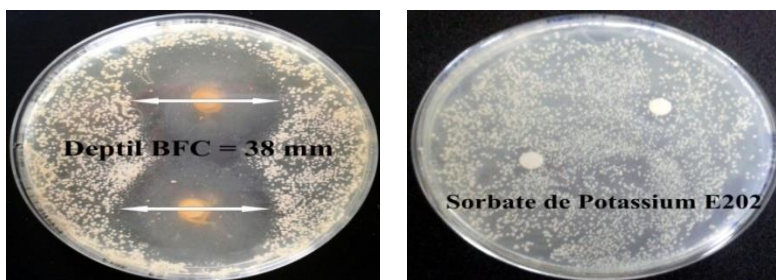
ATB	<i>B.cereus</i> 10876	<i>B.cereus</i> 11778	<i>B.subtilis</i>	<i>E.coli</i>	<i>K.pneumoniae</i>	<i>S. aureus</i>	<i>C.albicans</i>
C30	19,33	16,84	27	31,53	23	23,93	-
N30	20,87	21,84	22,88	23,48	20,28	21,03	-
PB100	20,78	21,84	11,97	15,49	18,63	7,11	-
CN 30	21,22	22,53	30,32	27,03	0	18,77	-
CAR100	0	0	9,71	0	0	9,9	-
DXT 30	23,11	19,84	19,66	20,18	14,96	29,3	-
SXT25	0	0	26,98	25,41	0	23,33	-
E15	14,51	21,91	23,58	0	0	19,03	-
OX1	0	0	0	0	0	12,33	-
PRL30	0	0	8,7	0	0	7,55	-
AMP10	0	0	14,97	0	0	12,11	-
NA30	14,2	16,14	19,81	26,04	0		-
VA30	14,2	15,74	20,56	7,51	0	17,66	-
TOB10	15,84	13,76	25,03	21,19	0	19,26	-
NOR10	21,76	20,42	27,92	33,29	0	21,4	-
AK30	20,07	21,56	23,65	22,09	0	13,6	-
(SSS)	0	22,94	19,02	21,96	0	20,33	-
(L)2	9,92	11,56	7,72	0	0	19,5	-

<b>Deptil BFC</b>	-	-	-	-	-	-	38
<b>Sorbate de Potassium E202</b>	-	-	-	-	-	-	-



**Figure :** Effet des antibiotiques sur les souches étudiées.

Concernant les antifongiques contre *Candida albicans* ATCC 10231, Deptil BFC s'est avéré être le plus actif avec un diamètre d'inhibition de 38mm. Aucune croissance contre l'antifongique : Sorbate de Potassium E202.



**Effet de l'antifongique Deptil BFC sur *Candida albicans* ATCC 10231**

#### IV.4.2. Etude de l'activité antimicrobienne de l'extrait hydrométhanolique de *Thapsia garganica*

Pendant des siècles, des préparations contenant les racines de *T. garganica* L. ont été utilisées en médecine arabe et européenne pour le traitement des maladies pulmonaires, du catarrhe et comme contre-irritants pour le soulagement des douleurs rhumatismales (**Casiglia et al., 2016 ; Aici et Benmehdi, 2021**). L'activité antimicrobienne de l'extrait hydrométhanolique de *Thapsiagarganica* a été évaluée par la méthode de diffusion des disques sur milieu gélosé, et les résultats sont présentés dans le **tableau n° 10 et figure n° 12 (Annexe n°)**. En raison de l'augmentation des agents pathogènes résistants aux antibiotiques, les extraits de plantes sont estimés comme les meilleures sources pour inhiber la croissance d'un large éventail de nombreux micro-organismes résistants (**Boussena et al., 2022**).

En se basant sur les résultats de l'activité antimicrobienne de l'extrait hydrométhanolique de *Thapsiagarganica* (**tableau n° 10**), nous constatons que ce dernier a exercé un pouvoir antimicrobien contre les souches microbiennes testées, les diamètres des zones d'inhibition varient entre 10.63 et 13.56 mm. Les souches les plus sensibles sont le genre de *Bacillus* : *B. cereus* ATCC 10876, *B. cereus* ATCC 11778 et *B. subtilis* ATCC 6633 avec des diamètres de zones d'inhibition de 13.56, 11.4 et 10.63 mm respectivement. La souche la moins sensible est *S. aureus* ATCC 25923 avec un diamètre de zone d'inhibition de 10.63mm.

Plusieurs études sur l'activité inhibitrice de l'extrait hydrométhanolique de *Thapsia garganica* ont montré une activité antimicrobienne modérée en comparant avec les huiles essentielles (**Seoud et Touahria, 2021 ; Djerarda et al., 2021 ; Aici et Benmehdi, 2021**).

**Tableau n° 10** : Résultats de l'activité antimicrobienne de l'extrait hydrométhanolique de *Thapsiagarganica* exprimés par le diamètre de la zone d'inhibition en mm.

Souche	Extrait hydrométhanolique
<i>B. cereus</i> ATCC 10876	13.56
<i>B. cereus</i> ATCC 11778	11.4
<i>E. coli</i> ATCC 25922	-
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	10.63
<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	10.99
<i>K. pneumoniae</i> ATCC 700603	-
<i>C. albicans</i> ATCC 10231	-

Toutes les valeurs (zone d'inhibition incluant le diamètre du disque de 6 mm) sont exprimées en moyenne de trois essais ; ATCC : American Type Culture Collection.





*B. cereus* ATCC10876

*B. subtilis* ATCC6633

*S. aureus* ATCC25923



*B. cereus* ATCC11778

*K. pneumoniae* ATCC700603

*E. coli* ATCC25922

**Figure n°2** : Effet de l'extrait hydrométhanolique de *Thapsia garganica* L. sur les souches étudiées

Ces résultats sont en accord avec ceux de **Sait et Smaoun, (2012)**. Ces derniers ont trouvé que l'effet de l'extrait hydrométhanolique est meilleure sur les souches gram positives que les souches gram négatives (**Sait et Smaoun, 2012**).

#### **IV.4. 3. Détermination des concentrations minimales inhibitrice (CMI), bactéricide (CMB) et fongicide (CMF)**

Les résultats de la détermination des paramètres antimicrobiens (CMI, CMB et CMF) de l'extrait hydrométhanolique de *Thapsia garganica* sont exprimés dans le **tableau n°11**.

**Tableau n° 11** : Valeurs des paramètres antimicrobiens de l'extrait hydrométhanolique de *Thapsia garganica*



Souche	CMI	CMB-CMF	CMB/CMI CMF/CMI	Activité
<i>B. cereus</i> ATCC 10876	31.25	125	4	Bactéricide
<i>B. cereus</i> ATCC 11778	15.625	125	8	Bactériostatique
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	31.25	125	4	Bactéricide
<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	31.25	125	4	Bactéricide

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice ; CMB : Concentration Minimale Bactéricide ; CMF : Concentration Minimale.

En se basant sur les résultats des paramètres antimicrobiens de l'extrait hydrométhanolique de *Thapsia garganica* (**tableau n° 11**), nous remarquons que cette dernière a exercé une activité contre les souches microbiennes testées, les valeurs obtenues sont d'une gamme allant de 31.25 à 15.625 µl/mL pour la CMI et de 125 µl/mL pour la CMB et la CMF.

La susceptibilité a été particulièrement importante chez *B. cereus* ATCC 10876, *S. aureus* ATCC 25923 et *B. subtilis* ATCC 6633.

Effectivement, *B. cereus* ATCC 10876, *S. aureus* ATCC 25923 et *B. subtilis* ATCC 6633 étaient plus sensibles que *B. cereus* ATCC 11778 à l'extrait hydrométhanolique de *Thapsia garganica*.

Selon **Marmonier (1990)**, si le rapport d'activité CMB/CMI ou CMF/CMI d'une substance antimicrobienne est inférieur ou égal à 4, cette dernière est qualifiée de substance bactéricide ou fongicide et si le rapport est supérieur à 4, elle est alors dite bactériostatique ou fongistatique.

Les résultats des paramètres antimicrobiens de l'extrait hydrométhanolique de *Thapsia garganica* (**tableau n°11**), confirment l'effet inhibiteur de ce dernier sur les souches microbiennes testées. En effet, l'extrait hydrométhanolique a montré une activité bactéricide sur *B. cereus* ATCC 10876, *S. aureus* ATCC 25923 et *B. subtilis* ATCC 6633.

La différence dans la structure de la paroi bactérienne joue un rôle important dans la susceptibilité des bactéries (**Tian et al., 2009**). Plusieurs travaux ont mis en évidence la grande sensibilité des bactéries Gram positives aux extraits de plantes par rapport aux bactéries Gram négatives (**Hayouni et al., 2007 ; Falleh et al., 2008**). Les bactéries Gram négatives possèdent une membrane externe constituée principalement de lipopolysaccharides (LPS) et des protéines majoritaires appelées porines. Cette membrane est imperméable à la plupart des molécules.

De plus, selon **Shan et al. (2007)**, la membrane des bactéries Gram négatives est associée à des enzymes dans l'espace périplasmique qui sont capable de détruire les

molécules intruses. En effet les extrémités lipophiles des acides lipoteichoïques de la paroi des bactéries Gram positives facilitent la pénétration des composés hydrophobes (Boussaada et al., 2008), tels que les tannins qui peuvent atteindre la membrane cytoplasmique, et perturbent la force motrice de protons, le transport actif et la coagulation du contenu cellulaire (Tian et al., 2009).

L'effet inhibiteur des composés phénoliques (acides phénoliques, flavonoïdes et coumarines) et sesquiterpènes (thapsigargine) peut être expliqué par l'adsorption à la membrane cellulaire, interaction avec les enzymes, privation des substances et des ions métalliques (Rodriguez-Vaquero et al., 2007).

#### IV.5. Activité antioxydante :

L'activité antioxydante de l'extrait hydrométhanolique des racines de *Thapsiagarganica* a été évaluée en utilisant deux tests, le test DPPH et le test de FRAP.

##### Test DPPH

L'évaluation de l'activité antioxydante de l'extrait hydrométhanolique des racines de *Thapsia garganica* a été réalisée par la mesure de la capacité de cette dernière, à différentes concentrations, à piéger le radical libre DPPH. L'acide ascorbique a été utilisé, à différentes concentrations, comme antioxydant standard afin de comparer son pouvoir antiradicalaire à celui de la plante étudiée. La  $CE_{50}$  a été également calculée. Les résultats obtenus sont illustrés dans les figures n° 13 et n° 14 et le tableau n° 12.

Il est admis que plus cette valeur est basse, plus l'extrait est puissant vis-à-vis les radicaux libres.

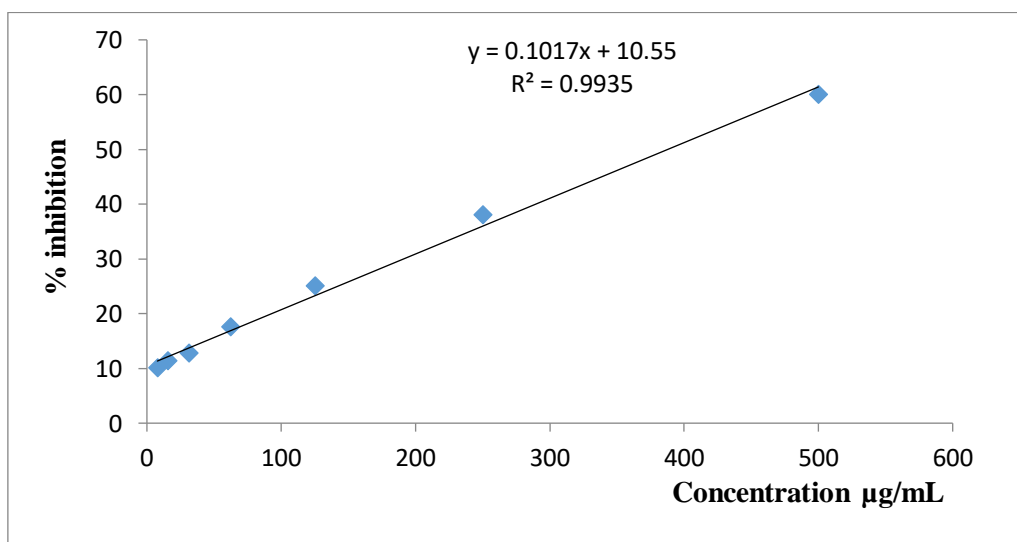
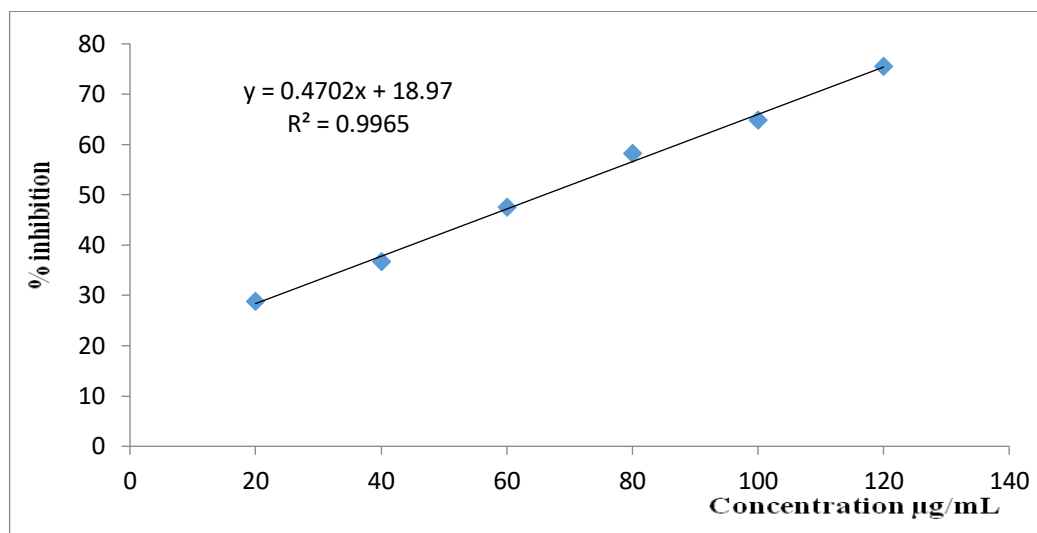


Figure n°13 : Pourcentages d'inhibition de DPPH en fonction des différentes concentrations d'extrait

**La figure n°10** indique une augmentation des pourcentages d'inhibition de l'absorbance de la solution du DPPH en fonction des concentrations d'extrait testé. A la plus faible concentration (7,81 µg/mL), l'extrait de *Thapsia garganica* présente un pourcentage d'inhibition de 10,09 %, tandis qu'à la plus grande concentration (500 µg/mL), le pourcentage d'inhibition a atteint 59,96 %. Ceci montre que l'espèce *Thapsia garganica* possède un grand potentiel antioxydant.



**Figure n° 14 :** Pourcentages d'inhibition de DPPH en fonction des différentes concentrations utilisées d'acide ascorbique

Nous notons d'après la **figure n°14** que l'acide ascorbique a provoqué une réduction presque totale du DPPH en sa forme non radicalaire DPPH-H. La réduction de l'absorbance du DPPH a été beaucoup plus importante, en effet, à seulement 20 µg/mL le pourcentage d'inhibition a atteint 28,71 %, puis à partir de cette concentration, une augmentation extrêmement intense a été observée donnant ainsi, à 80 µg/mL, un PI de 58,1 % qui atteint une réduction de 75,54 % à la plus grande concentration (120 µg/mL).

**Tableau n° 12 :** Résultats des IC<sub>50</sub> exprimés en (µg/mL) d'inhibition de DPPH de l'extrait et l'acide ascorbique.

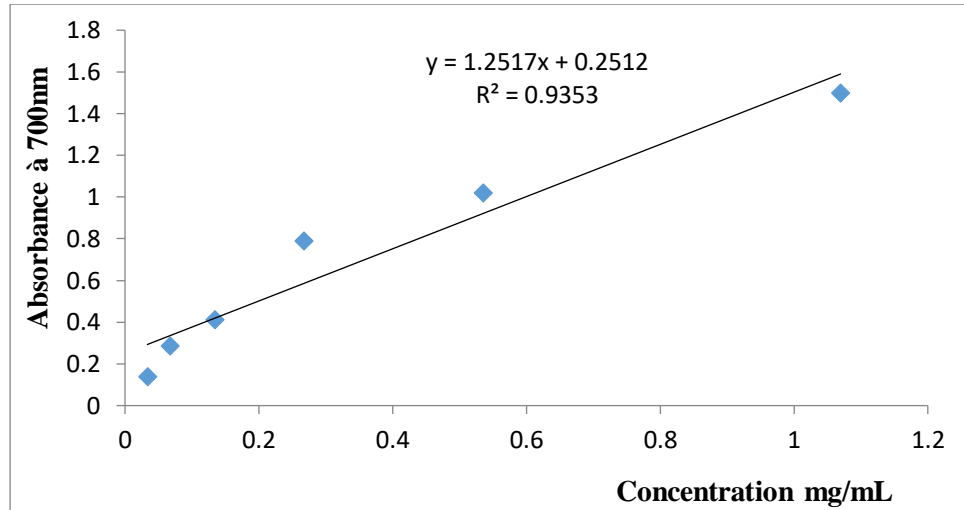
Produit	IC <sub>50</sub> (µg/mL)
L'extrait de <i>Thapsia garganica</i>	390,59
Acide ascorbique	66,02

D'après les résultats du **tableau n°12**, la valeur de CE<sub>50</sub> de l'acide ascorbique est de 66,02 µg/mL, tandis que celle de l'extrait des racines de *Thapsia garganica* est de 390,59 µg/mL.

### Test de FRAP

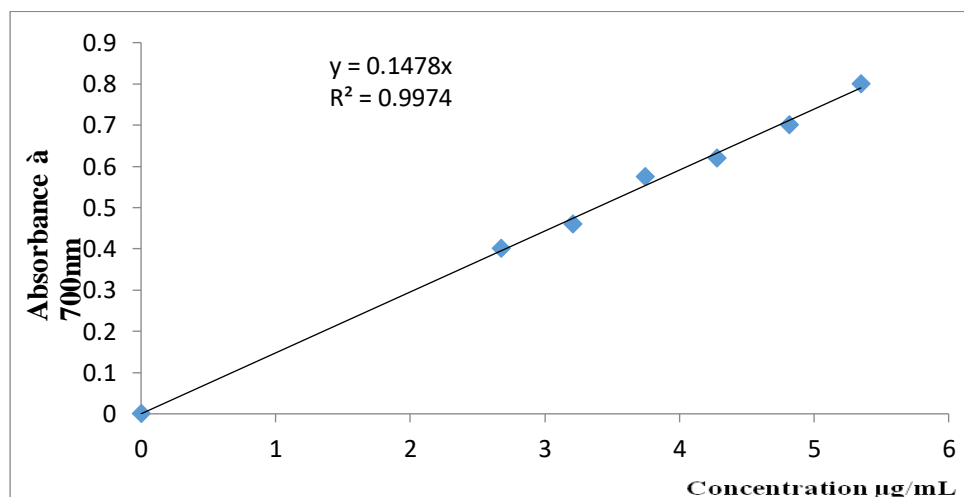
Dans ce test, la capacité antioxydante de l'extrait hydrométhanolique est révélée par le virage

de couleur du milieu, qui due à la réduction du fer ferrique (Fe<sup>3+</sup>) en fer ferreux (Fe<sup>2+</sup>), l'intensité de la couleur est mesurée et s'exprimée en DO. L'acide ascorbique a été utilisé, à différentes concentrations, comme antioxydant standard afin de comparer son pouvoir réducteur. La concentration efficace en extraits qui fournit 0.5 d'absorbance (CE50) a été également calculée. Les résultats obtenus sont illustrés dans les figures n°15 et n°16 et Tableau n°13.



**Figure n°15 :** Pouvoir réducteur de l'extrait

Nous remarquons que le pouvoir réducteur, exprimé en absorbances, de l'extrait de *Thapsia garganica* est proportionnel à l'augmentation des concentrations, à la plus faible concentration (0,033 mg/mL), l'extrait a présenté une densité optique (DO) de 0,139. Tandis qu'à la plus grande concentration (1,06 mg/mL), la densité optique est de l'ordre de 1,499. Ceci confirme le grand potentiel antioxydant de l'espèce *Thapsia garganica*.



**Figure n°16 :** pouvoir réducteur de l'acide ascorbique

Nous notons selon les résultats de la figure n°16 que la réduction du fer par l'acide ascorbique, a été bien plus importante, en effet, la plus grande absorbance a été de 0,8 et ce à 5,347 µg/mL.

**Tableau n° 13 :** Valeurs de la concentration efficace 50 d'extrait d'espèce étudiée et de l'acide

ascorbique

Produit	CE <sub>50</sub> (µg/mL)
L'extrait de <i>Thapsia garganica</i>	198,09
Acide ascorbique	3,40

D'après les résultats du **tableau n°13**, la valeur de CE<sub>50</sub> de l'acide ascorbique est de 3,40 µg/mL, tandis que celle de l'extrait des racines de *Thapsia garganica* est de 198,09 µg/mL.

Les résultats de l'évaluation de l'activité antioxydante de l'espèce *Thapsia garganica* nous ont permis de constater que l'extrait possédait un pouvoir antioxydant, mais qui reste largement plus inférieur à celui de l'acide ascorbique.

Plusieurs travaux ont montré l'activité antioxydante des racines de *Thapsia garganica* (**Boussaada et al., 2008 ; Aici et Benmehdi, 2021** )

# Conclusion

## VI. Conclusion

La détermination de l'humidité des racines de l'espèce *Thapsia garganica* a révélé un taux de 61.91%. Le rendement moyen en extraits hydrométhanolique par macération est de 8,6 (%). La détermination de la composition phytochimique des racines de *Thapsia garganica* montre la présence des phénols, des tanins, des coumarines, des saponines, des alcaloïdes, des quinones et des terpénoïdes et l'absence totale des flavonoïdes, des carbohydrates, des protéines et des anthraquinones. Les teneurs des polyphénols, des flavonoïdes et des tanins obtenus dans la racine de *Thapsia garganica* étudiée sont de 405mg/mL, 11,65mg/mL et de 0,18 mg/mL respectivement. Les souches microbiennes testées ont présenté différents degrés de sensibilité à la plupart des agents antimicrobiens employés. Les diamètres des zones d'inhibition enregistrés varient entre 7,51 et 33,29mm. Les antibiotiques qui ont donné les plus grandes zones d'inhibitions sont NOR10, CN30, DXT30, SXT25, NA30, AK30, E15, N30, SSS, PB et VA30. Les résultats de l'activité antimicrobienne de l'extrait hydrométhanolique de *Thapsia garganica* montrent que ce dernier a exercé un pouvoir antimicrobien contre les souches microbiennes testées, les diamètres des zones d'inhibition

varient entre 10.63 et 13.56 mm. Les souches les plus sensibles sont le genre de Bacillus : *B. cereus* ATCC 10876, *B. cereus* ATCC 11778 et *B. subtilis* ATCC 6633 avec des diamètres de zones d'inhibition de 13.56, 11.4 et 10.63 mm respectivement. La souche la moins sensible est *S. aureus* ATCC 25923 avec un diamètre de zone d'inhibition de 10.63mm. Les résultats des paramètres antimicrobiens de l'extrait hydrométhanolique de *Thapsia garganica* montrent une activité contre les souches microbiennes testées, les valeurs obtenues sont d'une gamme allant de 31.25 à 15.625µl/mL pour la CMI et de 125 µl/mL pour la CMB et la CMF.

La susceptibilité a été particulièrement importante chez *B. cereus* ATCC 10876, *S. aureus* ATCC 25923 et *B. subtilis* ATCC 6633. L'extrait hydrométhanolique a montré une activité bactéricide sur *B. cereus* ATCC 10876, *S. aureus* ATCC 25923 et *B. subtilis* ATCC 6633. L'activité antioxydante de l'extrait hydrométhanolique des racines de *Thapsia garganica* a été évaluée en utilisant deux tests, le test DPPH et le test de FRAP. L'extrait de *Thapsia garganica* a présenté un pourcentage d'inhibition de 10,09 %, tandis qu'à la plus grande concentration (500 µg/mL), le pourcentage d'inhibition a atteint 59,96 %. Ceci montre que l'espèce *Thapsia garganica* possède un grand potentiel antioxydant. Les résultats de l'évaluation de l'activité antioxydante de l'espèce *Thapsia garganica* nous ont permis de constater que l'extrait possédait un pouvoir antioxydant, mais qui reste largement plus inférieur à celui de l'acide ascorbique.

# References

## bibliographiques

### VII. References bibliographiques

- Abedelli w, (2017). Caractérisation chimique et étude de quelques activités biologiques des huiles essentielles de *Juniperus phoenicea* et de *Thymus vulgaris*, Thèse de doctorat LMD. Université de Mostaganem. P : 214
- Adossides A. (2003). La filière plantes aromatiques & médicinales, FAO Projet. Assistance au recensement agricole. P. 70.
- Aici D, Benmehdi H. (2021), Phytochemical Content, Antioxidant and Antimicrobial Effects of *Thapsia garganica* L. Leaves and Roots Grown Wild in Northwest Algeria, Indian Journal of Agricultural Research, Volume: 55, Issue: 5, 519-526
- Ali-rachedi, F., Meraghni, S., Touaibia, N., & Sabrina, M. (2018). Analyse quantitative des composés phénoliques d'une endémique algérienne *Scabiosa Atropurpurea* sub. *Maritima* L. Manuscrit. Bulletin de La Société Royale Des Sciences de Liège, 87(2), 13–21.
- Ali H, Brogger C S, Foreman J C, Piotrowski W et Thastrup O. (1985). The ability of



Thapsigargin and thapsigargin to activate cellule involved the inflammatory response. Br. J.Pharmac, 85, 705-712.

- Alkhatib R. (2010). Etude phytochimique et activité cytotoxique des métabolites secondaires de *Ferula elaeocharis* Korovin et *Ferula alycia* Boiss (Apiacées). Mémoire de Doctorat Sciences du médicament. Chimie.Université du Droit et de la Santé - Lille II. Français.
- Andersen TB, Lopez CQ, Manczak T, Martinez K, Simonsen HT. Thapsigargin—from *Thapsia* L. to mipsagargine, (2015), *Molecules*, 20(4):6113–6127
- Anthony O, Raphael G, Xavier C, Meriane D, Ardisson J, Boutefnouchet S et Deguin B. (2013). Large scale purification of the SERCA inhibitor Thapsigargin from *Thapsia garganica* L. roots using centrifugal partition chromatography. *Journal of Chromatography* 13, 1-24.
- Athmouni, K., Taheni Belghith, T. Bellassouad, K., Abdelfattah El Feki, A. Habib Ayadi, H. (2015). Effect of extraction solvents on the biomolecules and antioxidant properties of *Scorzonera undulata* (Asteraceae): Application of factorial design optimization phenolic extraction, *Acta Sci Pol Technol Aliment*, 14(4):313-330
- Atmani D, Chaheer N, Berboucha M, Ayouni K, Lounis H, Boudaoud H, Debbach N, 2009, Antioxidant capacity and phenol content of selected Algerian medicinal plants. *Food Chemistry*, 112(2), 303-309p
- Attoum F, Chabounia F et LAHOUEL B. 2011. Contribution à l'étude phytochimique et évaluation des activités antioxydante et anti-inflammatoire des extraits de la plante *Thapsia garganica* L. sur des modèles exoérimentaux chez le rat Wistar. Mémoire de Master. Université de Jijel. P : 80.
- Balouiri, M., Sadiki, M., et Ibsouda, S. K. (2016). Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 6(2), 71–79.
- Bammi J et Douira A. (2002). Les plantes médicinales dans la forêt de l'Achach (plateau central, Maroc). *Acta Botanica Malacitana*, 27, 131-145.
- Belbagra Y., et Bouguerra Z. (2022), Etude de l'activité anti inflammatoire et antioxydante des extraits d'une plante médicinale (*Thapsia garganica*) Mémoire Master 2. Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi de BBA. 57p.
- Benseddik H. 2021. Phytochemical & biological study of medicinal plant "Thapsia garganica". Mémoire de Master. Université de MSILA. P : 112.

- **Besombes C, 2008**, Contribution à l'étude des phénomènes d'extraction hydrothermo-mécanique d'herbes aromatiques. Applications généralisées. *Thèse de doctorat, Université de La Rochelle, France, 289p*
- Boizot, N., et Charpontier, J. P. (2006). Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. *Le Cahier des Techniques de l'Inra*. p 79-82.
- Bouimeja B, Abdelmonaim El Hidan M, Touloun O, Ait Laaradia M, Ait Dra L, El Khoudri N, Chait A, Boumezzough A, (2018), Anti-scorpion venom activity of *Thapsia garganica* methanolic extract: Histopathological and biochemical evidences, *Journal of Ethnopharmacology*, 211, 340-347
- Boukriche FZ, Fenek H et Bouredjoul S. 2012. Activité antioxydante de l'extrait brut de la plante *Thapsia garganica* d'Algérie contre le stress rénal et cardiaque induit par la doxorubicine. Mémoire de Master. Université de Jijel. P : 101.
- Boussaada O, Chriaa J, Nabli R, Ammar S, Saidana D, Mahjoub A M, Chraeif I, Helal A N et Mighri Z. (2008). Antimicrobial and antioxidant activities of methanol extracts of *Evax pygmaea* (Asteraceae) growing wild in Tunisia. *World J Microbiol Biotechnol*, 24, 1289-1296.
- Boussena A, Bahri F, Bouyahyaoui A, Kouidri M, Meziane M (2022) Screening of phytochemical, evaluation of phenolic content, antibacterial and antioxidant activities of *Ephedra Alata* from the Algerian Sahara 16(2), 220-229.  
<https://doi.org/10.5281/zenodo.6590258>
- Bourkhiss M., Hnach M., Bourkhiss B., Ouhssine M., Chaouch A., Satrani B, 2009, Effet de séchage sur la teneur et la composition chimique des huiles essentielles de *Tetraclinis articulata* (Vahl) Masters. *AgroSolutions*, 20(1), 45-48p
- Brahmi, F. & Kebbouche-Gana, S. (2014). Antibacterial activity and chemical composition of *Ammi visnaga* L. essential oil collected from Boumerdes (Algeria) during three periods of the plant growth. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 17(6), 1317-1328.
- Brun-buisson C., et al., 2010, Risques et maîtrise des infections nosocomiales en réanimation. *Réanimation*, 2010. 14 : p. 463–471.
- Bruneton J. (1999). *Pharmacognosie Phytochimie Plantes médicinales*. Edition : Tec & Doc. Paris, 1120 p.
- Bruneton, J. (2005), *Plantes toxiques. Végétaux dangereux pour l'Homme et les*

*animaux*. 3e édition revue et augmentée. Éd. Tec & Doc Lavoisier & EMinter, Paris

- Carillon A, 2009, Place de la phytothérapie dans les systèmes de santé au XXIème siècle. In: *Conférence SIPAM, Djerba, Tunisie, Mars 2009, 7p*
- Casiglia S, Riccobono L, Bruno M, Rosselli S, Senatore F & Senatore F. (2016). Chemical composition of the essential oil from *Thapsia garganica* L. (Apiaceae) grown wild in Sicily and its antimicrobial activity, *Natural Product research*, 1042-1052
- Cheurfa, S. et Bachagha, M. (2013), Caractérisation de l'activité antioxydante des extraits des feuilles et des racines de *Thapsia garganica* L. Mémoire de master, Université de Béjaia. Pp75
- Chira, K., Suh, J. H., Saucier, C., and Teissèdre, P. L. (2008). Les polyphénols du raisin, *Phytothérapie*, vol. 6, pp. 75-82.
- Coates A.R.M, 2012, Antibioticresistance. *Springer Science & Business Media*, 192p
- Daels-rakotoarison, D. (1999). Extraits polyphénoliques d'aubepine, de cola et D'eglantier. Thèse de doctorat. Université de Lille II. France. 172 (64).
- Dewanto, V., Wu, X., Kafui, A., & Rui hai, I. (2002). Thermal processing enhances the nutritional value of tomatoes by increasing total antioxidant activity. *Journal of physics d: applied physics*, 50(4), 3011–3013. <https://doi.org/10.1088/0022-3727/31/22/002>
- Diallo O, Baron S, Jimeno M.T, Dubourg G, Chaudet H, Raoult D, Rolain J.M, 2019, Mortalité des bactériémies causées par des bactéries difficiles à traiter. *Médecine et Maladies Infectieuses*, 49, 4, P548
- Djerarda H., Boussadia G., et Bouafia S. (2022). Etude de l'activité antioxydante et antibactérienne des extraits et de l'huile essentielle des racines de *Thapsia garganica*. Mémoire de Master 2. Université Mohamed Boudiaf - M'Sila, 55p
- Dinh A, Hallouin M, Davido B, Bouchand F, Duran C, Lemaignen A, Bruyère F, Grall N, Tavernier E Bernard L., 2019, Efficacité et tolérance d'un antibioticycl hebdomadaire dans la prévention des infections urinaires sur vessie neurologiques : essai contrôlé randomisé ; *Médecine et Maladie Infectieuse*, 49, 4, P52
- Djeridane A, Yousfi M, Nadjimi B, Boutassouna D, Stocker P et Vidal N. (2006). Antioxydant activity of some Algerian medicinal plant extracts containing phenolic compounds. *Food Chemistry*, 97, 645-660.
- Dujardin-Beaumetz. & Ègasse E., 1989. Les plantes médicinales Indigènes et

exotiques, leurs usages thérapeutiques, pharmaceutiques et industriels. Octave Doin, paris. 845.

- Finley ellingwood, M.D. (1919). American Materia Medica, Therapeutics and Pharmacognosy Developing the Latest Acquired Knowledge of Drugs, and Especially of the Direct Action of Single Drugs Upon Exact Conditions of Disease, with Especial Reference of the Therapeutics of the Plant Drugs of the Americas. Southwest School of Botanical Medicine P.O. Box 4565, Bisbee, AZ 85603
- Erlund I. (2004). The flavonoids quercetin, hesperetin, and naringenin. Dietary sources, bioactivities, bioavailability and epidemiology. Nutrition Research, 24, 851-874.
- Fadili, K., Zerkani, H., et Amalich, S. (2017). phytochemical study and evaluation of antioxidant activity of leaves and fruits of Capparis spinosa L. American Journal of Innovative Research and Applied Sciences, 5 (2), 108-118.
- Falleh H, Ksouri R, Chaieb K, Karray-Bouraoui N, Trabelsi N, Boulaaba M et Abdely C. (2008). Phenolic composition of Cynara cardunculus L. organs, and their biological activities. C. R. Biologies, 331, 372-379
- Feillet-Coudray C, Fouret G, Viger C, Bonafos B, Jover B, Blachnio-Zabielska A, Rieusset J, Gaillet S, Durant T, Coudray C, 2019. Inflammation et stress oxydant au cours du développement de l'intolérance au glucose et de la stéatose hépatique chez des rats nourris avec un régime obésogène, Nutrition Clinique et Métabolisme, 33, 1, P 79-80 résistance bactérienne aux antibiotiques
- Ghedira K. (2005). Les flavonoïdes : Structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. Phytothérapie, 4, 162-169.
- Hahlbrock K et Scheel D. (1989). Physiologie and Molecular Biology of phenylpropanoid Metabolism. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology, 40, 347-369.
- Hakii, H. Fujiki, H. Suganuma, M. Nakayasu, M. Tahira, T. Sugimura, T. Scheuer P. J. & Christensen S. B. (1986). Thapsigargin, a histamine secretagogue, is a non-12-O-tetradecanolphorbol-13-acetate (TPA) type tumor promoter in two-stage mouse skin carcinogenesis. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology* volume 111, pages 177–181
- Hamburger Z.A, Brown M.S, Ralph R. Isberg R.R, and Pamela J. Bjorkman P.J. (1999). Crystal Structure of Invasin: A Bacterial Integrin-Binding Protein, Science, Vol 286, Issue 5438, pp. 291-295 DOI: 10.1126/science.286.5438.291

- Hammiche V., Merad R. & Azzouz M. 2013. Plantes toxiques à usage médicinal du pourtour méditerranéen. Springer, paris. 285-286.
- Hayouni E, Abedrabba M, Bouix M et Hamdi H. (2007). The effects of solvents and extraction method on the phenolic contents and biological activities in vitro of Tunisian *Quercus coccifera* L. and *Juniperus phoenicea* L. fruit extracts. Food Chemistry, 105 (3), 1126-1134.
- brahim A.M., Martinez-Swatson k.A., Benkaci-Ali F., Cozzi F., zoulikha F. & Simonsen H.T. (2018). Effets de l'irradiation aux rayons gamma et de la comparaison de différentes méthodes d'extraction sur les rendements en lactone sesquiterpénique de la plantes *thapsiagarganica* L. (Apiaceae). Journal de recherche appliquée sur les plantes médicinales et aromatiques. 8: 26-32.
- Jabrane A., Jannet H.B., Harzallah-Skhiri F., Mastouri M., Casanova J., & Mighri Z. (2009). Flower and Root Oils of the Tunisian *Daucus carota* L. ssp. *Maritimus* (Apiaceae): Integrated Analyses by GC, GC/MS, and <sup>13</sup>C- NMR Spectroscopy, and in vitro Antibacterial. Chem Biodivers; 6 (6) :88 ; P : 1-9.
- Khamadj S. & Dahman W, (2019). Evaluation de l'activité antioxydante de *Thapsia garganica*. Mémoire Master 2. Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi de BBA. 60p.
- Kmoníčková E, Melkusová P, Harmatha J, Vokáč K, Farghali H et Zídek Z. (2008). Inhibitor of sarco-endoplasmic et B M iculum Ca<sup>2+</sup> ATPase thapsigargin stimulates Production of nitric oxide and secretion of interferon-gamma. European Journal of Pharmacology, **588**, 85-92.
- Kraker M.E., Davey P.G., Grundmann H, 2011, Mortality and hospital stay associated with resistant *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* bacteremia: estimating the burden of antibiotic resistance in Europe. PLoS Med 2011 Oct ; 8 (10):e1001104
- Lariushin, B. (2012), *Apiaceae Family of the World*, Volume 3, Ed: Lulu.com, P: 414
- Larsen P K et Sandberg F. (1970). Constituents of umbelliferous plants. Acta chem. Scand 24, 1113-1114
- Lauzer M. (1868). Revue de thérapeutique médicochirurgicale Pp : 39.
- Liu H, Jensen KG, Tran LM, Chen M, Zhai L, Olsen CE, Sørensen H, Denmeade SR, Isaacs JT, Christensen SB., 2006, Cytotoxic phenylpropanoids and an additional thapsigargin analogue isolated from *Thapsia garganica* Phytochemistry, 67(24): 2651-2658

- Mahmoudi, S., Khali, M., et Mahmoudi, N. (2012). Étude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (*Cynara scolymus* L.). *Revue Nature & Technologie. B- Sciences Agronomiques et Biologiques* 2013, 9 : 36.
- Makunga, N. P. Jäger A. K. & van Staden J. (2003). Micropropagation of *Thapsia garganica*—a medicinal plant. *Plant Cell Reports* volume 21, pages 967–973
- Marais J P J, Deavours B, Dixon R A et Ferreira D. (2006). The Stereochemistry of Flavonoïds *In* The science of flavonoïds. Edition : BS/DH. USA, 1-46.
- Marmonier, A. A. (1990). Introduction aux techniques d'étude des antibiotiques. *Bactériologie Médicale, techniques usuelles*. DOIN édition, Paris, France, 227-236.
- Martin S et Andriantsitohaina R. (2002). Mécanismes de la protection cardiaque et vasculaire des polyphénols au niveau de l'endothélium. Cellular mechanism of vasculoprotection induced by polyphenols on the endothelium, *Annales de cardiologie et d'angéiologie*, **51**, 304-315.
- Mohamed A A, Khalil A A et El-beltagi H E S. (2009). Chemical compositions and antioxidant/antimicrobial activities of kaff maryam (*Anastatica hierochuntica*) and doum palm (*Hyphaene thebaica*) cultivated in Egypt. *Biyoloji Bilimleri Araştırma Dergisi*, 2, 71-79.
- Mohammadi A., Nazari H., Imani S., Amrollahi H. 2014. Antifungal activities and chemical composition of some medicinal plants. *ournal de mycologie medicale*, 24(2), e1- e8.
- NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards). (1997). Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests: Approved standard M2-A7. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne, PA, USA.
- Nebeg, H. (2019). Contribution à l'étude des fractions polaire et apolaire de *Thapsia garganica*. Mémoire de Master Université Kasdi Merbah Ouargla, P : 136
- Ojala T, Remes S, Haansuu P, Vuorela H, Hiltunen R, Haahtela K et Vuorela P. (2000). Antimicrobial activity of some coumarin containing herbal plants growing in Finland. *Journal of Ethnopharmacology*, 73, 299-305.
- OMS (Organisation Mondiale de la Santé), 1998, Réglementation des médicaments à base de plantes : La situation dans le monde. *WHO/TRM/98.1, Genève, Suisse*, 65p
- Oyaizu M, 1986, Studies on product of browning reaction prepared from glucosamine. *Jpn J Nutr*, 44, 307-315p
- Psotová J, Kolář M, Soušek J, Švagera Z, Vičar J, Jitka Ulrichová J, (2003), *Biological*

activities of *Prunella vulgaris* extract, Volume17, Issue9, Pp 1082-1087

- Pottier-alaPetite, G. (1979-1981). — Flore de la Tunisie (Angiospermes-Dicotylédones). 2 vol. Publications scientifiques tunisiennes, ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique, ministère de l'agriculture, tunis (21) (PDF) Flore vasculaire rare, endémique et menacée des zones humides de Tunisie.
- Pozzatti, P., Loreto, E. S., Mario, D. N., Rossato, L., Santurio, J. M., & Alves, S. H. (2010). Activities of essential oils in the inhibition of *Candida albicans* and *Candida dubliniensis* germling formation. *Journal de mycologie médicale*, 20(3), 185-189.
- Pujadas Salvà AJ, Roselló JA., 2003, *Thapsia* L. In: Castroviejo S, Aedo C, Cirujano S, et al. (eds) *Flora Ibérica (Vol. X): Araliaceae—Umbelliferae*. Real Jardín Botánico, C.S.I.C, Madrid, pp401–410
- Pujadas-salvà, A.J and Plaza-Arregui, L (2003). Studies on *Thapsia* (Apiaceae) from north-western Africa: a forgotten and a new species, *Botanical Journal of the Linnean Society*, 143, 433–442.
- Reboulleau S D. (1856). Notice sur la résine de *Thapsia garganica* et sur son emploi comme agent révulsif sous forme d'emplâtre. Edition : Abadi. Constantine, 15p.
- Riah, S., et Senouci, I. (2017). Evaluation de l'activité antifongique de l'extrait de *Thapsia garganica* de la région d'el hamadia Willaya de Bordj Bou Arreridj. Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi B.B.A. P : 75
- Roberts C.K., Sindhu K.K, 2009, Oxidative stress and metabolic syndrome. *Life Sciences*, 84 (21-22), 705-712p
- Rodriguez-Vaquero M J, Alberto M R et Manca de Nadera M C. (2007). Antibacterial effect of phenolic compounds from different wines. *Food Control*, 18, 93-101.
- Roques, J., 1835. *Phytographie médicale, histoire des substances héroïques et des poisons*. B. Cormon & Blanc, Paris.
- Sait L et Smaoun N, (2012), *Activité antibactérienne des extraits de Thapsia garganica* L. Mémoire master 2, Université Université Abderahmane Mira de Bejaia, P : 65
- Shan B, Cai Y Z, Brooks J D et Corke H. (2007). The in vitro antibacterial activity of dietary spice and medicinal herb extracts. *International Journal of Food Microbiology*, 117, 112-119.

- Santarius K A, Falsone G et Haddad H. (1987). Effect of sesquiterpene lactone tetraesters thapsigargin and thapsigargin, from roots of *Thapsia garganica* L. on isolated spinach chloroplasts. *Taxicon*, 25, 389-399.
- Silva, N. C. C., & Fernandes Júnior, A. J. J. O. V. A. (2010). Biological properties of medicinal plants: a review of their antimicrobial activity. *Journal of venomous animals and toxins including tropical diseases*, 16(3), 402-413.
- Sbayou, H., Ababou, B., Boukachabine, K., Manresa, A., et Zerouali, K. (2014). Chemical Composition and Antibacterial Activity of *Artemisia herba-alba* and *Mentha pulegium* Essential Oils. *Journal of life sciences*, 8(1), 35-41.
- Seoud Omayma Touahria Kaouthar, (2022), Contribution à l'évaluation du pouvoir antioxydant, et des activités antimicrobienne et anti inflammatoire de l'extrait de *Thapsia garganica* L. Mémoire de Master 2. Université De Mohamed El Bachir El Ibrahim B.B.A. 49p
- Shaikh, J. R., & Patil, M. (2020). Qualitative tests for preliminary phytochemical screening: An overview. *International Journal of Chemical Studies*, 8(2), 603–608. <https://doi.org/10.22271/chemi.2020.v8.i2i.8834>
- Soubeiran E et Regwuld J. (1988). *Traité de pharmacie*. Edition : Masson. Paris, 1170p.
- Tian F Li B, Ji B, Yang J, Zhang G, Chen Y et Luo Y. (2009). Antioxidant and antimicrobial activities of consecutive extracts from *Galla chinensis*: The polarity affects the bioactivities. *Food Chemistry*, 113, 173-179.
- Thaiponga, K., Boonprakoba, U., Crosbyb, K., Cisneros-Zevallosc, L. and HawkinsByrned, D. (2006) Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC Assays for Estimating Antioxidant Activity from Guava Fruit Extracts. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19, 669-675.
- Weitzel C, Rønsted N, Spalik K, Simonsen HT., 2014, Resurrecting deadly carrots: Towards a revision of *Thapsia* (Apiaceae) based on phylogenetic analysis of nrITS sequences and chemical profiles. *Bot J Linn Soc* 174:620–636. <https://doi.org/10.1111/boj.12144>
- WHO (World Health Organization). The evolving threat of antimicrobial resistance. 2012.
- ZahirH, Draiss G, Rada N, Abourrahouat A, Ait Sab I, Sbihi M, Bouskraoui M, Soraa N., 2019, Écologie microbienne et sensibilité aux antibiotiques des bactéries isolées



d'infections urinaires chez l'enfant au Maroc. Revue Francophone des laboratoires  
Volume 2019, Issue 511, April 2019, Pages 65 – 70

# **Annexes**

## **Annexe n°1**

### **Milieux de culture**

#### **Bouillon nutritif (BN) (g/l)**

Peptone.....	10 g
Extrait de viande.....	5 g
Chlorure de sodium.....	5 g
Eau distillée.....	1000 mL

pH = 7,3 ± 0,2

#### **Gélose nutritive (GN) (g/l)**

Peptone.....	10 g
Extrait de viande.....	3 g
Extrait de levure.....	3 g
Chlorure de sodium.....	5 g

Agar.....18 g  
Eau distillée.....1000 mL

pH = 7,3 ± 0,2

#### **Mueller Hinton gélosé (M-H) (g/l)**

Extrait de viande.....3 g  
Hydrolysate acide de caséine.....17,5 g  
Amidon.....1.5 g  
Agar.....16 g  
Eau distillée.....1000 mL

pH = 7,3 167

#### **Sabouraud additionné de chloramphénicol gélosé (g/l)**

Peptone.....10 g  
Glucose .....20 g  
Agar .....15 g  
Chloramphénicol.....0.5 g  
Eau distillée.....1000 mL

pH = 6

## **Annexe n°2**

### **Composition des réactifs utilisés pour le screening phytochimique des plantes**

#### **I- Caractérisation des alcaloïdes :**

##### **Réactif de Mayer**

Chlorure mercurique.....6.7 g  
Iodure de potassium.....25 g  
Eau distillée.....200 mL

#### **II- Caractérisation des carbohydrates :**

##### **Réactif de Fehling**

Préparer séparément deux solutions :

Solution A :

Sulfate de cuivre.....18 g  
Eau..... 250 mL

Solution B :

Acide tartrique.....87 g

Hydroxyde de sodium.....35 g

Eau..... 250 mL

On les mélange pour obtenu le réactif Fehling

### **III- Caractérisation des protéines**

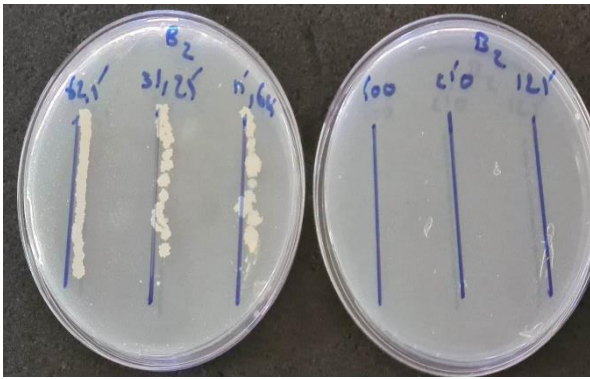
#### **Réactif de biuret**

Sulfate de cuivre.....1.5g

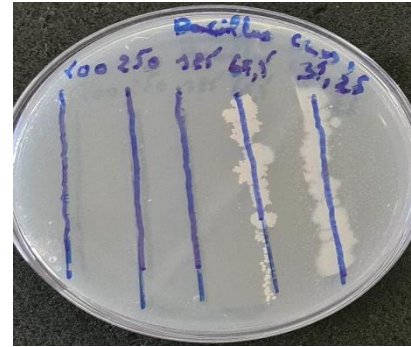
Tartrate de sodium et de potassium.....4.5g

Iodure de potassium.....2.5g

Eau distillée.....200 mL



*B. cereus* ATCC11778  
*B. cereus* ATCC10876



*S.aureus* ATCC25923

*B.subtilis* ATCC6633

Figure n°3 Détermination des concentrations minimale inhibitrices (CMI),

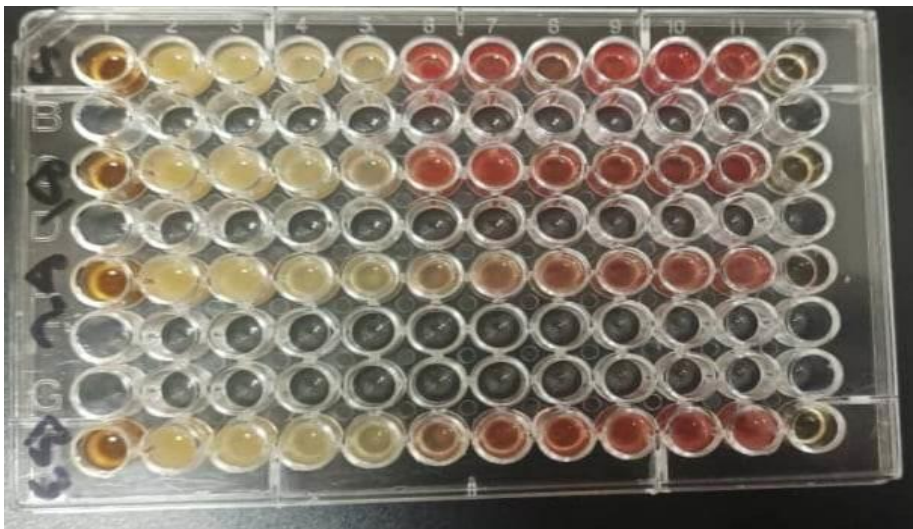
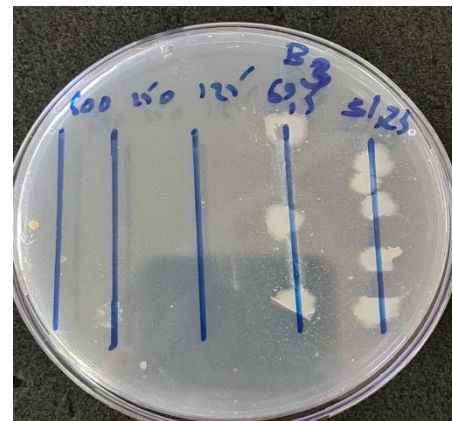
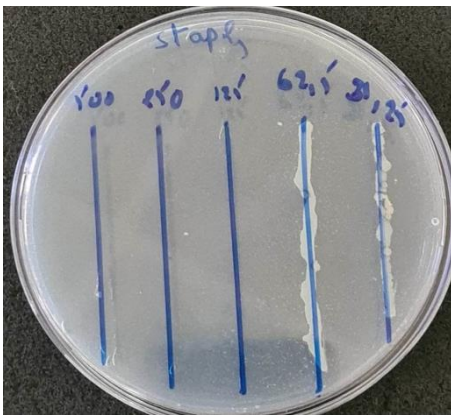
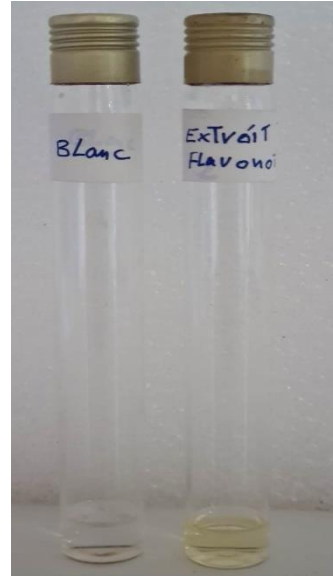
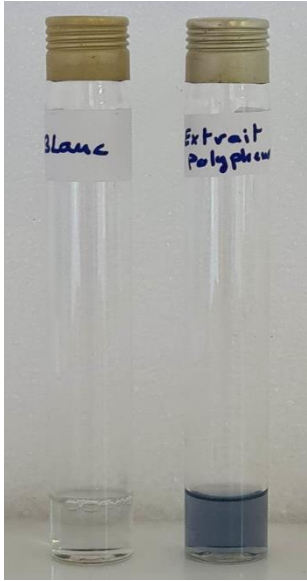


Figure n°4  
 Détermination des concentration bactéricide (CMB),



**Test de FRAP Test de DPPH**