

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE  
جامعة عمار ثليجي بالأغواط  
UNIVERSITE AMAR TELIDJI LAGHOUAT

كلية العلوم  
FACULTE DES SCIENCES  
قسم البيولوجيا  
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



## Mémoire

*En vue de l'obtention du diplôme de Master*

*Filière : Sciences Biologiques*

*Option : Biochimie Appliquée*

### THEME

---

**Contribution à l'étude de l'activité antimicrobienne  
des insaponifiables de *Thapsia garganica* L.**

---

**Présenté par :**

Zeraraka Qatar El nada.

Khelili Amira.

**Devant le jury composé de :**

M. ZERROUK Salim	MCA (Université de Laghouat)	Président
M. SIFI Ibrahim	MCA (Université de Laghouat)	Examinateur
Mme. NEBEG Halima	MCB (Université de Laghouat)	Rapporteur
Mme. ELHOUITI Fatiha	MCA (Université de Laghouat)	Co-Rapporteur

**Soutenu publiquement le : 29 /06/2022**

## **Résumé :**

Ce travail porte sur la valorisation des insaponifiables de *Thapsia garganica* par l'étude de leurs propriétés antimicrobiennes, les tests réalisés révèlent que tous les insaponifiables de *Thapsia garganica* sont actifs sur la souche *Candida albicans*. Mais dotées d'un pouvoir antibactérien modéré sur la plupart des bactéries à Gram (-) étudiées, alors que pour la souche à Gram (+), nous avons enregistré un faible effet pour les insaponifiables des racines et un effet modéré pour celles des feuilles et graines. Les concentrations minimales inhibitrices, bactéricide et fongicide (CMI, CMB et CMF) étaient déterminées en utilisant la méthode de micro-dilution sur microplaque, et les CMI obtenus pour la *Candida albicans* allant de 0.2 à 1.8mg/ml. Également une différence entre les CMI et CMB des bactéries Gram positive et Gram négative, a été remarquée. L'ensemble des résultats révèle que les insaponifiables des graines ont une activité antimicrobienne plus puissante par rapport à celles des racines et feuilles.

**Mots clés :** *Thapsia garganica*, activité antibactérienne, activité antifongique, les insaponifiable, CMI, CMB.

## **Abstract:**

This work focuses on the valorization of unsaponifiables from *Thapsia garganica* by studying their antimicrobial properties, the tests carried out reveal that all the unsaponifiables of *Thapsia garganica* are active on the *Candida albicans* strain. But with a moderate antibacterial activity on most of the Gram (-) bacteria, while for the Gram (+) strain, we recorded a low effect for the unsaponifiables of the roots and a moderate effect for those of the leaves and seeds. Minimum inhibitory, bactericidal and fungicidal concentrations (MIC, BMC and FMC) were determined using the microplate dilution method, the MIC obtained for *Candida albicans* ranging from 0.2 to 1.8 mg/ml. Also, a difference between the MIC and BMC of Gram positive and Gram-negative bacteria, was noticed. The overall results reveal that the unsaponifiables of seeds has a most potent antimicrobial activity than roots and leaves.

**Keywords:** *Thapsia garganica*, antibacterial activity, antifungal activity, unsaponifiable, MIC, BMC.

## ملخص:

يهدف هذا العمل على تقييم المواد الغير قابلة للتصوبن لنبتة بونافع من خلال دراسة خصائصها المضادة للميكروبات، وظهرت الاختبارات التي تم إجراؤها أن جميع المواد الغير قابلة للتصوبن نشطة على *Candida albicans*. لكن اظهرت فعالية متوسطة على معظم بكتيريا غرام (-)، اما بالنسبة لسلالة غرام (+)، سجلنا تأثيرًا منخفضًا للمواد الغير قابلة للتصوبن المستخرجة من الجذور وتأثيرًا معتدلاً لتلك المستخرجة من الأوراق والبذور. تم تحديد التراكيز الأدنى المثبطة، البكتيرية والفطرية باستخدام طريقة التخفيف الدقيق على الصفيحة والتركيز الأدنى المثبط الذي تم الحصول عليه ل *Candida albicans* يتراوح من 0.2 إلى 1.8 ملجم/مل. كما لوحظ اختلاف بين التركيز الأدنى المثبط والتركيز الأدنى البكتيري، لبكتيريا غرام (+) وغرام (-) بشكل عام. تظهر جميع النتائج أن المواد الغير قابلة للتصوبن للبذور لها نشاط مضاد للميكروبات أكثر فعالية مقارنة بتلك الموجودة في الجذور والأوراق.

**الكلمات المفتاحية:** بونافع، نشاط مضاد للجراثيم، نشاط مضاد للفطريات، الغير قابل للتصوبن

## ***Dédicaces***

*A mes parents, pour votre amour, votre patience et générosité, je vous dédie ce travail en témoignage de ma grande reconnaissance et de mon éternel amour. Que dieu vous donne longue vie.*

*A mes chères sœurs Imane et Khalida, Je leur souhaite du succès dans leurs vies, je vous aime beaucoup.*

*A mon cher frère Arbi, qui n'a pas cessé de me conseiller, encourager et soutenir tout au long de mes études.*

*Sans oublier mon binôme KHELILI Amira pour son soutien moral, sa patience et sa compréhension tout au long de ce projet.*

*Et à la fin à toutes les personnes m'ayant consacré un moment pour m'aider, me conseiller, m'encourager.*

***Qatar el nada***

## ***Dédicaces***

*Je dédie ce modeste travail*

*A mes très chers parents qui ont toujours été là pour moi, pour leurs soutiens et leurs sacrifices tout au long de ma vie, et pour leurs encouragements en vue de l'achèvement de ce travail.*

*À mes chers frères.*

*À toute ma Famille.*

*Sans oublier mon binôme Nada pour son soutien moral, sa patience et sa compréhension tout au long de ce projet.*

***Amira***

## Remerciements

*Avant toute chose, nous remercions «<sup>الله</sup> » qui nous a donné la patience, le courage et la volonté pour réaliser ce mémoire.*

*Nous tiendrons à remercier très vivement à notre encadrante **Mme.NEBEG Halima** pour sa gentillesse, pour son aide précieuse, pour avoir dirigé et accepté de nous encadrer, pour nous avoir guidée, soutenue et encouragée tout au long de ce travail.*

*Nous devons les plus vifs remerciements à **Mme. ELHOUITI Fatiha** Nous tenons à exprimer notre profonde reconnaissance pour ses conseils avisés, la confiance qu'elle nous a témoigné et pour sa disponibilité.*

*On tient à exprimer nos gratitude, nos profonds respects et nos remerciements aux membres de jury : **Mr ZERROUK Salim** et **Mr SIFI Ibrahim** qu'ils nous ont fait honneur en acceptant de faire partie de ce jury et d'examiner ce travail.*

*Nous remercions **Mlle ZEGRIR Anfal** pour ses conseils et l'assistance dans la manipulation de certains protocoles de microbiologie utilisés dans ce travail.*

*Nous remercions également tous les enseignants de Département de biologie. Ayant contribué à notre formation durant notre cycle d'étude.*

*Nous remercions également les ingénieures du laboratoire de Département de biologie.*

*Toutes nos salutations à tous nos amis et collègues de la promotion de master biochimie appliquée.*

*Et finalement un grand merci à tous ceux qui nous ont aidés de loin ou de près pour accomplir ce travail.*

***Amira.K / Nada.Z***

## Table des matières

<b>Liste des tableaux</b> .....	<b>1</b>
<b>Liste des figures</b> .....	<b>2</b>
<b>Liste des annexes</b> .....	<b>2</b>
<b>Liste des abréviations</b> .....	<b>4</b>
<b>Introduction</b> .....	<b>1</b>
<b>Partie I : Étude bibliographique</b> .....	<b>4</b>
<b>I.1 Les plantes médicinales</b> .....	<b>4</b>
I.1.1 Domaines d'application des plantes médicinales .....	4
I.1.2 Origine des plantes médicinales .....	5
I.1.2.1 Les plantes spontanées .....	5
I.1.2.2 Les plantes cultivées .....	5
<b>I.2 Les métabolites primaires</b> .....	<b>5</b>
I.2.1 Les lipides .....	6
I.2.1.1 Lipide à base d'acides gras (lipides saponifiables) .....	7
I.2.1.1 Lipides isopréniques (lipides insaponifiables) .....	7
<b>I.3 Activités biologiques des plantes médicinales</b> .....	<b>13</b>
I.3.1 L'activité antimicrobienne .....	13
I.3.2 L'activité antifongique .....	14
<b>PARTIE II : MATERIELS ET METHODES.</b> .....	<b>16</b>
<b>II.1 Matériel Biologique</b> .....	<b>16</b>
II.1.1 Le matériel végétale ( <i>Thapsia garganica</i> L) .....	16
II.1.1.1 Définition .....	16
II.1.1.2 Classification botanique .....	16
II.1.1.3 Description de l'espèce .....	17
II.1.1.4 Répartition géographique de l'espèce .....	17

II .1.1.5 Les utilisations de <i>Thapsia garganica</i> .....	18
II .1.2 Matériel microbien .....	19
II .1.2.1 Souches bactériennes .....	21
II .1.2.2 Souche fongique .....	21
<b>II .2 Méthodes Expérimentales.....</b>	<b>22</b>
II .2.1 Préparation de matériel végétale.....	22
II .2.2 Extraction des insaponifiables .....	22
II .2.3 Préparation des milieux de culture.....	24
II .2.4 Préparation de pré-culture .....	24
II .2.5 Evaluation de l'activité antibactérienne .....	25
II .2.5.1 Méthode de diffusion sur disques en milieu gélosé .....	25
II .2.5.2 Microdilution.....	26
<b>Partie III : Résultats et Discussion.....</b>	<b>31</b>
<b>III .1 Rendement d'extraction .....</b>	<b>31</b>
<b>III .2 Séchage.....</b>	<b>31</b>
<b>III .3 Les résultats de l'activité antimicrobienne (les bactéries et levures) testée par la méthode des disques.....</b>	<b>32</b>
III .3.1 Les résultats de l'activité antimicrobienne d'extrait Racine .....	34
III .3.2 Les résultats de l'activité antimicrobienne d'extrait Feuille .....	36
III .3.2 Les résultats de l'activité antimicrobienne d'extrait Graine .....	38
<b>III .4 Comparaison des résultats d'activité antibactérienne des extraits de <i>Thapsia garganica</i> L (Feuilles, Racines, Graines).....</b>	<b>40</b>
<b>III .5 Détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI), bactéricides (CMB) et fongicide (CMF) .....</b>	<b>44</b>
<b>Conclusion.....</b>	<b>48</b>
<b>Références bibliographiques .....</b>	<b>50</b>
<b>ANNEXE.....</b>	<b>58</b>

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1</b> : Nomenclature des différentes classes de terpénoïdes. ....	8
<b>Tableau 2</b> : Structure chimique des différentes terpénoïdes réalisée par ChemDraw. ...	8
<b>Tableau 3</b> : Classification botanique de <i>Thapsia garganica</i> L. ....	16
<b>Tableau 4</b> : Description des différentes parties de <i>Thapsia garganica</i> . ....	17
<b>Tableau 5</b> : Les différentes souches bactériennes et fongiques testées. ....	20
<b>Tableau 6</b> : Les différentes dilutions des extraits. ....	22
<b>Tableau 7</b> : Propriété et préparation des milieux de culture. ....	24
<b>Tableau 8</b> : Les antibiotiques choisis, leurs codes et leurs concentrations. ....	24
<b>Tableau 9</b> : Le rendement des insaponifiables. ....	31
<b>Tableau 10</b> : Détermination des masses des insaponifiables. ....	31
<b>Tableau 11</b> : Diamètres moyens en (mm) des zones d'inhibition des extraits de <i>Thapsia garganica</i> à l'égard des souches testées. ....	33
<b>Tableau 12</b> : Les Zones d'inhibitions des disques d'Antibiotique/Antifongique à tester vis-à-vis des différentes souches. ....	41
<b>Tableau 13</b> : Les zones d'inhibitions autour des disques contenant le DMSO à tester vis-à-vis des différentes souches. ....	42
<b>Tableau 14</b> : Les valeurs de CMI, CMB et CMF en mg/ml de chaque extrait. ....	46

## Liste des figures

<b>Figure 1</b> : Classification simplifiée des lipides .....	6
<b>Figure 2</b> : Structure chimique de caroténoïde réalisée par ChemDraw 16.0 . .....	10
<b>Figure 3</b> : Structure chimique de stéroïde réalisée par ChemDraw 16.0. ....	10
<b>Figure 4</b> : Structure chimique de vitamine A réalisée par ChemDraw 16.0. ....	11
<b>Figure 5</b> : Structure chimique de vitamine K réalisée par ChemDraw 16.0. ....	12
<b>Figure 6</b> : Structure chimique de vitamine E réalisée par ChemDraw 16.0.....	12
<b>Figure 7</b> : Structure chimique des vitamines D <sub>2</sub> et D <sub>3</sub> réalisée par ChemDraw 16.0. ..	13
<b>Figure 8</b> : Photographie illustrant les racines, photo prise le 20 juillet 2017 par (Nebeg, 2019) .....	17
<b>Figure 9</b> : Photographie illustrant les graines, photo prise le 20 juillet 2017 par (Nebeg, 2019).....	17
<b>Figure 10</b> : Photographie illustrant les feuilles, photo prise le 7 février 2022 à Tadjrouna Laghouat.....	17
<b>Figure 11</b> : Structure chimique de thapsigargine réalisé par ChemDraw 16.0.....	19
<b>Figure 12</b> : Les différentes souches bactériennes testées. ....	20
<b>Figure 13</b> : Protocole d'extraction des insaponifiables.....	23
<b>Figure 14</b> : Principe de la méthode de diffusion sur disques. ....	26
<b>Figure 15</b> : Méthode de lecture des zones d'inhibition.....	26
<b>Figure 16</b> : Dilution d'extrait et de l'antibiotique dans la plaque.....	27
<b>Figure 17</b> : L'ajoute des suspensions bactérienne dans les puits de la plaque. ....	28
<b>Figure 18</b> : Structure chimique d'iodonitrotetrazoliumchloride réalisée par ChemDraw 16.0.....	28
<b>Figure 19</b> : La culture sur un milieu solide pour déterminer la CMB. ....	29
<b>Figure 20</b> : Activité antibactérienne des insaponifiables des racines en termes des diamètres des zones d'inhibition (mm) par trois dilutions (pure, 1/2, 1/5). ....	34
<b>Figure 21</b> : L'effet de l'activité antibactérienne des insaponifiables des racines vis-à-vis des différente souche (gram positif, gram négatif, levure). ....	35
<b>Figure 22</b> : Activité antibactérienne des insaponifiables des Feuilles en termes des diamètres des zones d'inhibition (mm) par trois dilutions (pure, 1/2, 1/5). ....	36
<b>Figure 23</b> : L'effet de l'activité antibactérienne des insaponifiables des feuilles vis-à-vis des différente souches (gram positif, gram négatif, levure).....	37

<b>Figure 24 :</b> Activité antibactérienne des insaponifiables des Graines en termes des diamètres des zones d'inhibition (mm) par trois dilutions (pure, 1/2, 1/5).....	38
<b>Figure 25 :</b> L'effet de l'activité antibactérienne des insaponifiables des Graines vis-à-vis des différentes souches (gram positif, gram négatif, levure). .....	40
<b>Figure 26 :</b> Photo de l'activité antimicrobienne d'extrait Racine contre les Gram (+), Gram (-) et levures après l'ajoute du INT dans la microplaque. ....	44
<b>Figure 27 :</b> Photo de l'activité antimicrobienne d'extrait Graine contre les Gram (+), Gram (-) et levures après l'ajoute du INT dans la microplaque. ....	45
<b>Figure 28 :</b> Photo de l'activité antimicrobienne d'extrait Feuille contre les Gram (+), Gram (-) et levures après l'ajoute du INT dans la microplaque. ....	45

## Liste des annexes

<b>Annexe I :</b> Matériel et produits utilisés. ....	59
<b>Annexe II :</b> Des Photos des boîtes pétris des extraits montrant l'inhibition des différentes souches.....	60
<b>Annexe III :</b> les tableaux de résultats du CMI, CMB et CMF des extraits. ....	67

## Liste des abréviations

- AAF** : Aérobie-Anaérobie **F**acultatif.
- AK**: Amikacine.
- APG**: Angiosperm **P**hylogeny **G**roup.
- ATCC**: American **T**ype **C**ulture **C**ollection.
- ATPase** : Adénosine **T**ri **P**hosphatase.
- Ca+2** : Calcium ionique.
- CCM** : Chromatographie sur **C**ouche **M**ince.
- CMB** : Concentrations **M**inimales **B**actéricides.
- CMF** : Concentration **M**inimale **F**ongicide.
- CMI** : Concentrations **M**inimales **I**nhibitrices.
- DI** : Diamètre d'inhibition.
- DMSO** : **D**imethyl Sulfo-oxyde.
- DXT** : Doxycycline.
- g** : gramme .
- GEN** : Gentamicin.
- HE** : Huile **E**ssentielle.
- INT** : iodonitrotetrazoliumchloride.
- mg** : Milligramme.
- MH** : Mueller – **H**inton.
- ml** : millilitre .
- mm** : millimètre .
- R<sub>f</sub>** : Rapport **F**rontal.
- STL** : Lactones **S**esquiterpènes.
- Tg** : Thapsigargines .
- µl** : microlitre .

# *Introduction*

Depuis des milliers d'années, l'Homme utilise diverses ressources trouvées dans son environnement, afin de traiter et soigner certaines maladies. Parmi ces ressources, c'est les plantes médicinales. La valeur médicinale de ces plantes est liée à leurs composés phytochimiques (**Mohamed et al., 2010**). Selon l'Organisation mondiale de la Santé, les plantes médicinales seront la meilleure source pour obtenir une variété de médicaments. Environ 80% des pays en développement, en raison de la pauvreté et du manque d'accès à la médecine moderne, utilisent la médecine traditionnelle, qui a des composés dérivés de plantes médicinales (**Akrayi et Tawfeeq, 2012**).

les plantes médicinales toute plante renfermant un ou plusieurs principes actifs capables de prévenir, soulager ou guérir des maladies (**El Amri et al., 2014**).

On appelle souvent « plante médicinale » une entité botanique dont au moins une de ses parties a des propriétés médicamenteuses. Elles peuvent avoir des usages alimentaires ou encore servir à la préparation de boisson hygiénique. Différentes parties d'une même plante médicinale peuvent avoir des utilisations différentes (**Ahon, 2014**).

Parmi les familles qui appartiennent à cette catégorie des plantes médicinales, la famille des Apiacées. Qui continent plusieurs genres, parmi elles, *Thapsia garganica* L est l'une des espèces du genre *Thapsia*, c'est une espèce végétale poussant spontanément.

Les plantes sont capables de produire des substance naturelles , Parmi ces composés, on retrouve essentiellement les métabolites primaires et secondaires, qui sont surtout illustrés en thérapeutique (**Hall, 1998**).

Les métabolites représentent une source importante de composés dotés d'ingénieuses structures et d'activités biologiques puissantes (**Chelghoum et Ghegdier, 2020**) comme l'activité antioxydante, anti-inflammatoire, anticancéreuse, antifongique et antimicrobienne... etc.

Les plantes médicinales ont présenté à travers plusieurs études des activités antimicrobiennes très intéressantes.

L'organisme humain est exposé à une multitude de microorganismes qui peuvent envahir ses tissus dans certaines conditions causant des maladies infectieuses graves. Les antibiotiques sont des agents antimicrobiens non ou relativement peu toxiques (**Mouffouk, 2019**). Le développement d'une résistance multi-médicamenteuse chez les pathogènes microbines et parasites nécessite une recherche de nouvelles substances antimicrobiennes

provenant d'autres sources, y compris les plantes (**Aqil et al., 2003**). Des alternatives aux antibiotiques ont été développées, à partir d'extraits des plantes, de manière à renforcer l'immunité de l'organisme humain, des animaux ou à inhiber la croissance des bactéries indésirables (**Randrianarivelo, 2010**).

L'objectif de notre étude est d'évaluer l'activité antimicrobienne des insaponifiables des feuilles, des racines et des graines de *Thapsia garganica* L.

Pour cela, le but de notre travail est l'étude de l'activité antimicrobienne, par la technique de diffusion sur milieu solide, et la détermination des concentrations minimales inhibitrices et bactéricides par la méthode de microdilution.

# *Étude bibliographique*

## **Partie I : Étude bibliographique**

### **I .1 Les plantes médicinales :**

Le manque de médicaments essentiels l'insuffisance des soins de santé, le coût élevé des médicaments et les habitudes socioculturelles des populations expliquent le recours aux pratiques traditionnelles à base de plantes médicinales(Sanogo, 2006). La grande majorité des recettes et des traitements traditionnels à base de ces plantes et sont utilisé jusqu'à maintenant.

Les plantes médicinales sont des espèces botaniques utilisées, en phytothérapie et en médecine populaire, pour guérir certaines affections chez l'Homme et les animaux(El Houiti, 2010). Alors elles ont toujours eu un rôle de grande importance sur la santé. À l'heure actuelle, les substances naturelles dans les plantes sont encore le premier réservoir de nouveaux médicaments(Tehami, 2017).

En d'autres termes sont des drogues végétales au sens de la pharmacopée si au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses(Filliat, 2012). Et comme toutes les plantes, elles sont en interaction continue avec différents microorganismes, aussi bien pathogènes que bénéfiques, vivant à la surface de la plante (épiphytes), en interactions avec ces racines (mycorhizes) et même à l'intérieur (endophytes) (Zerroug, 2021).

L'Algérie fait partie des pays arabes les plus riches en plantes médicinales avec 3164 espèces(Adjiba et Ain, 2021).

En Afrique, plus de 80% de la population a recours à la médecine traditionnelle et aux plantes médicinales pour ses soins de santé primaire, mais l'utilisation doit être de manière spécifique :utilisation immédiate, quantité limitée , pas de problèmes de conservation (Sanogo, 2006).

#### **I .1.1 Domaines d'application des plantes médicinales :**

Les substances naturelles issues des végétaux ont des intérêts multiples et sont utilisées :

**En médecine classique :** car elles présentent des avantages retrouvés rarement dans les médicaments.

**En Alimentation :** les herbes médicinales sont employées comme suppléments diététiques dans les assaisonnements, les boissons, et les colorants.

**En cosmétiques :** la cosmétologie moderne se base essentiellement sur des dérivés et des substances actives d'origine végétale(**El Houiti,2010**).

### **I .1.2 Origine des plantes médicinales :**

Elle porte sur deux origines à la fois. En premier lieu les plantes spontanées dites "sauvages" ou "de cueillette", puis en second les plantes cultivées.

#### **I .1.2.1 Les plantes spontanées :**

Les plantes spontanées sont des espèces végétales qui se développent naturellement à l'état sauvage, sans l'intervention de l'homme (**Guehiliz, 2016**).

Les ressources végétales spontanées constituent jusqu'à ce jour une source d'intérêt primordial pour l'homme et ses besoins. Elles représentent aussi un phyto--médicament appréciable par la population de certains pays du monde (**Bradai, 2014**).

#### **I .1.2.2 Les plantes cultivées :**

Les espèces cultivées sont plantées intentionnellement par les paysans. Et leur rôle: disponibilité des plantes sans besoin d'aller dans la forêt pour détruire les espèces sauvages, contrôle plus facile de la qualité, de la sécurité et de la propreté des plantes (**Laifaouim et Aissaoui, 2019**).

→ La plupart des espèces végétales qui poussent dans le monde entier possèdent des vertus thérapeutiques car elles contiennent des substances bioactives « métabolite primaire et secondaire » qui agissent directement sur l'organisme(**Iserin, 2001** ).

### **I .2 Les métabolites primaires :**

Le métabolisme primaire regroupe toutes les voies de synthèse de composés indispensables à la croissance et au développement de la plante. Les métabolites primaires qui en proviennent ont donc un rôle clé et bien établi chez tous les végétaux(**Royer, 2013**).

Ces métabolites sont des molécules qui existent dans toutes les cellules végétales et sont nécessaires à la vie de la plante. Ils sont à la base de la machinerie moléculaire de la

cellule. Les glucides, les acides aminés aussi les lipides sont des exemples importants de métabolites primaires(Bibet et al, 2008).

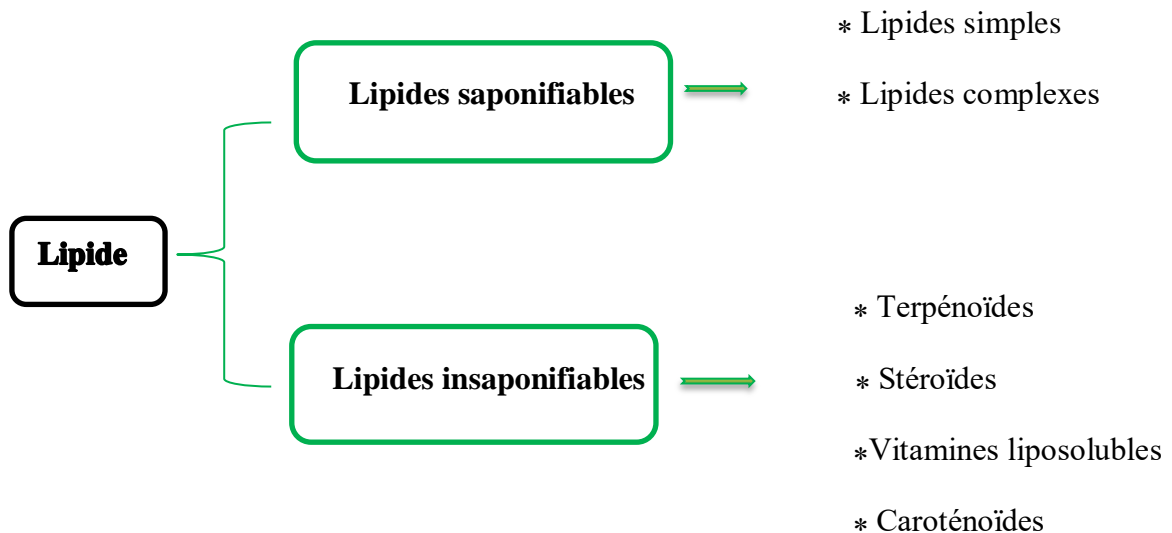
### **I .2.1 Les lipides :**

Le terme lipide représente des substances très hétérogène mais possédant un critère commun qui est :

- Leur insolubilité dans l'eau.
- Leur solubilité dans les solvants organique(kazi,1989).

Au point de vue chimique, les lipides sont composés de carbone, d'hydrogène et d'oxygène.

Selon la structure de leur squelette, les lipides peuvent être classé en :



**Figure 1 :** Classification simplifiée des lipides(Marouf et Tremblin, 2015).

### **Rôle des lipides :**

Les lipides ont plusieurs fonctions :

- Réserve énergétique.
- composants structuraux de protection de la plante.
- Matériaux de structure des membranes biologique (Bibet et al., 2008).

### **I .2.1.1 Lipide à base d'acides gras (lipides saponifiables) :**

#### **Lipides simples :**

Composés uniquement de carbone C, d'hydrogène H et d'oxygène O parmi ces lipides simples, nous trouvons les acides gras ; les glycérides ; les cérides et les stérides (**Nebeg, 2019** ).

#### **Lipides complexe :**

Sont également dénommés hétérolipides, composés non seulement de carbone C, de l'oxygène O et d'hydrogène H mais aussi de l'azote N et du phosphore P. Ils comprennent essentiellement deux familles : les glycérophospholipides et les sphingolipides (**Nebeg, 2019** ).

### **I .2.1.1 Lipides isopréniques (lipides insaponifiables) :**

Représentent 0.3 à 2% des lipides totaux. Ils sont fractionnés en diverses familles de composés classées en fonction de leur  $R_f$  en CCM(**kazi,1989**).

#### **a) Les terpénoïdes :**

Les terpénoïdes sont des produits naturels synthétisés par une grande variété des plantes et par certains animaux. Elles jouent des rôles bien établis dans presque tous les processus végétaux de base, y compris la croissance, le développement, la reproduction et la défense.

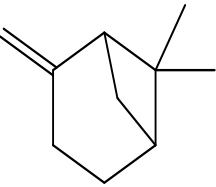
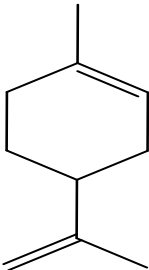
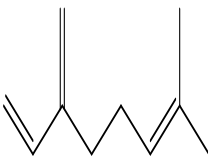
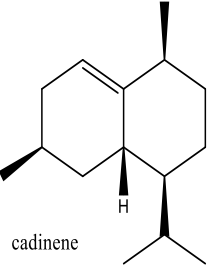
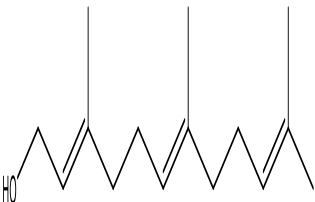
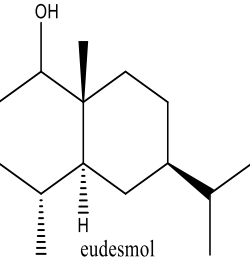
De nombreux terpénoïdes ont des activités pharmacologiques prononcées et sont donc intéressants pour la médecine et biotechnologie, ils possèdent aussi des activités biologiques : anti-inflammatoires, anticancéreux, et antivirales(**Ashour et al., 2010**).

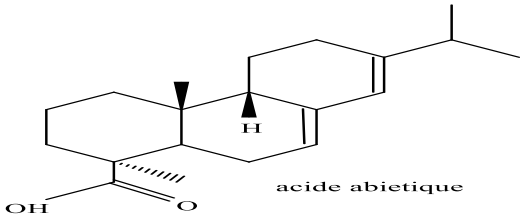
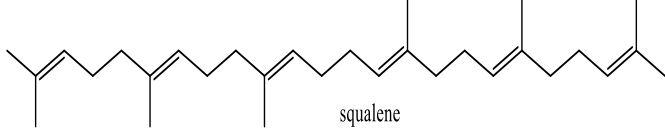
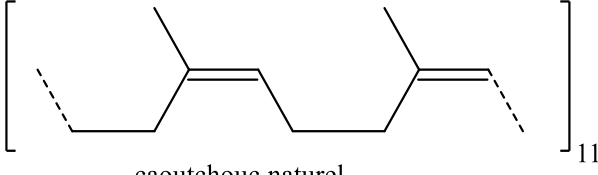
La nomenclature utilisée a pour base une unité terpénique en C10 ; les différents terpénoïde sont obtenus par l'addition de nouvelles molécules C5 voir Tableau 1 et 2 (**Marouf et Tremblin, 2015**).

**Tableau 1 :** Nomenclature des différentes classes de terpénoïdes (Marouf et Tremblin, 2015).

Nom	Précurseur	Localisation
<b>C10:</b> monoterpénoïdes	Pyrophosphate de géranyle	HE, pétales
<b>C15:</b> sesquiterpénoïdes	Pyrophosphate de farnésyle	HE, résines, pétales
<b>C20:</b> diterpénoïdes	Pyrophosphate de géranyl géranyl	HE, résines
<b>C25:</b> sesterterpénoïdes	Pyrophosphate de géranyl farnésyl	HE, résines
<b>C30:</b> triterpénoïdes	Squalène	Résines, cires des feuilles
<b>C40:</b> tétraterpénoïdes	phytoène	Tissus verts, racines, pétales
<b>Cn :</b> polyterpénoïdes (n=9 à 10 <sup>5</sup> )	Pyrophosphate de géranyl géranyl	Latex, cires des feuilles

**Tableau 2 :** Structure chimique des différentes terpénoïdes réalisée par ChemDraw 16.0.

Mono- terpéniques	 pinene	 limonene	 myrcene
Sesquiterpéniques	 cadinene	 farnesol	 eudesmol

<p>Diterpénique</p>	 <p>acide abietique</p>
<p>Triterpénique</p>	 <p>squalene</p>
<p>Polyterpénique</p>	 <p>caoutchouc naturel</p>

**b) - Les caroténoïdes :**

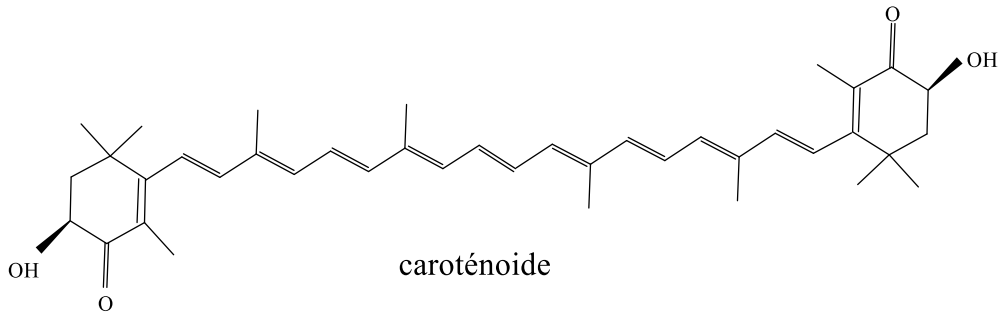
Les caroténoïdes sont des composés polyisoprénoïdes (Antille, 2007), Ils sont synthétisés par les plantes et les micro-organismes photosynthétiques(Nicol et Maudet, 2000).

La structure de base des caroténoïdes est un tétraèdre de 40 carbones, (Sanchez et al., 1999) symétrique et linéaire formé à partir de huit unités isoprénoïdes de 5 carbones ensemble de telle sorte que l'ordre est inversé au centre (figure2) (Rodriguez, 1999).

Les caroténoïdes constituent une imposante famille de pigments de nature terpénoïde, dont la couleur varie du jaune au rouge orangé (absorption de la lumière entre 400 et 550 nm) (Nicol et Maudet, 2000).

Le rôle des caroténoïdes dans la pigmentation des animaux a été largement montré. Mais il ne s'agit là que d'un aspect particulier de leurs fonctions, car leur intervention a été notée dans les phénomènes physiologiques de la croissance et de la reproduction. Le mode

d'action des caroténoïdes sur ces phénomènes n'est pas connu, mais il semble qu'il soit lié à leur caractère provitaminique A (**Choubert, 1979**).



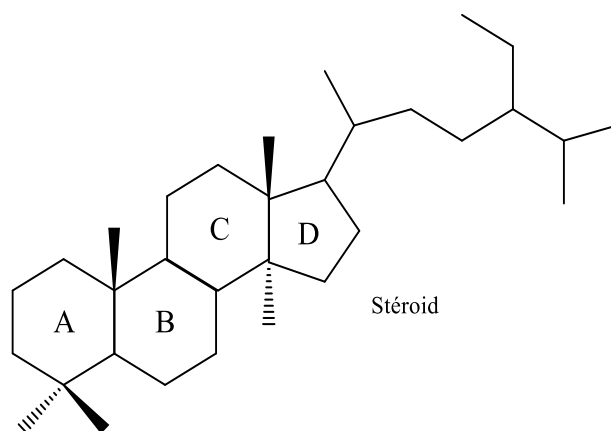
**Figure 2:** Structure chimique de caroténoïde réalisée par ChemDraw 16.0.

**c)- Les stéroïdes :**

Les stéroïdes sont des substances triterpéniques modifiées, classiquement regroupés avec les lipides, ils se rencontrent chez la majorité des plantes, plus de 300 stérols est composés apparentés ont été identifiés chez les plantes.

Chez les végétaux ils se trouvent à l'état libre ou combiné à des glucides sous forme d'hétérosides, on les trouve également sous forme d'ester d'acide gras associer à des glucides.

La nomenclature chimique des stéroïdes est basée sur ce carbocycle avec sa chaîne carbonée latérale, chaque hydrocarbure tétracyclique porte un nom spécifique (**Marouf et Tremblin, 2015**).



**Figure 3:** Structure chimique de stéroïde réalisée par ChemDraw 16.0.

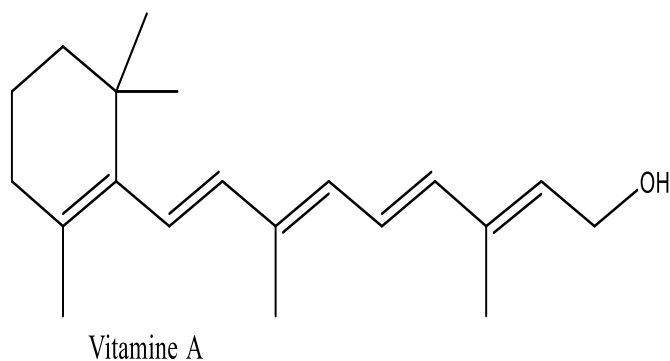
**d)- Les vitamines liposolubles :**

Les vitamines sont des substances organiques à faible poids moléculaire, sans valeur énergétique, présentés dans l'alimentation en petite quantité (< 1 g/jour), indispensables à la croissance, à la reproduction, et au fonctionnement de l'organisme qui ne peut les synthétiser lui-même. Elles doivent donc être fournies par l'alimentation (**Reboul, 2011**).

Les vitamines appartiennent à des classes chimiques différentes, on les classe en hydrosolubles et liposolubles suivant leur solubilité dans l'eau et les alcalis ou dans les solvants organiques. Sous le vocable de vitamines liposolubles, ont réuni quatre vitamines : A, K, E et D (**Marouf et Tremblin, 2015**).

- **Vitamine A :**

La vitamine A et ses nombreux dérivés sont disponibles dans diverses spécialités pharmaceutiques pour le conseil ou la prescription et entrent dans la composition de compléments alimentaires. Cette vitamine liposoluble joue un rôle important dans la formation du pourpre rétinien nécessaire à l'adaptation de la vision lorsque la lumière diminue, dans la multiplication cellulaire, ainsi que dans la trophicité épithéliale et tissulaire (**Malbos et al, 2021**).

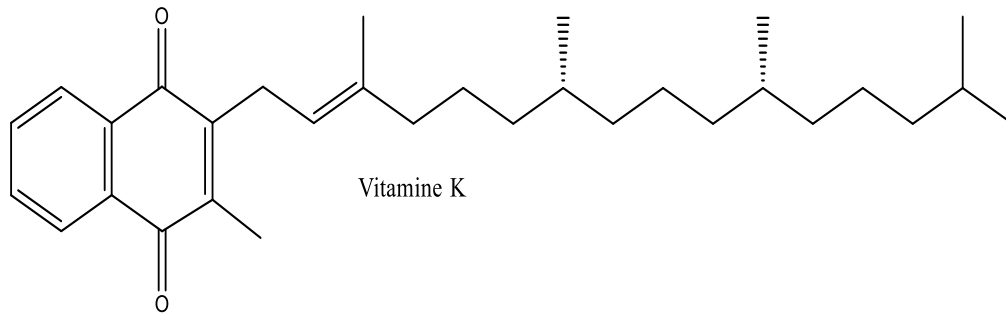


**Figure 4:** Structure chimique de vitamine A réalisée par ChemDraw 16.0.

- **Vitamine K :**

La vitamine K est douée de propriétés coagulantes, il en existe deux principales forment K<sub>1</sub> et K<sub>2</sub>.

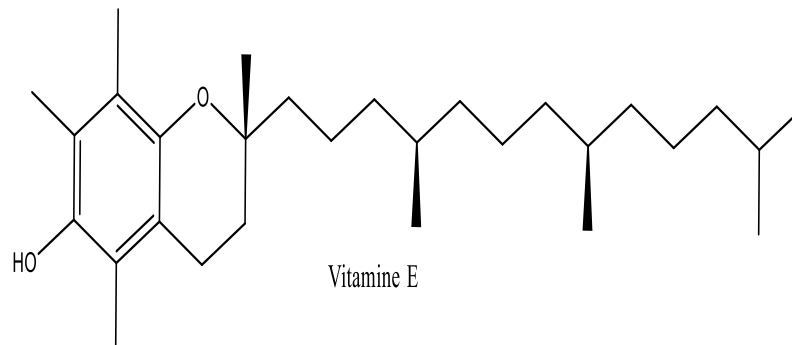
- K<sub>1</sub> : se trouve dans les plantes et surtout dans les légumes verts à feuilles (épinard...).
- K<sub>2</sub> : synthétiser par la flore intestinale (**Marouf et Tremblin, 2015**).



**Figure 5:** Structure chimique de vitamine K réalisée par ChemDraw 16.0.

• **Vitamine E:**

La vitamine E, appelée également l'alpha tocophérols, est un nom générique qui regroupe des antioxydants naturels relativement abondant dans les huiles végétales. Elle joue un rôle dans la fécondation et s'oppose aux processus oxydatifs, notamment à l'oxydation des acides gras insaturés (Marouf et Tremblin, 2015).



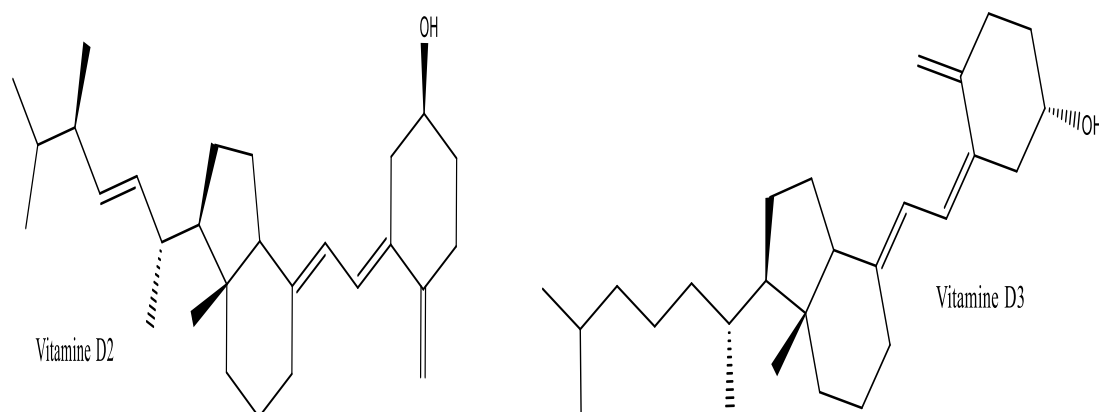
**Figure 6:** Structure chimique de vitamine E réalisée par ChemDraw 16.0.

• **Vitamine D :**

La vitamine D est une hormone liposoluble dont la biosynthèse commence au niveau cutané sous l'effet du rayonnement ultraviolet, et se termine au niveau rénal par l'hydroxylation en position 1, après plusieurs étapes successives (Bacchetta et al., 2010).

La vitamines D désigne, en fait un groupe de vitamines dérivées des stéroïdes, les plus importants sont la vitamine D<sub>2</sub> et la vitamine D<sub>3</sub>.

- Le précurseur de la vitamine D<sub>2</sub> est l'ergostérol obtenu à partir des plantes.
- La vitamine D<sub>3</sub> obtenu à partir du 7-déhydrocholestérol des tissus animaux (Marouf et Tremblin, 2015).



**Figure 7:** Structure chimique des vitamines D<sub>2</sub> et D<sub>3</sub> réalisée par ChemDraw 16.0.

Au cours de la dernière décennie, de nombreuses données ont permis de montrer que la vitamine D avait un effet protecteur contre les infections, les pathologies auto-immunes, les cancers et les affections cardiovasculaires. Ainsi, un déficit en vitamine D est un facteur de risque de survenue de diabète de type 1, de cancer, de maladies inflammatoires ou dysimmunitaires et d'infection (Bacchetta *et al.*, 2010).

### **I.3 Activités biologiques des plantes médicinales :**

Les plantes médicinales représentent une source inépuisable de remèdes traditionnels et efficaces grâce aux principes actifs qu'elles contiennent : Alcaloïdes, flavonoïdes, saponosides, quinones, huiles essentielles et les vitamines, ect... (Adjiba et Ain, 2021). Ils sont utilisés depuis des siècles comme remède à diverses maladies humaines. Ces plantes doivent leur pouvoir thérapeutique à des composés, dits alors actifs (principes actifs), qu'elles renferment (Diallo, 2005).

En effet, les substances naturelles d'origine végétale sont douées de plusieurs activités biologiques comme l'activité antioxydante, anti-inflammatoire, anticancéreuse, antifongique et antimicrobienne... etc.

#### **I.3.1 L'activité antimicrobienne :**

Les plantes ont des propriétés protectrices contre l'infection. Leurs vertus antimicrobiens sont généralement efficaces contre une large gamme de micro-organismes (El Houiti, 2010).

Les qualités antiseptiques des plantes médicinales et de leurs extraits ont été reconnues depuis l'antiquité, l'idée de caractériser ces propriétés en laboratoire remonte au début des années 1900(**Randrianarivelo, 2010**).

Les chercheurs ont franchi une étape plus loin, ils ont isolé et identifié les métabolites responsables de l'activité antimicrobienne des extraits de plantes, cette étape constitue une plateforme pour plusieurs implications incluant l'industries pharmaceutique, la médecine alternative, et la thérapie naturelle (**Boudjouref, 2018**).

Les bactéries sont responsables de diverses infections dans les organismes vivants. Les chercheurs ont espéré pouvoir éradiquer certaines maladies avec la découverte des antibiotiques. Malheureusement la large utilisation de ces médicaments a généré une résistance croissante des bactéries face aux antibiotiques. En particulier, Les plantes médicinales constituent une source potentielle de composés antimicrobiens et/ou inhibiteurs des mécanismes de résistances aux antibiotiques (**Kada, 2018**).

Ces dernières années, il y a eu un grand intérêt pour la découverte de nouveaux agents antimicrobiens, due à une augmentation alarmante du taux des infections avec les microorganismes résistant aux antibiotiques (**Kada, 2018**).

### **I .3.2 L'activité antifongique :**

Les infections provoquées par les champignons (*Aspergillus*) ou les levures (*Candida*) qui sont appelées aussi les mycoses sont devenues un réel problème de santé publique. Elles sont de plus en plus difficiles à les inactiver et leurs fréquences sont en très forte progression (**Ouraini et al., 2007**).

Les plantes médicinales jouent un rôle important dans la lutte naturelle contre les champignons, c'est pour cela plusieurs essais ont été réalisés pour étudier l'effet de plante ou parties de plante sur la croissance des champignons ou la production des mycotoxines. (**Daoudi et al.,2017**).

# *Matériel et méthodes*

**PARTIE II : MATERIELS ET METHODES.**

**II .1 Matériel Biologique :**

**II .1 .1 Le matériel végétale (*Thapsia garganica* L) :**

**II .1 .1.1 Définition :**

Une plante poussant spontanément et considérée comme une plante médicinale appartenant de la famille des Apiacées (Stambouli et Amrani, 2015).

➤ *Thapsia* : tiré de l'île de Thapsos où elle a été découverte pour la première fois.

➤ *Garganica* : épithète donnée par rapport au nom d'une montagne en Italie : Gargano, où elle se trouve en abondance (Benkaddour, 2019).

**II .1 .1.2 Classification botanique :**

**Tableau 3 :** Classification botanique de *Thapsia garganica* L (Hammiche et al., 2013), (Roques, 1835).

Règne	Végétal
Embranchement	Spermaphytes (plante à graine)
Sous embranchement	Angiospermes (plante à fleur)
Classe	Dicotylédones
Sous classe	Apiales
Famille	Apiacées (ombellifères)
Sous famille	Apiodeae
Genre	<i>Thapsia</i>
Espèce	<i>Thapsia garganica</i> L
Nom vernaculaires	<ul style="list-style-type: none"> <li>● Français : <i>Thapsia</i> du Mont-Gargan, Faux fenouil, Thapsie.</li> <li>● Arabe : Dryas, adreyas, Adrias, Bou-nafà le père de l'utile, الدرياس, بونافع</li> </ul>

### II .1.1.3 Description de l'espèce :

*Thapsia garganica* est une herbe robuste de 1 à 2 mètres, vivace de la famille des Apiacées. (Hammiche et al., 2013). Les différentes parties sont présentées dans le tableau 4.

**Tableau 4 :** Description des différentes parties de *Thapsia garganica*.

---

**Les racines :** Sa racine possède une écorce qui se présente sous forme de fragments, sa face externe est de couleur jaune brunâtre très claire, sa face interne est blanche (Hammiche et al., 2013).



**Figure 8 :** Photographie illustrant les racines, photo prise le 20 juillet 2017 par (Nebeg, 2019 ).

---

**Les graines :** de grande taille (2cm) , est un akene double dont les deux mericarpes ont les cotes secondaires, laterales, fortement dilatees en ailes membraneuses (Hammiche et al., 2013).



**Figure 9 :** Photographie illustrant les graines, photo prise le 20 juillet 2017 par (Nebeg, 2019 ).

---

**Les feuilles :** sont vertes, glabres, finement découpées en étroites lanières filiformes. Leur pétiole est dilaté en gaine à la partie inférieur (Hammiche et al., 2013)



**Figure 10 :** Photographie illustrant les feuilles, photo prise le 7 février 2022 à Tadjrouna Laghouat.

---

### II .1.1.4 Répartition géographique de l'espèce :

*Thapsia garganica* L. pousse spontanément en Afrique du Nord-Ouest (Libye, Tunisie, Algérie, maroc), Europe du Sud (Italie, Sicile, Sardaigne, Grèce, Baléares) et

Turquie(Casiglia et al., 2016). Il est adapté à la sècheresse méditerranéenne et l'aridité des steppes et des montagnes sahariennes (Hammiche et al., 2013).

D'après (Soubeiran, 1837), *Thapsia garganica* croit en abondance, spontanément et sans aucune culture dans les conditions suivantes :

- **Exposition** : plein soleil.
- **humidité** : sol sec à moyen.
- **Sol** : légère à moyen.
- **PH** : Sol acide ou calcaire.

#### **II .1.1.5 Les utilisations de *Thapsia garganica* :**

▪ **Utilisations pharmacologiques** : L'écorce de racine trouve quelques emplois en médecine traditionnelle Arabe pour traiter la stérilité féminine, les douleurs rhumatismales, et les entorses (Hammiche et al., 2013), Ainsi que pour combattre les maladies pulmonaires graves surtout les toux et branchites. Aussi utilisée comme des cataplasmes d'un mélange de farine et du son contre les morsures d'animaux venimeux.(Bammi et Douira, 2002).

▪ **Utilisations thérapeutiques** : la plante aide à traiter le cancer de la prostate et empêcher l'évolution de la tumeur avec une toxicité minimale (Hammiche et al., 2013).

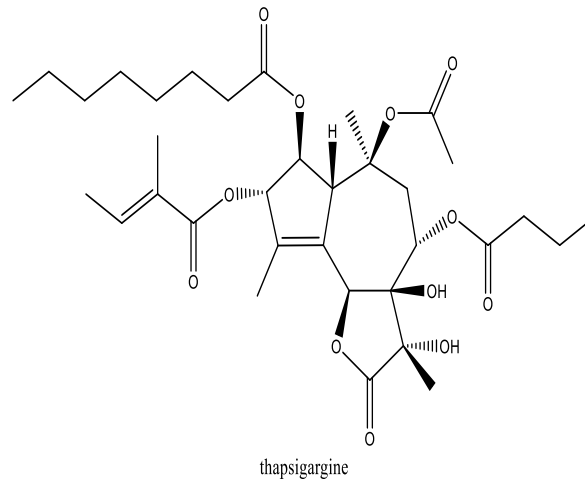
#### **Effet pharmacologique :**

Les principaux composés bioactifs synthétiser par *Thapsia garganica* sont : thapsigargine , thapsigargin, notrilobolid et thapsivillosin.

Une enquête scientifique sur les activités biologique de cette plante a conduit à la reconnaissance de la thapsigargine et la thapsigargin comme puissants inhibiteurs sélectifs de  $Ca^{+2}$  ATPase dans le réticulum endo- et sarcoplasmique chez les cellules animales. La recherche pharmacologique a également prouvé que ces thapsigargines ont une capacité de stimuler sélectivement les différentes cellules du système immunitaire. (Makunga et al., 2003)

Des études ont montré que thapsigargin (figure11) induit la mort cellulaire programmée « l'apoptose » des cellules cancéreuses humaines et sont développées comme des agents thérapeutiques pour le traitement du cancer (Makunga et al., 2003)

*Thapsia garganica* renferme un nombre important de terpénoïdes, les racines contiennent principalement des constituants volatiles et des lactones sesquiterpènes (STL) dont la molécule phare des thapsigargines (Tg). Le sesquiterpène lactone dont des dérivés pro-drogues sont utilisés en phase I pour le traitement du cancer de la prostate (**Riah et Senouci, 2017**).



**Figure 11** : Structure chimique de thapsigargin réalisé par ChemDraw 16.0.

#### **Effet toxique :**

La plante de *Thapsia garganica* est classée parmi les plantes toxiques.

Toute la plante est toxique par sa résine, jaune ou légèrement rougeâtre, rubéfiante et vésicante, particulièrement abondante dans l'écorce de la racine (**Hammiche et al., 2013**).

#### **► Les symptômes :**

Les intoxications humaines sont toutes dues aux utilisations traditionnelles mal maîtrisées. L'ingestion, chez l'homme, se traduit, même à faible dose, par de la diarrhée parfois des vomissements (**Hammiche et al., 2013**).

Le contact direct de la peau avec la plante peut entraîner une dermatite sous forme d'érythème, de petites cloques et de démangeaisons (**Andersen et al., 2015**).

#### **II .1.2 Matériel microbien :**

Les microorganismes testés pour évaluer l'activité antibactérienne des insaponifiables de *Thapsia garganica* L sont fournis par le Laboratoire vétérinaire Tlemcen. Et sont représentée dans le tableau 5.

Tableau 5 : Les différentes souches bactériennes et fongiques testées.

		Souche	Référence
Bactéries	Gram positif	<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 25923
		<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922
	Gram négatif	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ATCC 70603
		<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27853
		<i>Yersinia enterocolitica</i>	ATCC 9610
Levure	<i>Candida albicans</i>	ATCC 10231	
	<i>Candida albicans</i>	ATCC 26790	



Figure 12 : Les différentes souches bactériennes testées.

### **II .1.2.1 Souches bactériennes :**

*Escherichia coli* : Une bactérie du genre *Escherichia* est un bacille à Gram négatif, aérobic-anaérobic facultatif (AAF)(**Balière, 2016**). *E. coli* est une espèce commensale du tube digestif de l'homme et des animaux(**Brama, 1972**).

*Pseudomonas aeruginosa* : est une bactérie à Gram négatif, ubiquitaire, non encapsulée et non sporulante de la famille des pseudomonadacées. elle est aérobic (croît en milieu riche en oxygène) mais capable de s'adapter à l'anaérobiose(**Ngo, 2019**).

*Klebsiella pneumoniae* : ce sont des bacilles à Gram négatif, membre de la famille des *Enterobacteriaceae*, découverte il y'a plus de 100 ans. C'est une entérobactérie qui fait partie des espèces commensales, c'est-à-dire des flores normales du sujet sain(**Sekhri, 2011**). elles sont rependus dans la nature (eau, sol) et vivent souvent à l'état commensal sur la peau et les muqueuses des organismes humains et animaux(**Brama, 1972**).

*Staphylococcus aureus* : est une bactérie à Gram positif courante qui colonise différentes parties du corps humain telles que les narines et la peau et peut dans certains cas, être à l'origine de multiples infections(**Kakou et al., 2020**).

*Yersinia enterocolitica* : est une bactérie à Gram négatif anaérobic facultatif, mobile à 25°C, ayant la caractéristique de se multiplier à 4°C(**Thibodeau, 2003**). Parmi les dangers bactériens susceptibles d'être transmis au consommateur de viandes et produits carnés porcins(**Magras et al., 2008**).

### **II .1.2.2 Souche fongique :**

*Candida albicans* : est l'espèce de levure la plus importante, ils vivent à l'état naturel dans les muqueuses de l'être humain. Ce germe impliqué respectivement dans les candidoses et les panaris(**Tittikpina et al., 2013**).

## **II .2 Méthodes Expérimentales :**

### **II .2.1 Préparation de matériel végétale :**

Les différentes parties (graines, feuilles, racines) de *Thapsia garganica*. Ont été récoltées de la région de Tadjmout, Wilaya de Laghouat. La cueillette est réalisée le mois de mars pour les racines et les feuilles, et le mois de mai et juin pour les graines.

Après récolte, elles ont été séchées à l'air, à l'ombre et à température ambiante pendant 2 mois, ensuite broyées.

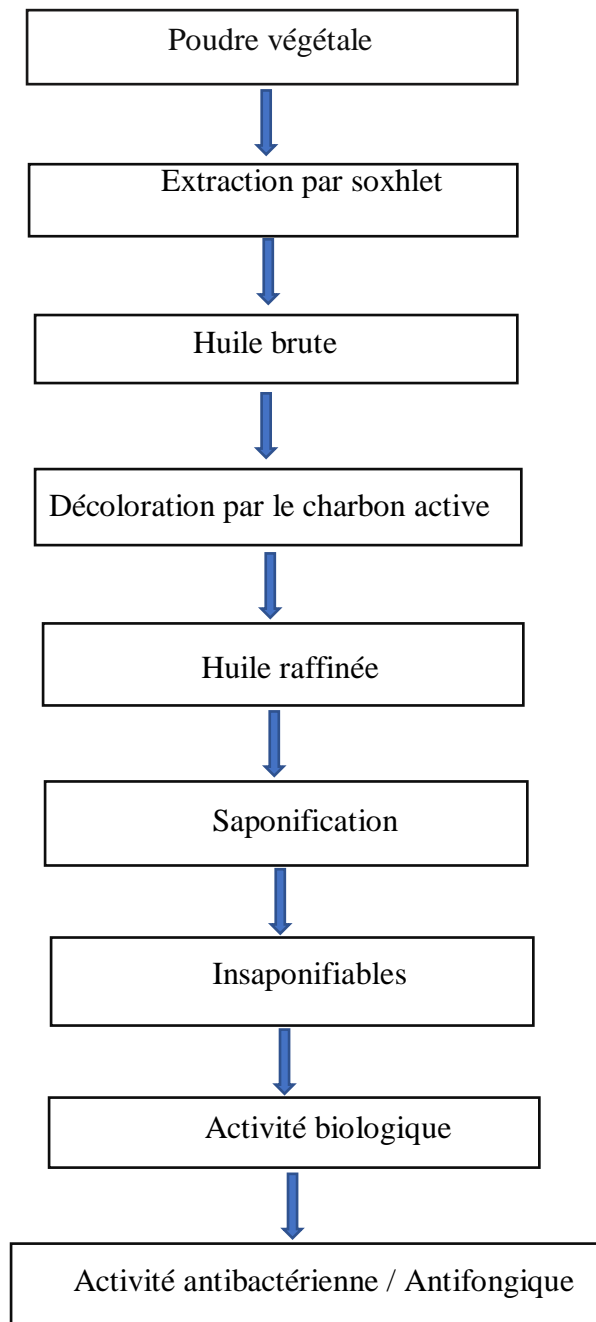
### **II .2.2 Extraction des insaponifiables :**

Dans un ballon on pèse 2 g d'huile de *Thapsia garganica*, on ajoute 20 ml de solution méthanolique de potasse(0,5N), celui-ci est adapté au réfrigérant, et porté à reflux pendant 1h30. Puis on ajoute 20 ml d'eau distillée. La phase aqueuse basique contenant les acides gras, sous forme de sels de potassium est extraite 3 fois par 50 ml de diéthyl éther pour obtenir les insaponifiables. La fraction organique obtenue après saponification est séchée par sulfate de sodium anhydre, filtrée puis évaporée sous pression réduite. On obtient ainsi la fraction insaponifiable. Le rendement en composés insaponifiables est obtenu par pesée du contenu du ballon après évaporation sous pression réduite(Nebeg, 2019 ).

Les Insaponifiables sont récupérés dans 3 petits flacons de masse et étiquetés connue « racine, feuille, Graine ». Et les dilutions ont été préparées dans le DMSO (tableau 6).

**Tableau 7 :** Les différentes dilutions des extraits.

	<b>PURE</b>	<b>1/2</b>	<b>1/5</b>	<b>1/10</b>
<i>Feuille</i>	3 ml + 0.10g	0.5ml d'extrait	0.5ml d'extrait	0.1 ml d'extrait
<i>Graine</i>	3 ml + 0.06g	+	+	+
<i>Racine</i>	3 ml + 0.05	0.5ml DMSO	2ml DMSO	0.9 ml DMSO



**Figure 13** : Protocole d'extraction des insaponifiables.

**II .2.3 Préparation des milieux de culture :**

Les souches microbiennes ont besoin pour se développer d'un milieu nutritif riche en éléments indispensables, les propriétés et la préparation des milieux utilisés dans notre étude sont mentionnées dans le tableau suivant :

**Tableau 8 :** Propriété et préparation des milieux de culture.

Milieu de culture	Propriété	Préparation
Mueller – Hinton	Solide	38g (MH) + 1L d'eau distillée
Agar Sabouraud Dextrose	Solide	65g (SB) + 1L d'eau distillée
Mueller – Hinton	Liquide	30g (MH) +1L d'eau distillée
Agar Sabouraud Dextrose	Liquide	68g (SB) + 1L d'eau distillée

Les antibiotiques choisis, leurs codes et leurs concentrations sont mentionnées dans le tableau suivant :

**Tableau 9:** Les antibiotiques choisis, leurs codes et leurs concentrations.

Les antibiotiques	Le code	La concentration
SPIRAMYCIN	SR	100
AMIKACIN	AK	30
MYTRICINE	MR	40 ml
CEPHALOSPRINE	CFZ	1g
GENTAMICIN	GEN	10
DOXYCYCLINE	DXT	30

**II .2.4 Préparation de pré-culture :**

➤ **Repiquage des souches bactériennes:**

Les différentes souches bactériennes ont été repiquées par la méthode des stries, puis incubées à 37°C pendant 24 heures afin d'obtenir une culture jeune et des colonies isolées. Les colonies isolées ont servi à préparer l'inoculum(**Rahal, 1999**).

➤ **Préparation des suspensions bactérienne :**

Les suspensions bactériennes sont diluées dans l'eau physiologique (0.9%), après déterminée spectrophotométriquement par une densité optique entre 0.08 et 0.10 à une longueur d'onde de 625-630 nm(**Rahal, 1999**).

**II .2.5 Evaluation de l'activité antibactérienne :**

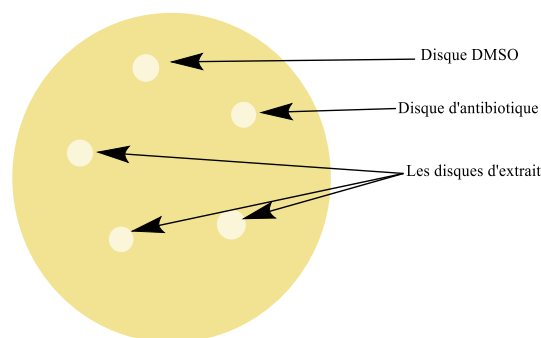
Le test d'évaluation de l'activité antibactérienne des différents extraits a été réalisé par deux méthodes :

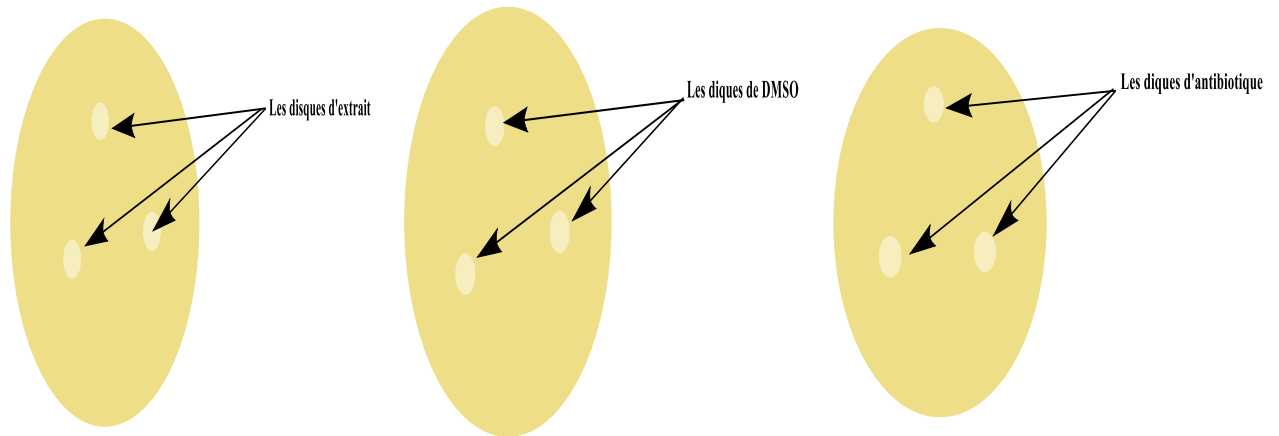
- Par la méthode de diffusion sur milieu solide.
- Par la méthode de dilution en milieu liquide, afin de déterminer les concentrations minimales inhibitrices (CMI) ainsi que les concentrations minimales bactéricides (CMB) et fongicide (CMF) (**El Houiti,2010**).

**II .2.5.1 Méthode de diffusion sur disques en milieu gélosé :**

Est une technique pour estimer le pouvoir antimicrobien. Les surfaces du milieu gélosé ont étéensemencées par les souches diluées et les des disques de papier Wattman N° 03 stériles de 06 mm de diamètre imbibés de 10 µl de chaque extrait.

D'autre par les disques d'antibiotiques et les disques imbibés par DMSO sont utilisés comme témoins négatifs (Figure 14 ) (**Karabay et al., 2007**).



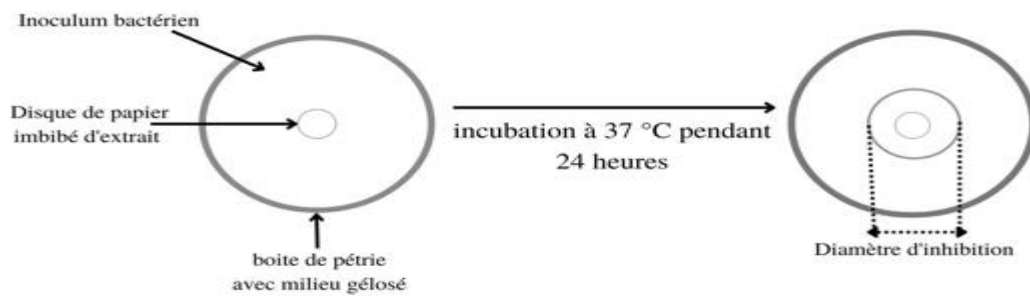


**Figure 14 :** Principe de la méthode de diffusion sur disques.

Après 24 heures d'incubation à 37 °C, les diamètres des zones d'inhibition produites par les différents extraits sont mesurés en millimètres et comparés à celles produites par contrôle positif et le contrôle négatif (DMSO).

**Lecture des résultats :**

Après 24 heures d'incubation, mesurer à l'aide d'un pied à coulisse le diamètre d'inhibition des bactéries et levures autour des disques (figure 15).



**Figure 15 :** Méthode de lecture des zones d'inhibition.

**II .2.5.2 Microdilution :**

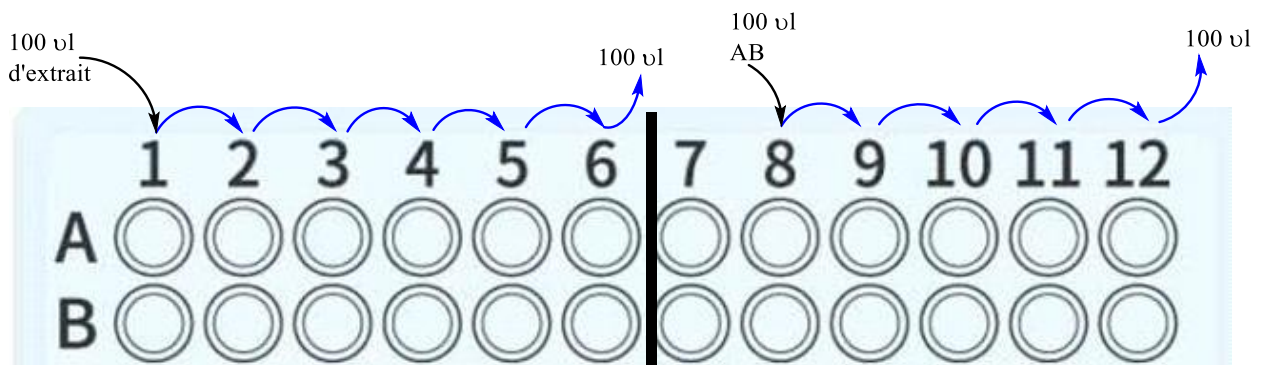
La méthode de microdilution sur milieu liquide a été utilisée pour déterminer les concentrations minimales inhibitrices (CMI) et les concentrations minimales bactéricides et fongicide (CMB et CMF). Les résultats sont notés à l'œil nue.

**a) - Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) :**

La Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) de façon générale est la plus faible concentration d'un antimicrobien capable d'inhiber toute croissance visible après un temps d'incubation de 18 à 24 heures. La méthode de diffusion sur disques en milieu gélosé a été choisie pour sa simplicité (La et al., 2008).

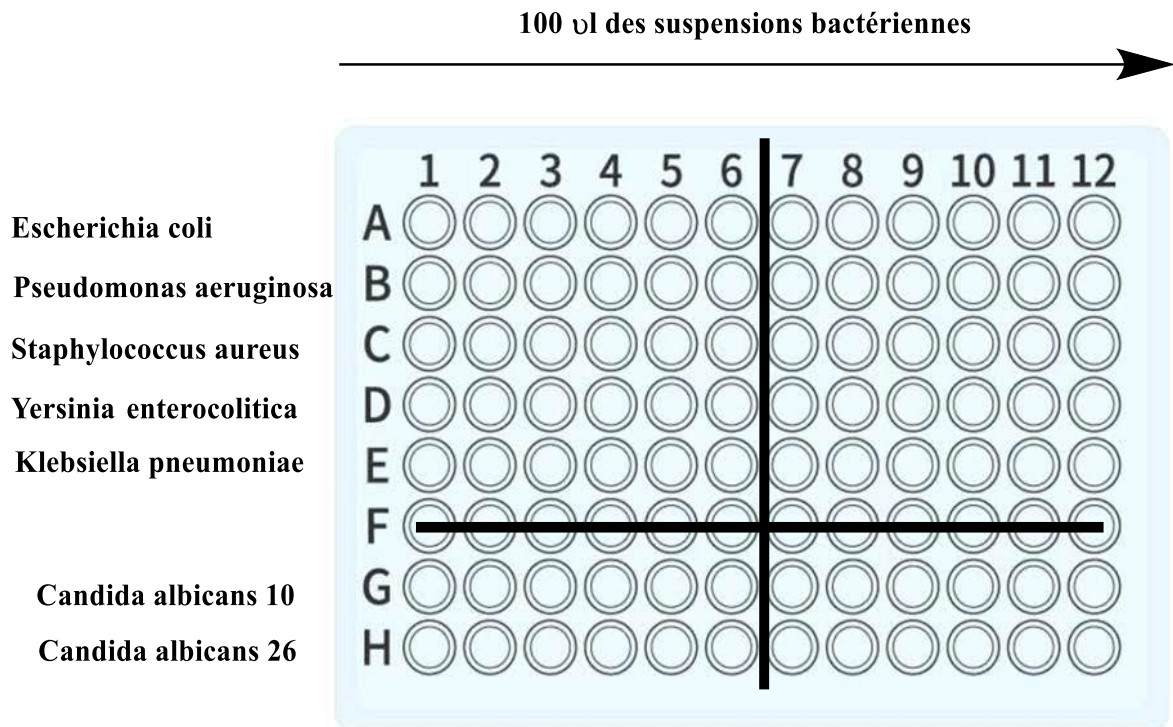
La détermination des CMI des différents extraits a été déterminée par microdilution sur microplaque, La microplaque est divisée en 96 puits pouvant être schématisée sous forme de tableau de 8 lignes (A à H) et 12 colonnes (1 à 12), les quadrillages représentent les puits.

Les puits sont inoculés avec 100 µl de bouillon Mueller Hinton liquide sauf les rangées (G et H avec Bouillon sabouraud) après ajoutés 100 µl d'extrait (colonne 1) puis dilués en série de la colonne 1 jusqu'à 6 pour les rangées A, B, C, D, E, G et H. Les colonnes de 8 à 12 (ont été conservé pour le contrôle positif (100 µl d'antibiotique dilués en série) (Figure 16 et 17)



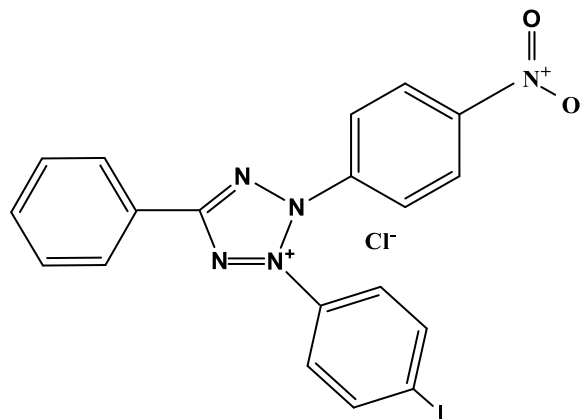
**Figure 16 :** Dilution d'extrait et de l'antibiotique dans la plaque.

La colonne 7 est conservé pour le contrôle négatif à la fin on ajoute 100 µl des suspensions bactériennes dans tous les puits de la plaque figure 17 (Koudou, 2009).



**Figure 17 :** L'ajoute des suspensions bactérienne dans les puits de la plaque.

Les plaques sont incubées à 37°C pendant 24 heures. Après 24h on a ajouté 40 µl de solution d'iodonitrotetrazoliumchloride (INT) (Figure 18) à chaque puit et on incubé pendant 30 min, jusqu'à ce qu'il y ait un changement de couleur(Koudou, 2009).

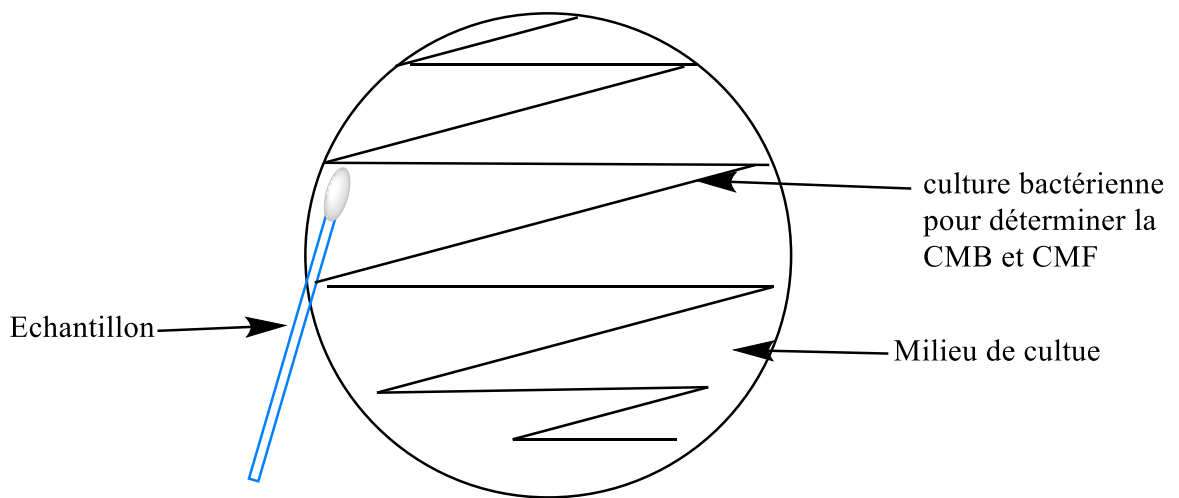


**Figure 18 :** Structure chimique d'iodonitrotetrazoliumchloride réalisée par ChemDraw 16.0.

**b) - Détermination de la Concentration Minimale Bactéricide (CMB et CMF) :**

La concentration minimale bactéricide (CMB et CMF), est la concentration de antimicrobien qui laisse au plus 0.01% de germes survivants de l'inoculum initial après 48h d'incubation à 37 °C.(**La et al., 2008**).

Afin d'estimer la CMB, un repiquage a été fait sur de la gélose à partir des puits ne présentant aucune croissance visible à l'œil nu après incubation (Figure 19). La lecture est faite après une incubation à 37°C pendant 24 heures(**Koudou, 2009**).



**Figure 19 :** La culture sur un milieu solide pour déterminer la CMB.

# *Résultats et discussion*

**Partie III : Résultats et Discussion.**

**III .1 Rendement d'extraction :**

Les rendements en insaponifiables à partir des lipides des différentes parties de plante sont représentés dans le tableau suivant :

**Tableau 10 :** Le rendement des insaponifiables.

	<b>Feuille</b>	<b>Racine</b>	<b>Graine</b>
<b>Insaponifiables (%)</b>	21,65	44,13	6,43

**III .2 Séchage :**

Pour calculer la masse on a séché les insaponifiables, les résultats obtenus sont représentés dans le tableau suivant :

**Tableau 11 :** Détermination des masses des insaponifiables.

	<b>La masse des flacons vide (g)</b>	<b>La masse des flacons après séchage (g)</b>	<b>La masse des insaponifiable (g)</b>
<b>Feuille</b>	16.75	16.85	0.10
<b>Racine</b>	10.10	10.15	0.05
<b>Graine</b>	17.41	17.47	0.06

### **III .3 Les résultats de l'activité antimicrobienne (les bactéries et levures) testée par la méthode des disques :**

Dans cette étude, la méthode de diffusion sur milieu solide est utilisée pour étudier l'activité antibactérienne des insaponifiables de *Thapsia garganica L.* Afin de déterminer leur potentiel bioactif. Les insaponifiables des feuilles et des racines et des graines de *Thapsia garganica L* sont testées vis à-vis d'une bactérie à Gram positif (*Staphylococcus aureus*) et quatre autres à Gram négatifs (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Yersinia enterocolitica*) et deux levures (*Candida albicans*).

L'activité antimicrobienne a été estimée comme suit :

- Forte, pour des diamètres de zone d'inhibition supérieurs à 15mm (souche sensible).
- Moyenne, pour des valeurs comprises entre 8mm et 15mm (souche Modéré).
- Faible ou nulle lorsque les diamètres n'excèdent pas 8mm (souche résistante)

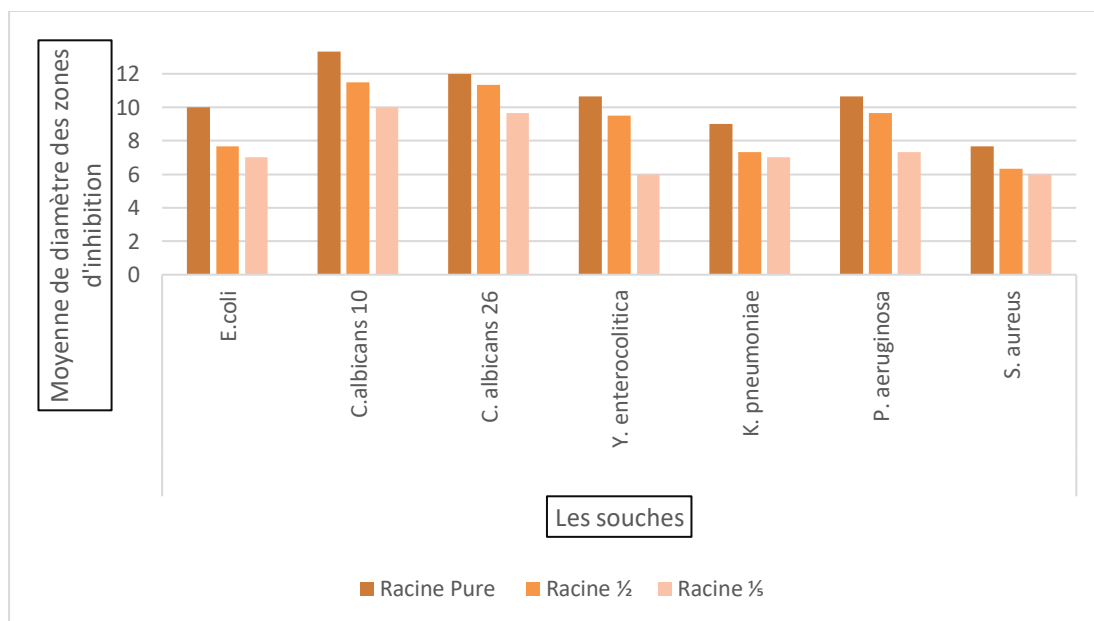
**(Bansemir et *al.*, 2006).**

**Tableau 12 :** Diamètres moyens en (mm) des zones d'inhibition des extraits de *Thapsia garganica* à l'égard des souches testées.

Extrait	Dilution	Les différentes souches						
		E.coli	C.albicans 10	C. albicans 26	Y. enterocolitica	K. pneumoniae	P. aeruginosa	S. aureus
Racine	Pure	10	13.3	12	10.7	9	10.7	7.7
	1/2	7.7	11.5	11.3	9.5	7.3	9.7	6.3
	1/5	7	10	9.7	6	7	7.3	6
Feuille	Pure	7	13	12	10	7.3	9.7	8
	1/2	6	11.3	10.7	6.3	7	8.3	7
	1/5	6	9.7	10	6	6.3	6	7
Graine	Pure	13.8	14.7	12.8	11.7	10.7	11	12.3
	1/2	12.8	12.7	12	10.7	9	11	11
	1/5	11	11	10	8	7.7	10	9

Les résultats obtenus dans le test de l'activité antimicrobienne des insaponifiables, par la méthode des disques révèlent une variation des diamètres des zones d'inhibition allant de 6 à 15 mm, selon les souches et en fonction des trois dilutions pures ;1/2 et 1/5. Les microorganismes étudiés n'ont pas présenté la même sensibilité vis-à-vis des extraits.

### III .3.1 Les résultats de l'activité antimicrobienne d'extrait Racine :



**Figure 20 :** Activité antibactérienne des insaponifiables des racines en termes des diamètres des zones d'inhibition (mm) par trois dilutions (pure, 1/2, 1/5).

#### a) -Activité antibactérienne à l'égard du bactérie Gram positive :

D'après les résultats de la figure 18, les extraits (pure, 1/2, 1/5) ont un faible effet inhibiteur sur *S. aureus* à une zone d'inhibition < 8mm.

#### b) - Activité antibactérienne à l'égard des bactéries Gram négatives :

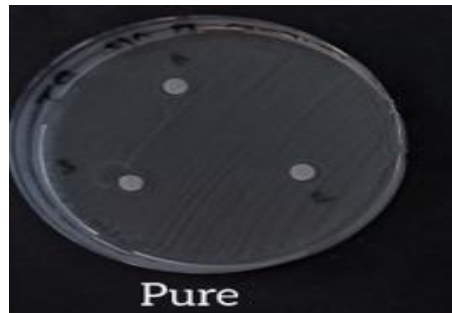
Une différence significative est enregistrée entre les différentes souches.

Les dilutions (1/2, 1/5) d'extrait racine à un faible effet inhibiteur sur *K. pneumoniae* et *E. Coli* en termes de zone d'inhibition (7mm) comparativement à celui du dilution 'pure' qui montre une activité modérée (9 et 10mm).

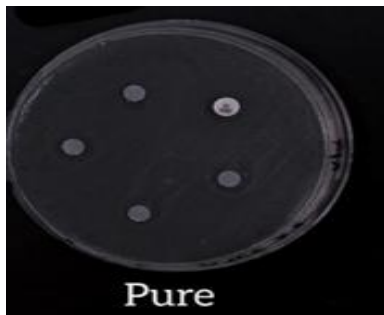
Pour *P. aeruginosa* ; *Y. enterocolitica* aucune sensibilité n'a été révélée vis-à-vis la dilution (1/5) de zone d'inhibition (6 à 7mm) par contre possèdent un potentiel de résistance modéré contre l'action antimicrobienne de nos dilutions (pure, 1/2) à diamètre (9 à 10 mm).

**c)- Activité antimicrobienne à l'égard des levures :**

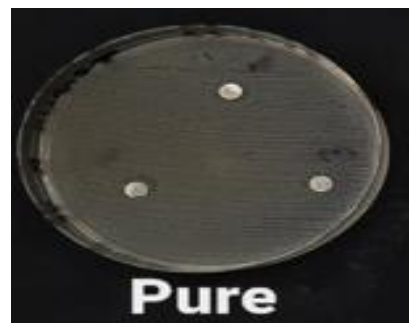
Nous pouvons déduire que l'ensemble des souches *Candida albicans* (10,26) ont une sensibilité modérée entre (9mm à 13mm) à l'insaponifiables des Racine (figure19).



*Staphylococcus aureus*



*Escherichia coli*



*Yersinia enterocolitica*



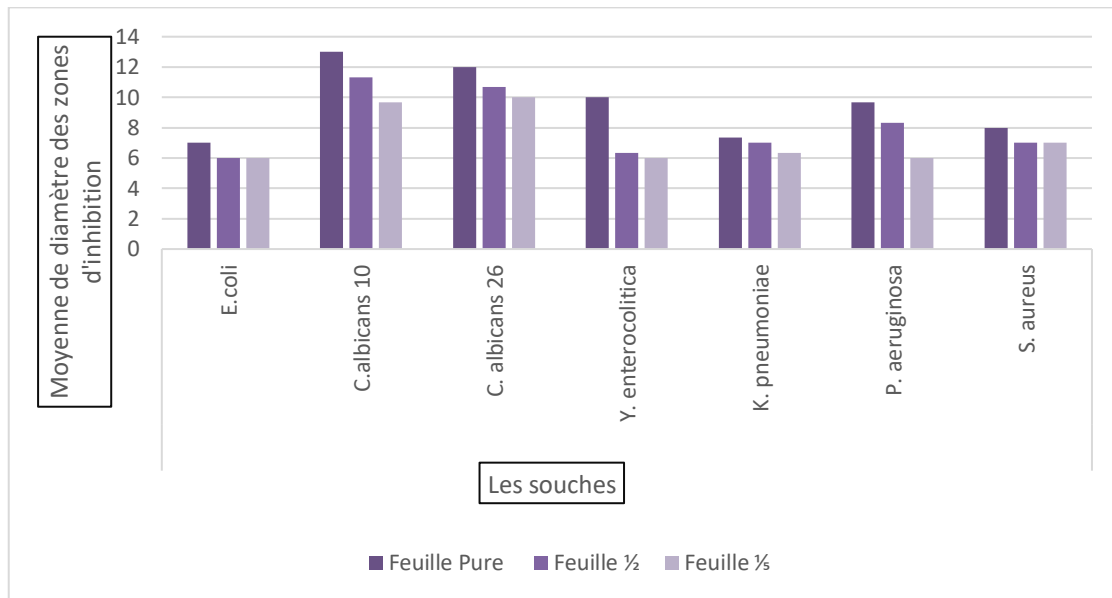
*Candida albicans 10*



*Candida albicans 26*

**Figure 21 :** L'effet de l'activité antibactérienne des insaponifiables des racines vis-à-vis des différentes souches (gram positif, gram négatif, levure).

III .3.2 Les résultats de l'activité antimicrobienne d'extrait Feuille :



**Figure 22 :** Activité antibactérienne des insaponifiables des Feuilles en termes des diamètres des zones d'inhibition (mm) par trois dilutions (pure, 1/2, 1/5).

**a) - Activité antibactérienne à l'égard de la bactérie à Gram positif :**

D'après les résultats de la figure 20 nous pouvons déduire que des insaponifiables des feuilles (pure, 1/2, 1/5) ont un effet inhibiteur faible sur *S. aureus*, Alors que cette souche possède un potentiel de résistance faible contre l'action antimicrobienne des insaponifiables des feuilles et présente des diamètres de zones d'inhibition allant de (8mm, 7mm) respectivement.

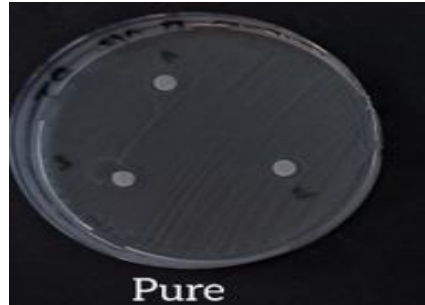
**b) - Activité antibactérienne à l'égard des bactéries à Gram négatif :**

Les deux souches (*K. pneumoniae* ; *E. Coli*) sont moins sensibles à toutes les dilutions d'extrait feuille de DI<8mm.

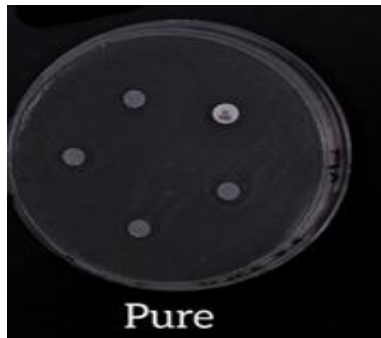
Concernant (*P. aeruginosa* ; *Y. enterocolitica*) elles possèdent un potentiel de résistance modéré contre l'action antimicrobienne de la dilution pure et 1/5. Les résultats de la dilution 1/2 pour la souche *K. pneumoniae* est faible (7mm) et modéré pour *P. aeruginosa* (9mm).

**c)- Activité antimicrobienne à l'égard des levures :**

Nous pouvons conclure que l'ensemble des souches *Candida albicans* (10, 26) ont une sensibilité modérée entre (9mm à 13mm) à l'extrait Feuille (figure21).



*Staphylococcus aureus*



*Escherichia coli*



*Yersinia enterocolitica*



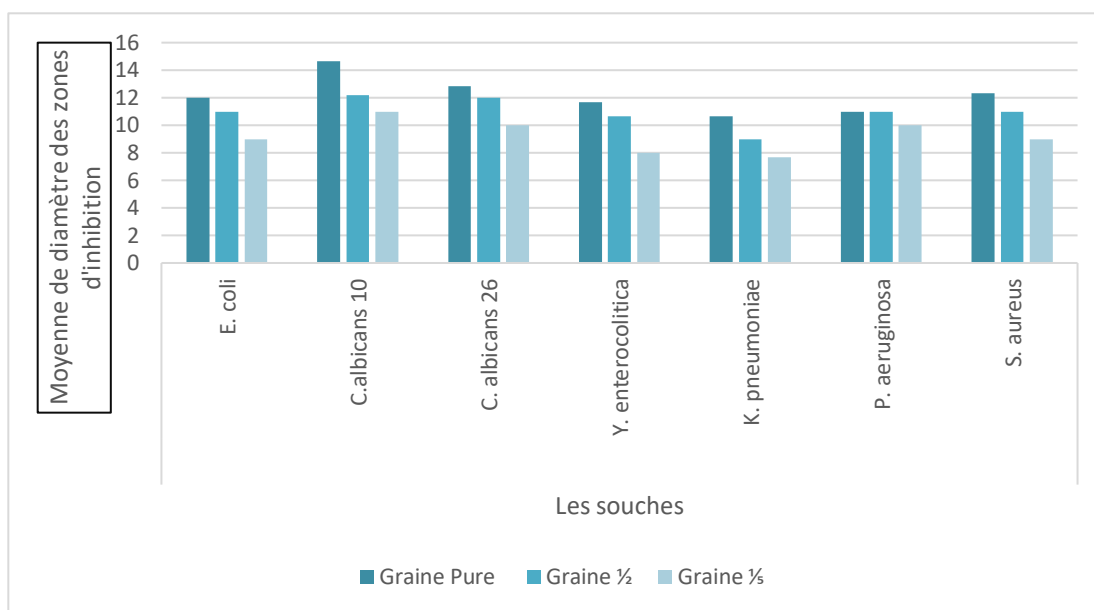
*Candida albicans 10*



*Candida albicans 26*

**Figure 23 :** L'effet de l'activité antibactérienne des insaponifiables des feuilles vis-à-vis des différentes souches (gram positif, gram négatif, levure).

III .3.2 Les résultats de l'activité antimicrobienne d'extrait Graine :



**Figure 24 :** Activité antibactérienne des insaponifiables des Graines en termes des diamètres des zones d'inhibition (mm) par trois dilutions (pure, 1/2, 1/5).

**a) - Activité antibactérienne à l'égard de la bactérie à Gram positif :**

*S. aureus* possède un potentiel de résistance modéré contre l'action antimicrobienne de l'extrait graine (pure, 1/2, 1/5) à diamètre (9 à 12mm) (figure22).

**b) - Activité antibactérienne à l'égard des bactéries à Gram négatif :**

Nous avons observé que la souche *K. pneumoniae* possède un potentiel de résistance faible contre l'action antimicrobienne de la dilution (1/5). Par contre, les dilutions (pure, 1/2) ont montré des zones d'inhibitions (9mm et 11mm).

Les autres souches *P. aeruginosa*, *Y. enterocolitica*, *E. Coli* se comportent différemment avec des valeurs d'inhibition comprises entre (8mm à 14mm) ont été notée pour toutes les dilutions. Donc ce sont des souches modérés (figure22).

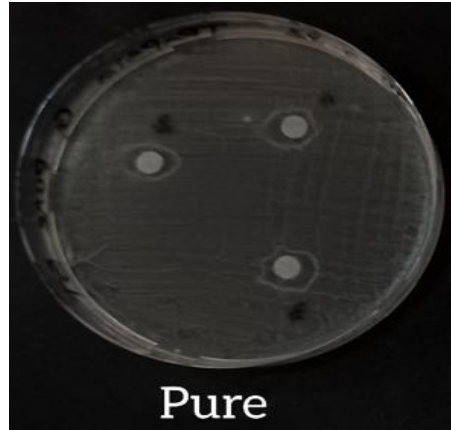
**c) - Activité antimicrobienne à l'égard des levures :**

Une petite différence est enregistrée entre les deux souches *Candida albicans* (10, 26).

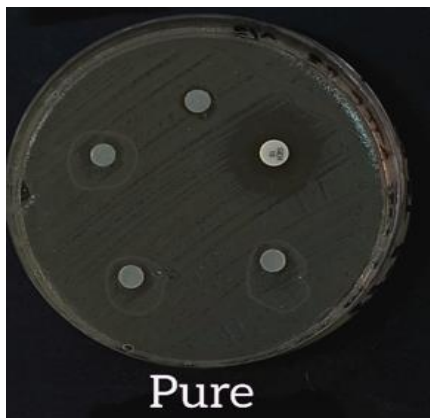
*Candida albicans* 26 à une sensibilité modérée entre (10mm à 13mm) à l'extrait Graine.

D'autre part une inhibition très significative a été observée pour la dilution 'pure' d'extrait Graine contre *Candida albicans* 10 avec un diamètre de 15mm, et les autres

dilutions ( $\frac{1}{2}$ ,  $\frac{1}{5}$ ) donnent une activité antimicrobienne moyenne avec des diamètres de 12mm et 11mm (figure22 et 23).



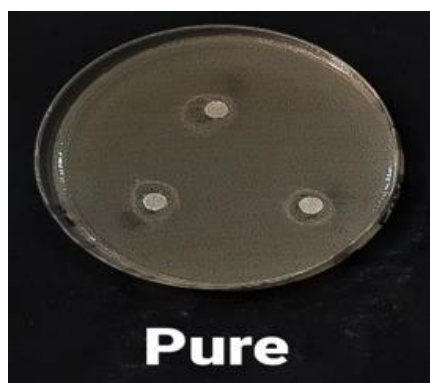
*Staphylococcus aureus*



*Escherichia coli*



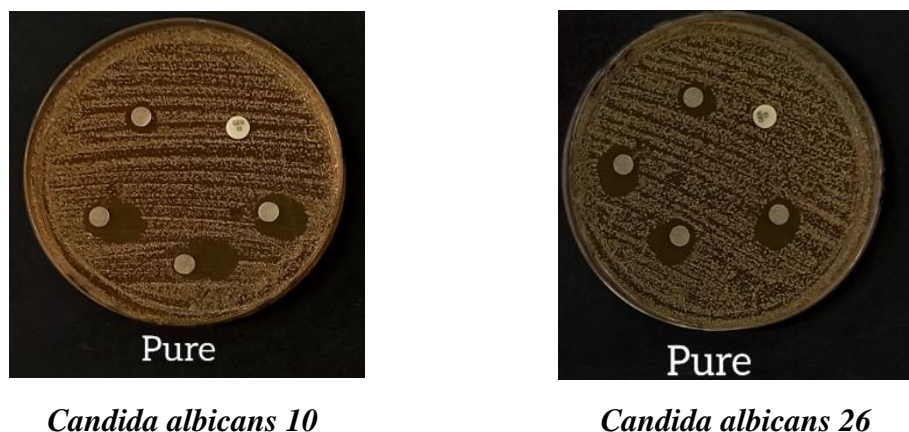
*Pseudomonas aeruginosa*



*Klebsiella pneumoniae*



*Yersinia enterocolitica*



**Figure 25 :** L'effet de l'activité antibactérienne des insaponifiables des graines vis-à-vis des différentes souches (gram positif, gram négatif, levure).

#### III.4 Comparaison des résultats d'activité antibactérienne des extraits de *Thapsia garganica* L (Feuilles, Racines, Graines) :

Les résultats révèlent que les insaponifiables exercent un effet antimicrobien considérable sur les sept (7) souches.

D'après les résultats du tableau 11, la comparaison des trois extraits montre que ces derniers sont tous très actifs sur les souches de *Candida albicans* (10,26). Nos résultats s'accordent avec ceux de (Casiglia et al., 2016) que l'huile de *Thapsia garganica* a montré une bonne activité antimicrobienne contre *Candida albicans*.

L'extrait racine exerce une faible activité sur *S. aureus*, et selon (Sait et Smaoun, 2013) les extraits Dichlorométhane et méthanoliques des racines ont un faible effet inhibiteur sur cette dernière.

L'extrait feuille exerce une faible activité sur *E. coli*. Ainsi que l'extrait graine a montré une faible activité inhibitrice sur *K. pneumoniae*.

L'analyse des résultats obtenues démontre que les Gram négatif (*P. aeruginosa* ; *Y. enterocolitica*) ont une activité modérée sur tous les extraits. Ces résultats s'accordent avec ceux de (Sait et Smaoun, 2013) ont rapportés que les extraits de *Thapsia garganica* exercent une activité intermédiaire vis-à-vis (*P. aeruginosa*).

Contrairement à notre résultat d'extrait racine (Shahidi et al., 2004) Plusieurs études ont informé que *S. aureus* compte parmi les souches bactériennes les plus sensibles aux extraits de plantes.


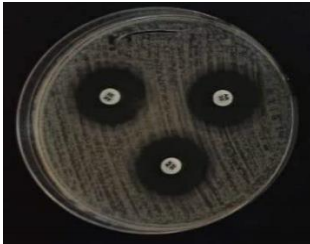
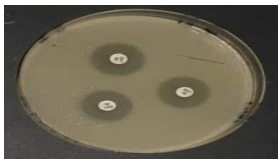
Depuis(Sait et Smaoun, 2013), la zone d'inhibition la plus large obtenue avec les extraits (dichlorométhanique, hexaniques ,méthanoliques) des feuilles contre *E. Coli* et qui s'accorde pas avec notre résultat d'extrait feuille .

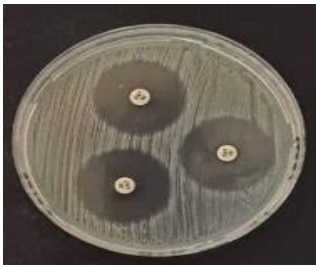
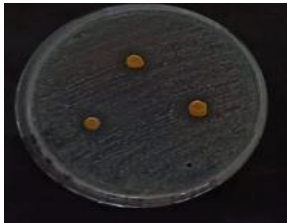
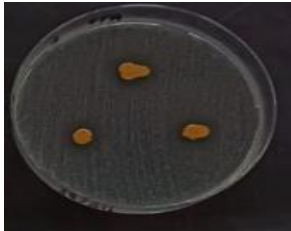
Il y a une grande hétérogénéité dans les résultats obtenus, l'effet antibactérien est plus ou moins important selon la nature de la souche.

La différence trouvé entre les extraits peuvent être attribuées à plusieurs facteurs tels que les facteurs inhérents ; variété, conditions ambiantes, facteurs écologiques, variations saisonnières et méthodes d'extraction, préparation d'extrait, solvant utilisé, sensibilité des bactéries et organe de plante utilisé (Adjiba et Ain, 2021).

D'une manière globale, les extraits insaponifiables semblent être un peu efficaces vis-à-vis des souches testées.

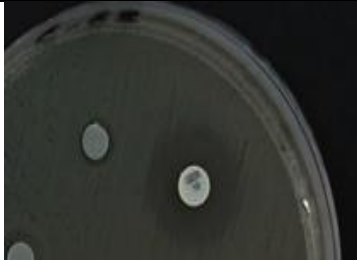
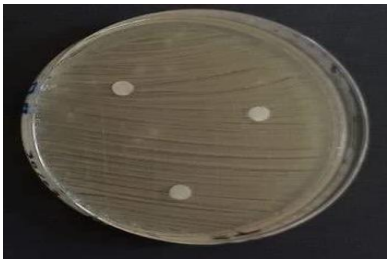
**Tableau 13 :** Les Zones d'inhibitions des disques d'Antibiotique/Antifongique à tester vis-à-vis des différentes souches.

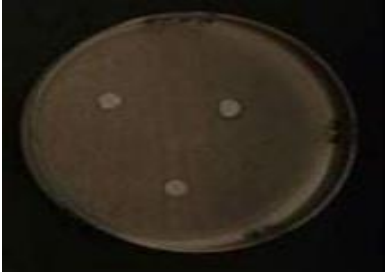


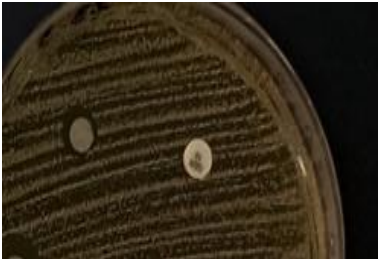
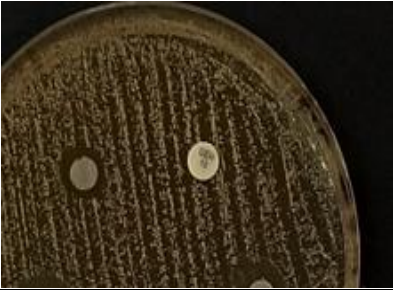
Les souches	Antibiotique/ Antifongique	Les zones d'inhibitions	Diamètre d'inhibition
<i>Escherichia coli</i>	GENTAMICIN (GEN)		23 mm
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	AMIKACIN (AK)		33 mm
<i>Yersinia enterocolitica</i>	DOXYCYCLINE (DXT)		20 mm

<i>Staphylococcus aureus</i>	DOXYCYCLINE (DXT)		30 mm
<i>Candida albicans 10</i>	MYTRICINE (MR)		15 mm
<i>Candida albicans 26</i>	MYTRICINE (MR)		20 mm

Le DMSO il a été utilisé comme témoin dans les tests antibactériens.

**Tableau 14 :** Les zones d'inhibitions autour des disques contenant le DMSO à tester vis-à-vis des différentes souches.

Les souches	Les zones d'inhibitions	Diamètre d'inhibition
<i>Escherichia coli</i>		6 mm
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		5 mm

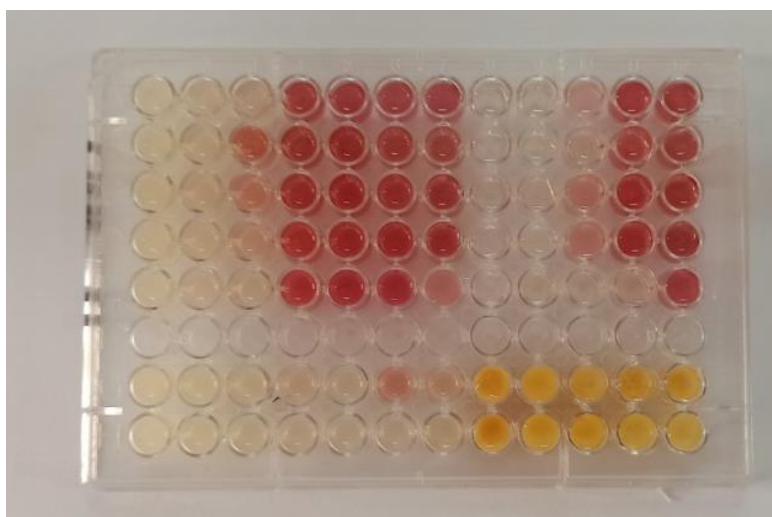
<p><i>Klebsiella pneumoniae</i></p>		<p>5 mm</p>
<p><i>Yersinia enterocolitica</i></p>		<p>5 mm</p>
<p><i>Staphylococcus aureus</i></p>		<p>5 mm</p>
<p><i>Candida albicans 10</i></p>		<p>8 mm</p>
<p><i>Candida albicans 26</i></p>		<p>9 mm</p>

**III .5 Détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI), bactéricides (CMB) et fongicide (CMF) :**

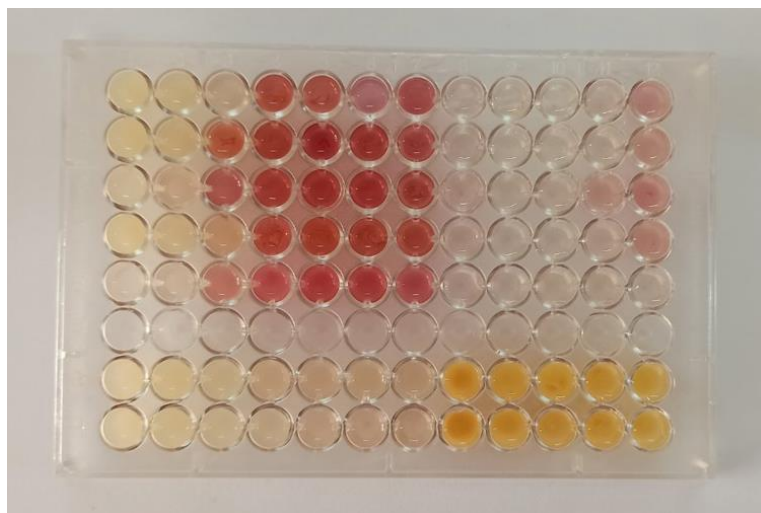
Après la mise en évidence de l'activité antibactérienne de nos extraits par la méthode des disques, nous avons essayé de déterminer les concentrations minimales inhibitrices CMI. Par la suite, après avoir révélé les CMI, nous avons procédé à la détermination des concentrations minimales bactéricides CMB et la détermination des concentrations minimales fongicide CMF.

On détermine la concentration minimale inhibitrice (CMI) des extraits sur une microplaque, à l'aide d'un réactif coloré (INT).

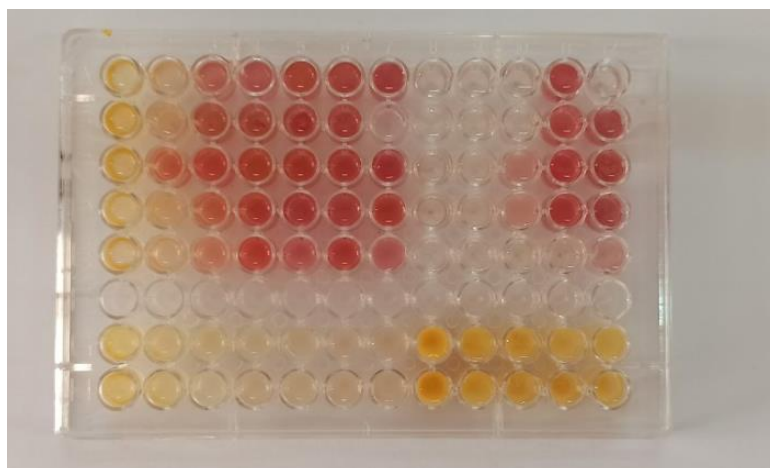
La couleur transparente du INT est transformé dans les puits où les microorganismes sont vivants à une couleur rose/violette (figure 24, 25 et 26). La CMI, pour le test de micro dilutions, est définie comme la concentration d'extrait la plus faible présentant une inhibition de la croissance bactérienne et empêche le réactif de changer la couleur.



**Figure 26 :** Photo de l'activité antimicrobienne d'extrait Racine contre les Gram (+), Gram (-) et levures après l'ajoute du INT dans la microplaque.



**Figure 27** : Photo de l'activité antimicrobienne d'extrait Graine contre les Gram (+), Gram (-) et levures après l'ajoute du INT dans la microplaque.



**Figure 28** : Photo de l'activité antimicrobienne d'extrait Feuille contre les Gram (+), Gram (-) et levures après l'ajoute du INT dans la microplaque.

Les résultats donnant les valeurs de CMI, CMB et CMF en mg/ml de chaque extrait, sont consignés dans le tableau ci-dessous :

**Tableau 15** : Les valeurs de CMI, CMB et CMF en mg/ml de chaque extrait.

<b>Extrait</b>	<i>E.coli</i>		<i>P.aeruginosa</i>		<i>K.pneumoniae</i>		<i>S.aureus</i>		<i>Y.enterocolitica</i>		<b>C10</b>		<b>C26</b>	
	CMI mg/ml	CMB mg/ml	CMI mg/ml	CMB mg/ml	CMI mg/ml	CMB mg/ml	CMI mg/ml	CMB mg/ml	CMI mg/ml	CMB mg/ml	CMI mg/ml	CMF mg/ml	CMI mg/ml	CMF mg/ml
<b>Feuille</b>	8.33	16.66	8.33	>16.66	8.33	>16.66	8.33	>16.66	8.33	>16.66	0.52	8.33	0.52	2.08
<b>Racine</b>	2.08	8.33	4.16	>8.33	2.08	>8.33	4.16	8.33	4.16	>8.33	0.26	8.33	0.26	>8.33
<b>Graine</b>	3.75	>15	7.5	>15	7.5	>15	7.5	15	7.5	>15	1.87	7.5	1.87	7.5

Résultats du tableau 14 nous permet de déterminer les différents paramètres antimicrobiens à savoir la concentration minimale inhibitrice (CMI), la concentration minimale bactéricide (CMB) et la concentration minimale fongicide (CMF) :

❖ Les valeurs de CMI révélées par les différentes souches à l'extrait feuille sont dans l'ordre suivant :

- *Candida albicans* 10 et 26 de 0.52mg/ml.
- Les souches de Gram (+) et de Gram (-) de 8.33mg/ml.

- Tandis que la CMB d'extrait feuille des bactéries à Gram (+) et à Gram (-) est >16.66mg/ml sauf *E. coli* égale 16.66 mg/ml. La CMF des *Candida albicans* 10 et 26 sont (8.33 et 2.08mg/ml respectivement).

❖ Concernant l'extrait racine nous avons remarqué que la valeur de la CMI de *C. albicans* est de 0.26mg/ml, ainsi que les CMI des souches *E.coli* ; *K.pneumoniae* et de *S.aureus* ; *Y.enterocolitica* et *P.aeruginosa* sont respectivement (2.08mg/ml) et (4.16mg/ml).

-La CMB de *E. coli* ; *S.aureus* est égale à ( 8.33 mg/ml) par contre la CMB de *Y.enterocolitica* ; *P.aeruginosa* et *K.pneumoniae* est supérieur à 8.33mg/ml.

-La CMF de *Candida albicans* 10 est 8.33mg/ml et le *C.albicans* 26 >8.33mg/ml.

❖ L'extrait Graine a montré que la CMI des souches à Gram (+) et à Gram (-) est de (7.5mg/ml), à l'exception la CMI de *E. coli* est de (3.75 mg/ml), les souches *Candida albicans* 10 et 26 ont la même concentration (1.87mg/ml)

La CMB des Gram (-) est supérieur à (15 mg/ml) et des Gram (+) est égale à (15mg/ml). La CMF des souches *Candida albicans* 10 et 26 est de valeur de (1.87mg/ml).

L'ensemble des résultats révèle que :

- Les résultats montrent que les CMI, CMB et CMF varient d'un extrait à l'autre.
  - Les meilleures CMI ont été observées avec les *Candida albicans* dans tous les extraits.
-

*Conclusion*

La présente étude porte sur l'étude de l'activité antimicrobienne des insaponifiables de l'espèce *Thapsia garganica* qui appartient à la famille des Apiacées, une des familles les plus importantes dans la flore Algérienne.

Nous sommes intéressés à l'évaluation, pour la première fois, de l'activité antimicrobienne des insaponifiables des feuilles, des racines et des graines de cette espèce vis-à-vis sept souches pathogènes, il s'agit des souches à Gram positif (*Staphylococcus aureus*), et quatre souches à Gram négatif (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Yersinia enterocolitica*) et deux souches de (*Candida albicans*).

Les résultats du pouvoir antimicrobien, des extraits étudiés, évalué par la méthode de diffusion des disques montre que la sensibilité est différente selon la souches et l'extrait. Ainsi l'effet antibactérien montre que la plupart des souches bactériennes testées (Gram + et Gram -) était plus sensibles aux insaponifiables des graines par rapport à celles des feuilles et racines. Tandis que les souches fongiques sont tous sensibles aux extraits étudiés (Racine, feuille et Graine).

L'évaluation quantitative de l'activité antimicrobienne par la détermination des CMI, CMB et CMF montrent que les *Candida albicans* (10,26) sont les souches les plus sensibles vis-à-vis tous les insaponifiables de *Thapsia garganica* L, avec des CMI allant de 0.2 à 1.8 mg/ml. En comparant les CMI et CMB des trois extraits, nous remarquons une différence entre les concentrations des bactéries Gram positive et Gram négative.

L'ensemble de ces résultats obtenus *in vitro* ne constitue qu'un premier pas dans la recherche des substances d'origine naturelle biologiquement active, des études supplémentaires *in vivo* seront nécessaires, après l'isolement et l'identification des différentes molécules, dans les insaponifiables de cette plante, responsables de cette activité antimicrobienne.

*Références*

*bibliographique*

## A

**Adjiba, N., et Ain, N. (2021).** Contribution à l'étude les propriétés phytochimiques, et les activités biologiques d'une plante médicinale (*Ocimum basilicum* L.).

**Ahon, M. G. (2014).** Évaluation et essai d'optimisation de l'activité antifongique des extraits de *Termanalia superba* sur la croissance in vitro de *Aspergillus fumigatus*, *Candida albicans* et *Cryptococcus neoformans*. Université Félix Houphouët-Boigny Abidjan (Côte d'Ivoire).

**Akrayi, H. F., et Tawfeeq, J. D. J. M. J. o. I. W. A. o. S. (2012).** Antibacterial activity of *Lepidium sativum* and *Allium porrum* extracts and juices against some gram positive and gram-negative bacteria. *20*(1), 10-16.

**Andersen, T. B., López, C. Q., Manczak, T., Martinez, K., & Simonsen, H. T. J. M. (2015).** Thapsigargin—from *Thapsia* L. to mipsagargin. *20*(4), 6113-6127.

**Antille, C. (2007).** *Rétinoïdes et caroténoïdes : métabolisme dans la peau humaine après application topique et rôle dans la photoprotection*. University of Geneva,

**Aouadhi, C., Ghazghazi, H., Hasnaoui, B., et Maaroufi, A. (2013).** Comparaison de l'activité antifongique d'extraits méthanoliques de trois plantes collectées du nord-ouest de la Tunisie. *Microbiol. Hyg. Alim*, *25*(73), 9-14.

**Aqil, F., Ahmad, I. J. W. j. o. m., et biotechnology. (2003).** Broad-spectrum antibacterial and antifungal properties of certain traditionally used Indian medicinal plants. *19*(6), 653-657.

**Ashour, M., Wink, M., & Gershenzon, J. (2010).** Biochemistry of terpenoids: monoterpenes, sesquiterpenes and diterpenes. *Annual plant reviews volume 40: biochemistry of plant secondary metabolism*, 258-303.

## B

**Bacchetta, J., Ranchin, B., Dubourg, L., et Cochat, P. J. A. d. p. (2010).** Vitamine D : un acteur majeur en santé ? *17*(12), 1687-1695.

**Balière, C. (2016).** Les *Escherichia coli* potentiellement pathogènes dans l'environnement littoral : cas des STEC et des EPEC. Université de Bretagne Occidentale.

**Bammi, J., & Douira, A. (2002).** Les plantes médicinales dans la forêt de l'achach (plateau central, Maroc).

**Benkaddour, M. (2019).** Optimisation des conditions d'extraction des composés phénoliques chez *Thapsia garganica* L.

**Berri, Y. (2011).** Etude des activités inflammatoire, analgésique, toxiques et antioxydants des extraits de *Thapsia garganica* ». Université de Béjaia-Abderrahmane Mira,

**Bibet, A., Naili, F., et Mayache, B. E. (2008).** Le métabolisme primaire et secondaire des angiospermes. Université de jijel,

**Boudjouref, M. (2018).** Etude de l'activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits d'*Artemisia campestris* L.

**Bradai, B. M. J. و م. ا. ل. و (2014).** Diversité et utilisation des plantes spontanées du Sahara septentrional algérien dans la pharmacopée saharienne. Cas de la région du Souf. 7(2).

**Brama, S. O. (1972).** Activité antibactérienne d'extraits d'*Euphorbia hirta* (Linn), une plante utilisée traditionnellement dans le traitement des infections urinaires. UNIVERSITE DE OUAGADOUGOU.

## C

**Casiglia, S., Riccobono, L., Bruno, M., Rosselli, S., Senatore, F., et Senatore, F. J. N. p. r. (2016).** Chemical composition of the essential oil from *Thapsia garganica* L. (Apiaceae) grown wild in Sicily and its antimicrobial activity. 30(9), 1042-1052.

**Choubert, G. (1979).** Les pigments caroténoïdes : nature, origine et importance métabolique. I. Caroténoïdes et pigmentation. Paper presented at the Actes du Colloque CNERNA.

## D

**Daoudi, A. bammou. M. jamal, L., et Laila, N. (2017).** Activité antifongique des extraits aqueux de *Calendula officinalis* L, *Urginea maritima* (L.) Baker et *Chenopodium ambrosioides* L. *European Scientific Journal*, 13(24), 483-497.

**Diallo, A. J. P. o. t. U. B., Mali. (2005).** Etude de la phytochimie et des activités biologiques de *Syzygium guineense* Wild. (Myrtaceae). 38-47.

**Djarri, L. (2011).** Contribution à l'étude des huiles essentielles et des métabolites secondaires de trois plantes Algériennes de la famille des Apiaceae.

## **E**

**El Amri, J., Elbadaoui, K., Zair, T., Bouharb, H., Chakir, S., & Alaoui, T. J. J. o. A. B. (2014).** Étude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de *Teucrium capitatum* L et l'extrait de *Silène vulgaris* sur différentes souches testées. 82, 7481-7492.

**El Houiti, F. (2009-2010).** Composition chimique, activités antimicrobienne et antioxydante des huiles essentielles de *Rhanterium adpressum*. (MAGISTER), AMAR TELIDJI\_LAGHOUAT.

## **F**

**Filliat, P. J. F. d. P. d. G., 129p. (2012).** Les plantes de la famille des Apiacées dans les troubles digestifs.

## **G**

**Guehiliz, N. (2016).** Contribution à l'étude des plantes spontanées dans l'Oued de Biskra. Université Mohamed Khider-Biskra,

## **H**

**Hall, B. (1998).** Second Annual Meeting of Agricultural Scientists.

**Hammiche, V., Merad, R., Azzouz, M., et GOETZ, P. (2013).** Plantes toxiques à usage médicinal du pourtour méditerranéen : Springer Paris.

## **I**

**Inas, C., et Hayat, G. A. (2020).** Etude rétrospective sur les activités biologiques de quelques souches d'actinobactéries isolées du sol saharien de la région de Ouargla., UNIVERSITE KASDI MERBAH OUARGLA,

**Iserin, P. (2001).** Encyclopédie des plantes médicinales (identification, préparations, soins) : LAROUSSE.

## K

**Kada, S. (2018).** Recherche d'extraits de plantes médicinales doués d'activités biologiques.

**Kakou, B. A., Benie, A., N'guessan, A. H., Fernique, K. K., Guessennd, N., et Bekro, Y.-A. (2020).** Analyse phytochimique, activité antibactérienne des extraits hydrométhanoliques des tiges de *Ximenia americana*, espèce de Côte d'Ivoire sur *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline. *Int. J. Biol. Chem. Sci*, 14(9), 3429-3440.

**Karabay-Yavasoglu, N. U., Sukatar, A., Ozdemir, G., et Horzum, Z. (2007).** Antimicrobial activity of volatile components and various extracts of the red alga *Jania rubens*. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 21(2), 153-156.

**Kazi-Aoul. (1989).** COURS DE BIOCHIMIE Etude des lipides et des lipoprotéines (institue de pharmacie ALGER ed.).

**Koudou, P. J. (2009).** Etude phytochimique, activités antimicrobiennes et antioxydantes de quelques plantes aromatiques et médicinales africaines. Etude phytochimique, activités antimicrobiennes et antioxydantes de quelques plantes aromatiques et médicinales africaines.

## L

**La, M. J.-., Loukou, Y., et Guede-guina, F. (2008).** Étude de l'activité antibactérienne de l'extrait acétatique (EAC) de *Morinda morindoides* (Baker) milne-redheat (rubiaceae) sur la croissance in-vitro des souches d'*Escherichia colis* Study of the antibacterial activity of *Morinda morindoides* (Baker) milne-redheat (rubiaceae) acetatique extract (ACE) on in-vitro growth of *Escherichia coli* strains. *Bulletin de la société royale des sciences de Liège*.

**Laifaouim, A., & Aissaoui, M. J. U. d. B.-A. (2019).** Etude ethnobotanique des plantes médicinales dans la région sud de la wilaya de Bouira (Sour Elghozlane et Bordj Oukhriss).

## M

**Magras, C., Vallée, T., Leclercq, A., et Fosse, J. (2008).** Détection de *Yersinia enterocolitica* sur carcasses de porc : premiers résultats. *Journées Rech. Porcine*, 40, 79-80.

**Makunga, N., Jäger, A., et Van Staden, J. J. P. C. R. (2003).** Micropropagation of *Thapsia garganica*—a medicinal plant. 21(10), 967-973.

**Malbos, D., Buxeraud, J., Faure, S., et Desport, J.-C. J. A. P. (2021).** La vitamine A. 60(608), 23-26.

**Marouf, A., et Tremblin, G. (2015).** *Abrégé de biochimie appliquée* : EDP sciences.

**Mohamed, A. A., Khalil, A. A., et El-Beltagi, H. E. J. G. y. a. (2010).** Antioxidant and antimicrobial properties of kaff maryam (*Anastatica hierochuntica*) and doum palm (*Hyphaene thebaica*). 61(1), 67-75.

**Mouffouk, C. (2019).** Evaluation des activités biologiques et étude de la composition chimique de la plante *Scabiosa stellata* L. Université de Batna 2.

## N

**Nebeg, H (2019).** Contribution à l'étude des fractions polaire et apolaire de *Thapsia garganica* L. (Doctorat), Université Kasdi Merbah Ouargla

**Ngo, T. D. (2019).** Définition de cibles potentielles dans le SST3 de *Pseudomonas aeruginosa* pour une nouvelle stratégie anti-infectieuse. Université Grenoble Alpes (ComUE),

**Nicol, M., et Maudet, M. J. O., Corps gras, Lipides. (2000).** Caroténoïdes et vitamine A. Actualités. 7(3), 266-270.

## O

**Ouraïni, D., Agoumi, A., Ismaili-Alaoui, M., Alaoui, K., Cherrah, Y., Alaoui, M., et Belabbas, M. (2007).** Activité antifongique de l'acide oléique et des huiles essentielles de *Thymus saturejoides* L. et de *Mentha pulegium* L., comparée aux antifongiques dans les dermatoses mycosiques. *Phytothérapie*, 5(1), 6-14.

## R

**Rahal, K. (1999).** Standardisation de l'antibiogramme à l'échelle nationale selon les recommandations de l'OMS. *INSP Algérie*.

**Randrianarivelo, R. (2010).** Etude de l'activité antimicrobienne d'une plante endémique de Madagascar *Cinnamosma fragrans*, alternative aux antibiotiques en crevetticulture. Université d'Antananarivo,

**Reboul, E. J. O., Corps gras, Lipides. (2011).** Absorption intestinale des vitamines liposolubles. *18(2)*, 53-58.

**Riah Samia., et Senouci Imane (2017).** Evaluation de l'activité antifongique de l'extrait de *Thapsia garganica* de la région d'el hamadia Willaya de Bordj Bou Arreridj.

**Rodriguez-Amaya, D. B. (1999).** Carotenoides y preparación de alimentos : La retención de los Carotenoides Provitamina A en alimentos preparados, procesados y almacenados.

**Royer, M. (2013).** Étude des relations entre croissance, concentrations en métabolites primaires et secondaires et disponibilité en ressources chez la tomate avec ou sans bioagresseurs. Université de Lorraine.

## S

**Sait Lynda et Smaoun Nassima. (2013).** Activité antibactérienne des extraits de *Thapsia garganica* L. (Master), Université Abderahmane Mira de Bejaia,

**Sanchez, A., Flores-Cotera, L. B., Langley, E., Martin, R., Maldonado, G., et Sanchez, S. J. R. L. D. M.-M.-. (1999).** Carotenoides : estructura, función, biosíntesis, regulación y aplicaciones. *41(3)*, 175-192.

**Sanogo, R. (2006).** Le rôle de plants médicinales en médecine traditionnelle.

**Sekhri-Arafa, N. (2011).** Fréquence et marqueurs épidémiologiques de *Klebsiella pneumoniae* dans les services à haut risque infectieux au niveau du CHU Benbadis de Constantine.

**Shahidi Bonjar, G., Aghighi, S., et Karimi Nik, A. J. J. o. B. S. (2004).** Antibacterial and antifungal survey in plants used in indigenous herbal-medicine of south east regions of Iran. *4(3)*, 405-412.

**Soubeiran, E. (1837).** *Nouveau traité de pharmacie théorique et pratique* (Vol. 2) : Société belge de librairie.

**Stambouli, O. B., et Amrani, N. J. R. F. d. A. (2015).** Un angioœdème de topographie bilatérale suite au contact avec une plante (*Thapsia garganica*). 55(3), 235.

## T

**Tehami, W. (2017).** Caractérisation phytochimique et évaluation du potentiel antioxydant, antimicrobien et anti-inflammatoire de *Salvia argentea*.

**Thibodeau, V. r. (2003).** Étude sur la colonisation des tissus de porc par *Yersinia enterocolitica* et mise au point d'une épreuve ELISA pour détecter les porcs porteurs de cette bactérie: National Library of Canada= Bibliothèque nationale du Canada, Ottawa

**Tittikpina, N. K., Agban, A., Gbogbo, K. A., Houkou, Y., Pereki, H., Batawila, K., et Akpagana, K. (2013).** Évaluation des propriétés antimicrobiennes de *Pterocarpus erinaceus*. International Journal of Biological and Chemical Sciences, 7(4), 1586-1594.

## Z

**Zerroug, A. (2021).** Champignons endophytes des plantes médicinales de la région de Sétif : isolement, Identification et activités biologiques.

**ANNEXE**

**Annexe I : Matériel et produits utilisés.**

**Appareillages :**

Autoclave.

Vortex.

Spectrophotomètre.

Four Pasteur.

Bain-marie.

Balance.

Etuve.

Plaque chauffante agitatrice.

Erlenmeyer.

Entonnoir.

Bécher.

Verre de montre + spatule.

**Produits chimiques :**

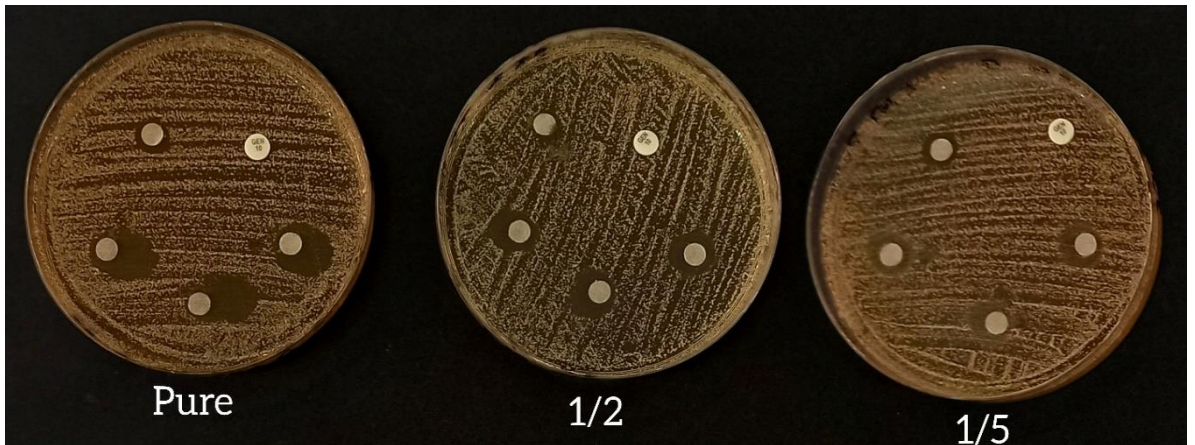
Eau physiologique.

Eau distillée.

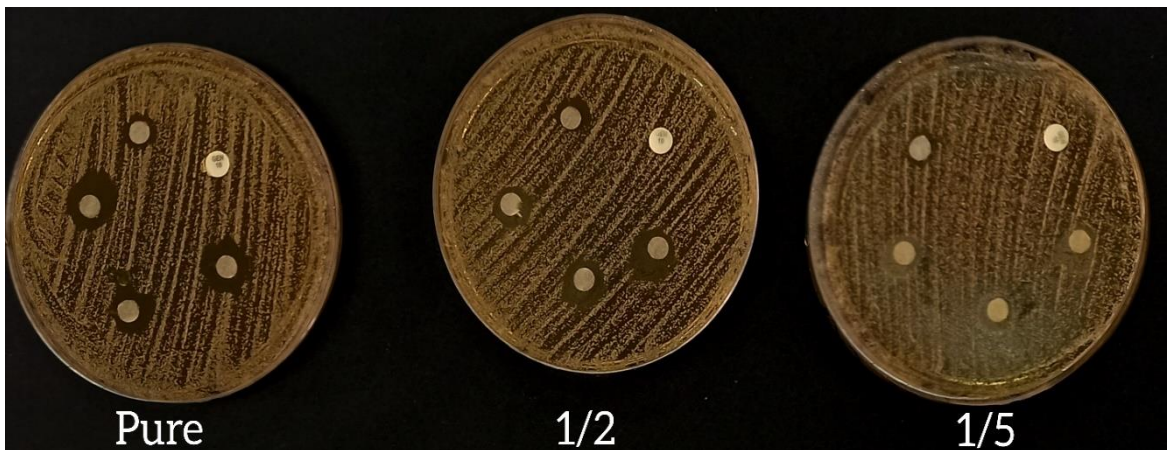
DMSO.

Éthanol.

**Annexe II : Des Photos des boîtes pétris des extraits montrant l'inhibition des différentes souches.**



**Figure1 :** Extrait *Thapsia garganica* « Graine » souche *Candida albicans* 10.



**Figure2 :** Extrait *Thapsia garganica* « Feuille » souche *Candida albicans* 10.



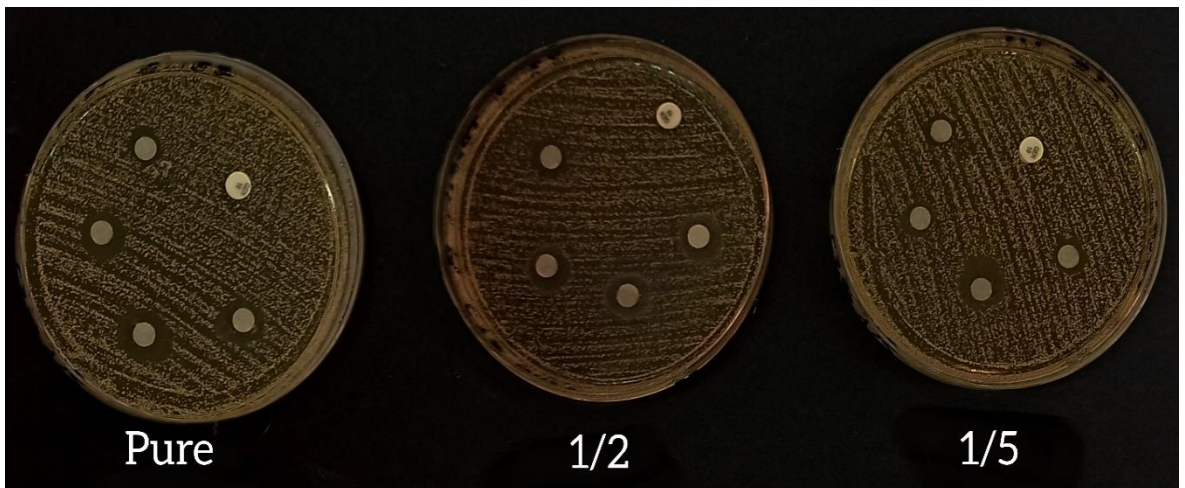
**Figure3 :** Extrait *Thapsia garganica* « Racine » souche *Candida albicans* 10.



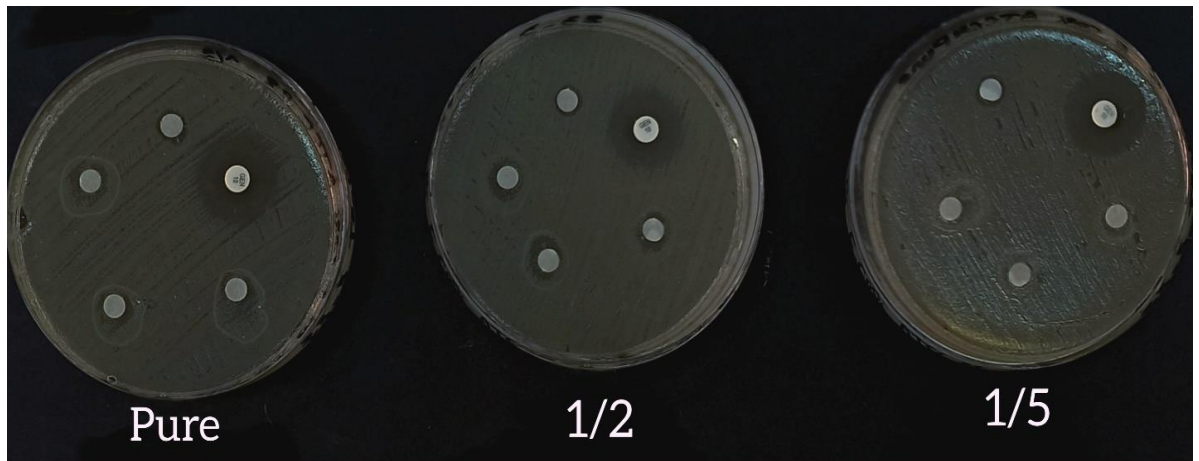
**Figure4 :** Extrait *Thapsia garganica* « Graine » souche *Candida albicans* 26.



**Figure5 :** Extrait *Thapsia garganica* « Feuille » souche *Candida albicans* 26.



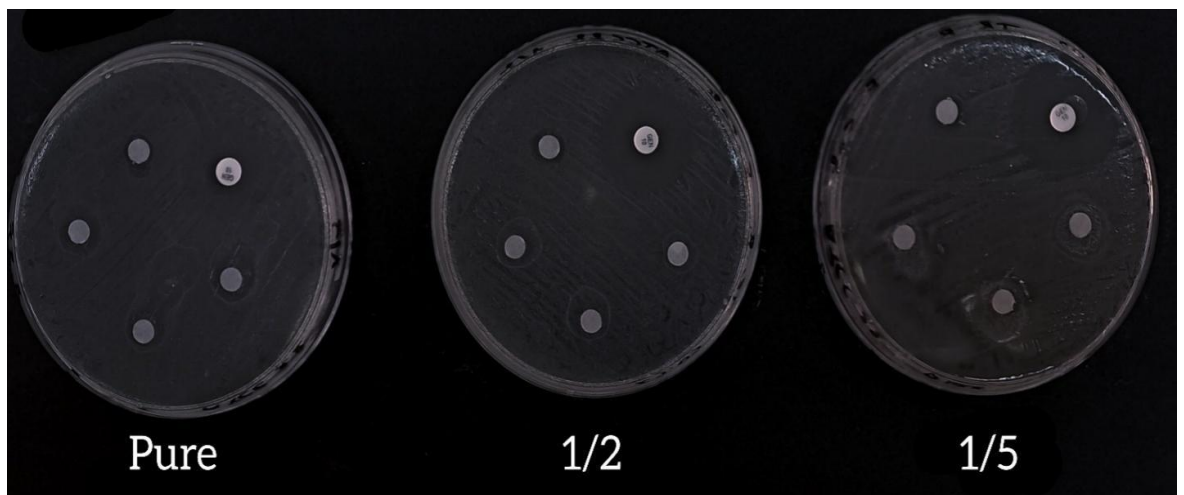
**Figure6 :** Extrait *Thapsia garganica* « Racine » souche *Candida albicans* 26.



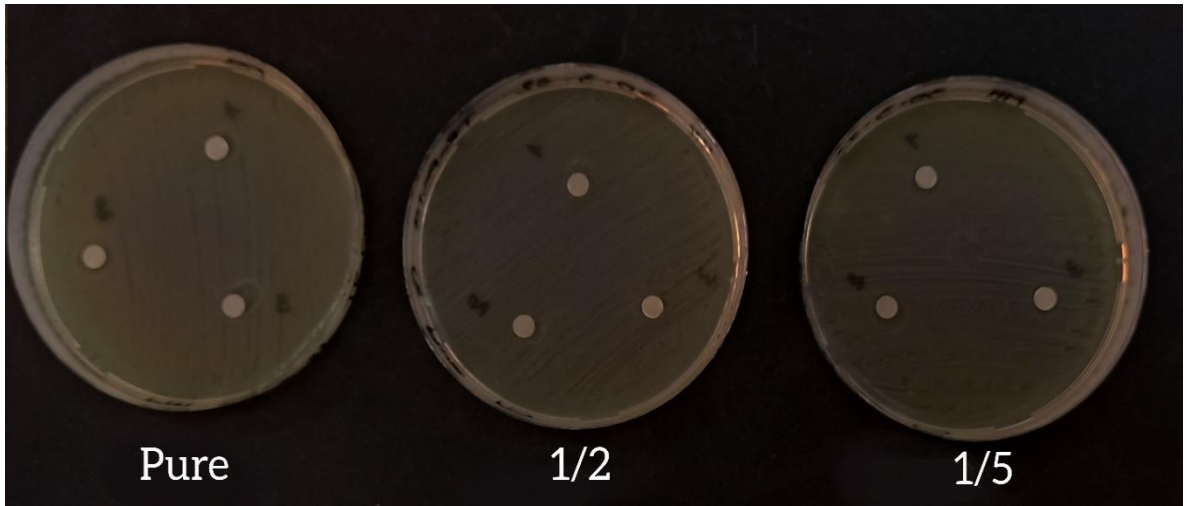
**Figure7** : Extrait *Thapsia garganica* « Graine » souche *Escherichia coli*.



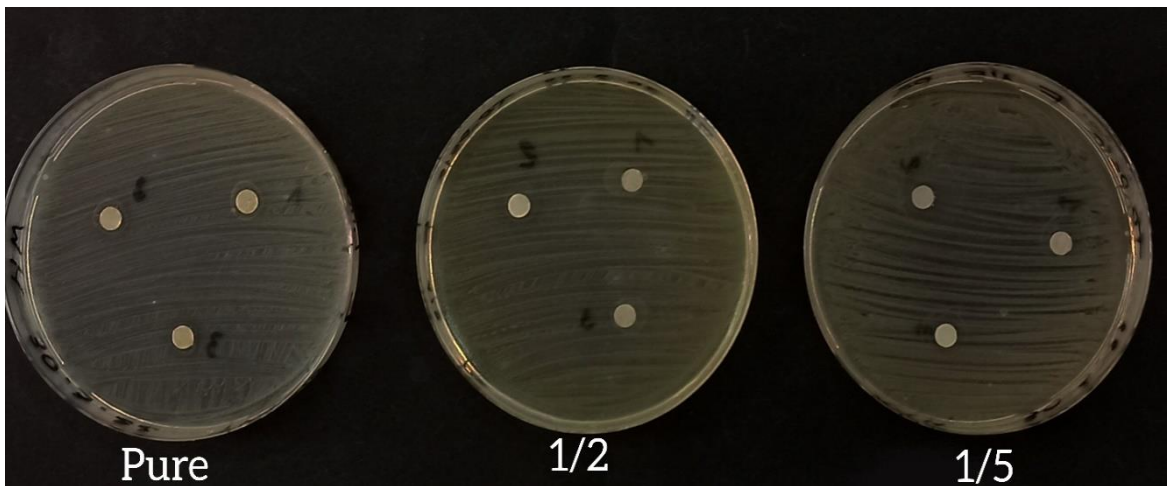
**Figure8** : Extrait *Thapsia garganica* « Feuille » souche *Escherichia coli*.



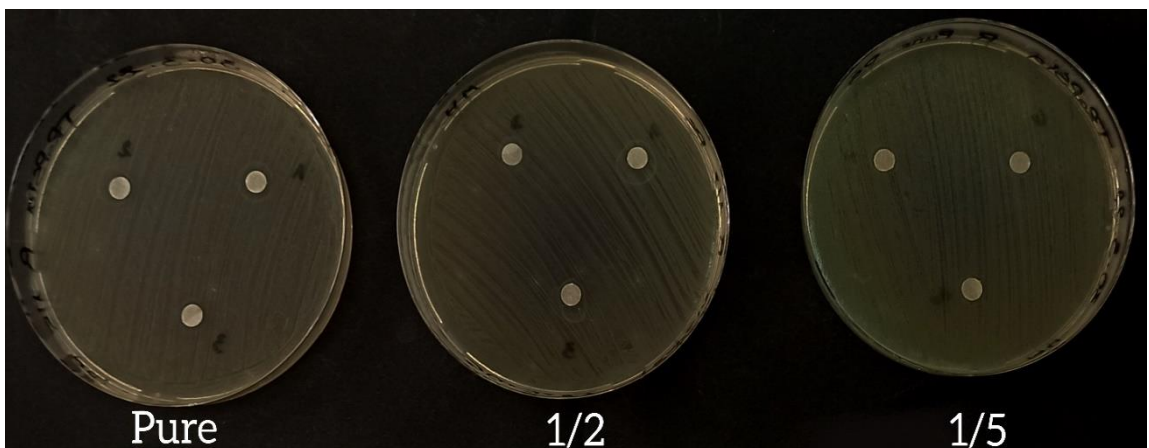
**Figure9** : Extrait *Thapsia garganica* « Racine » souche *Escherichia coli*.



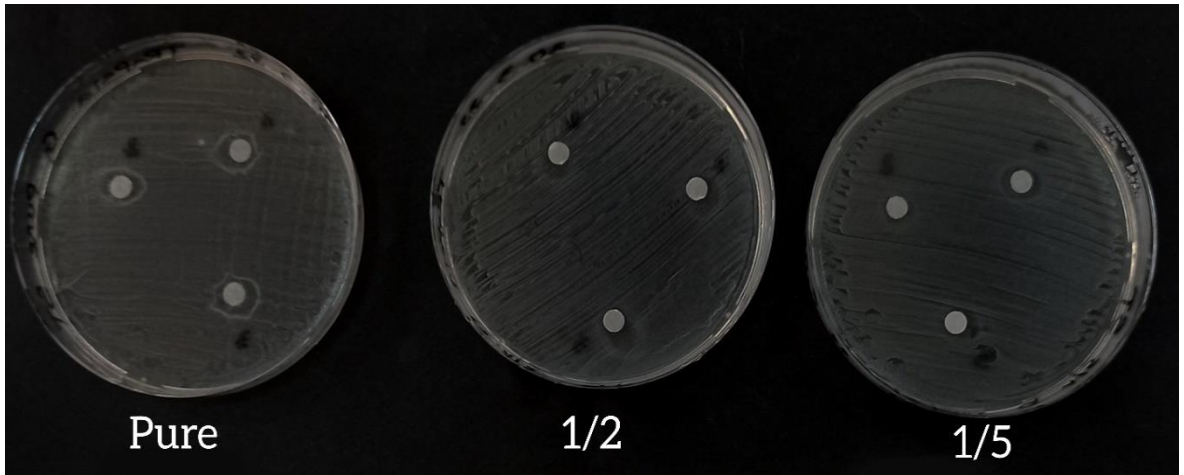
**Figure 10:** Extrait *Thapsia garganica* « Graine » souche *Pseudomonas aeruginosa*.



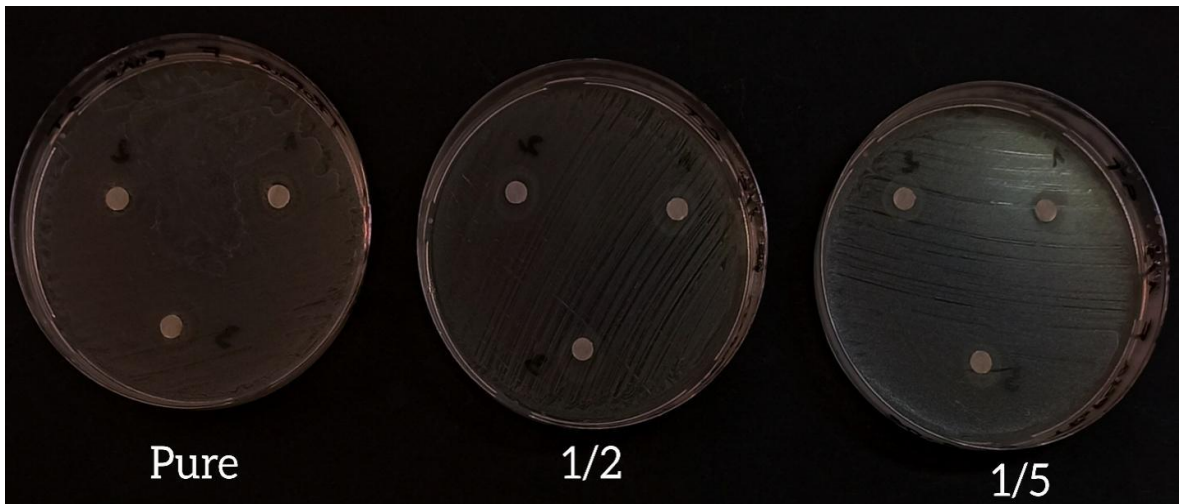
**Figure 11:** Extrait *Thapsia garganica* « Feuille » souche *Pseudomonas aeruginosa*.



**Figure12 :** Extrait *Thapsia garganica* « Racine » souche *Pseudomonas aeruginosa*.



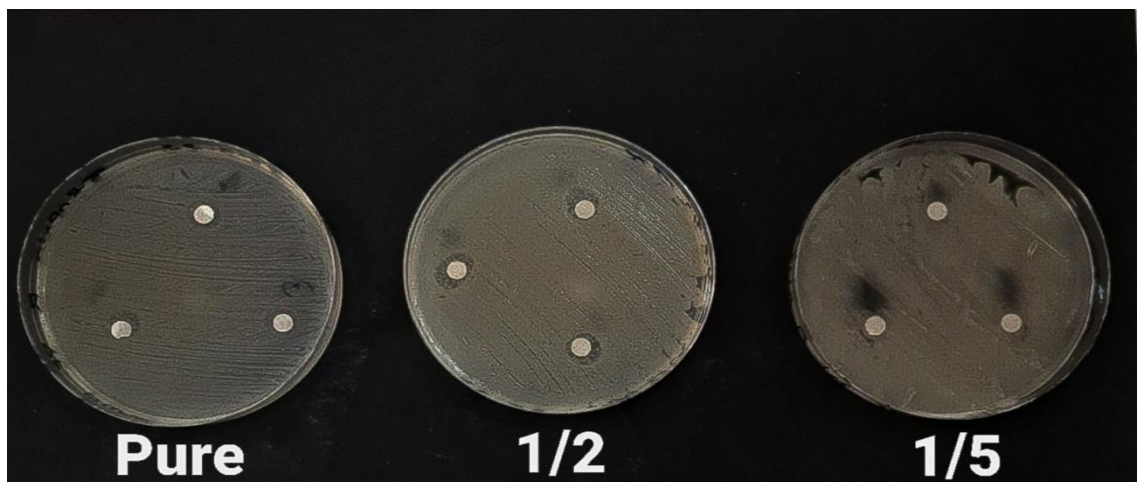
**Figure13** : Extrait *Thapsia garganica* « Graine » souche *Staphylococcus aureus*.



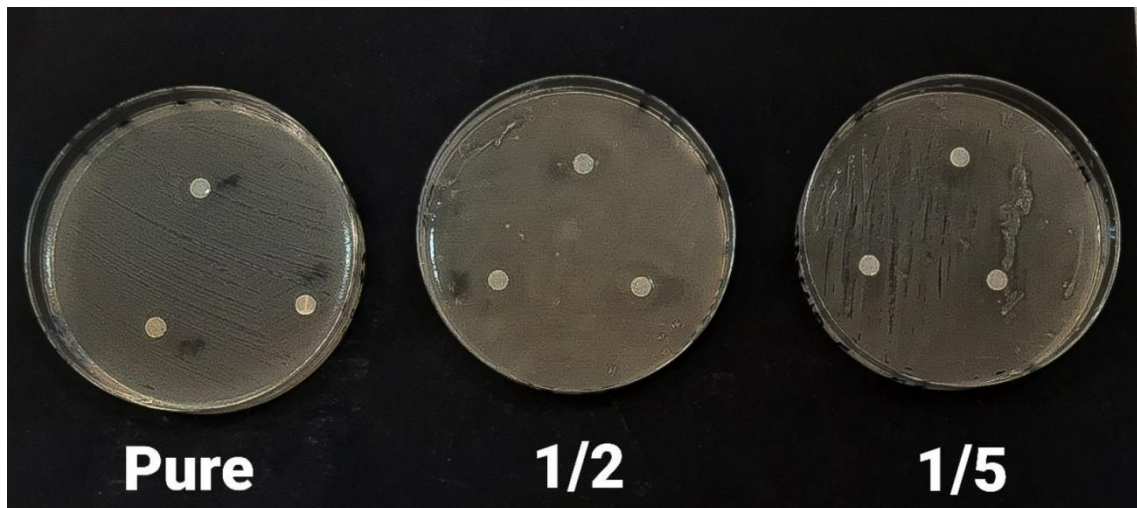
**Figure14** : Extrait *Thapsia garganica* « Feuille » souche *Staphylococcus aureus*.



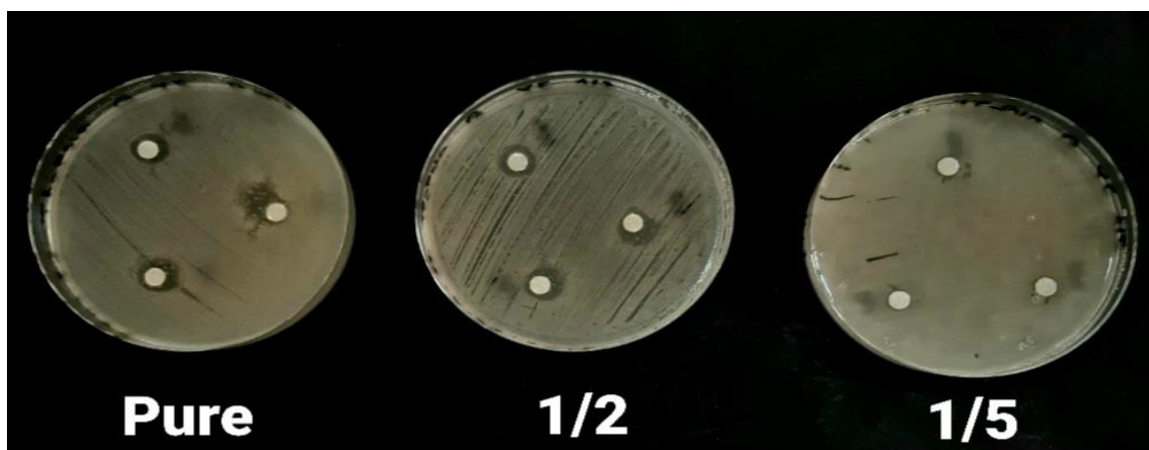
**Figure15** : Extrait *Thapsia garganica* « racine » souche *Staphylococcus aureus*.



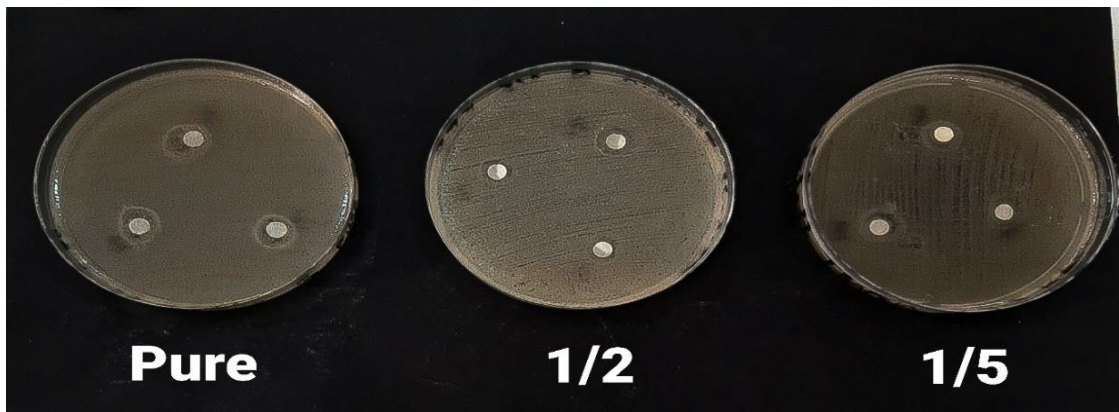
**Figure16** : Extrait *Thapsia garganica* « racine » souche *Yersinia enterocolitica*.



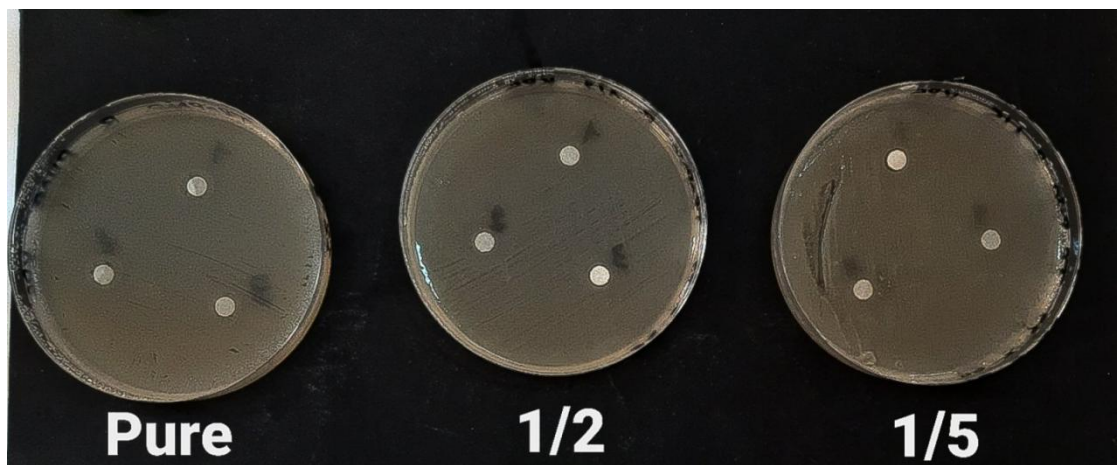
**Figure17** : Extrait *Thapsia garganica* « Feuille » souche *Yersinia enterocolitica*.



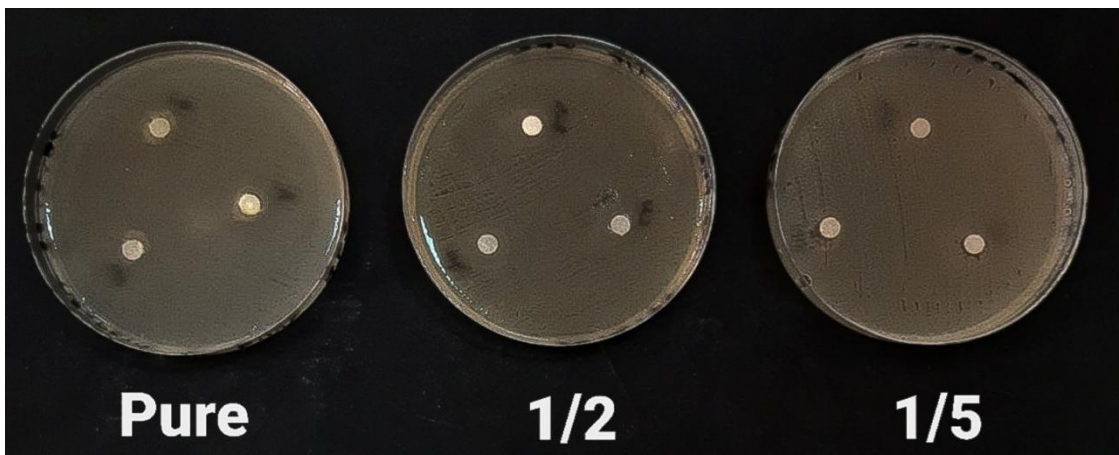
**Figure18** : Extrait *Thapsia garganica* « Graine » souche *Yersinia enterocolitica*.



**Figure19** : Extrait *Thapsia garganica* « Graine » souche *Klebsiella pneumoniae*.



**Figure20** : Extrait *Thapsia garganica* « Racine » souche *Klebsiella pneumoniae*.



**Figure21** : Extrait *Thapsia garganica* « Feuille » souche *Klebsiella pneumoniae*.

**Annexe III : les tableaux de résultats du CMI, CMB et CMF des extraits.**

**Tableau1 :** Concentration minimale inhibitrice et bactéricide d'extrait Graine de *Thapsia garganica* L.

Les dilutions Les souches	15	7.5	3.75	1.87	0.93	0.46
<b>E.coli</b>	CMI	CMI	CMI			
<b>Pseudomonas</b>	CMI	CMI				
<b>Staphylococcus</b>	CMB	CMI				
<b>Yersinia</b>	CMI	CMI				
<b>Klebseilla</b>	CMI	CMI				
<b>C10</b>	CMF	CMF	CMI	CMI		
<b>C26</b>	CMF	CMF	CMI	CMI		

**Tableau2 :** Concentration minimale inhibitrice et bactéricide d'extrait Racine de *Thapsia garganica* L.

Les dilutions Les souches	8.33	4.16	2.08	1.04	0.52	0.26
<b>E.coli</b>	CMB	CMI	CMI			
<b>Pseudomonas</b>	CMI	CMI				
<b>Staphylococcus</b>	CMB	CMI				
<b>Yersinia</b>	CMI	CMI				
<b>Klebseilla</b>	CMI	CMI	CMI			
<b>C10</b>	CMF	CMI	CMI	CMI	CMI	CMI
<b>C26</b>	CMI	CMI	CMI	CMI	CMI	CMI

**Tableau3** : Concentration minimale inhibitrice et bactéricide d'extrait Feuille de *Thapsia garganica* L.

Les dilutions Les souches	16.66	8.33	4.16	2.08	1.04	0.52
<b>E.coli</b>	CMB	CMI				
<b>Pseudomonas</b>	CMI	CMI				
<b>Staphylococcus</b>	CMI	CMI				
<b>Yersinia</b>	CMI	CMI				
<b>Klebseilla</b>	CMI	CMI				
<b>C10</b>	CMF	CMF	CMI	CMI	CMI	CMI
<b>C26</b>	CMF	CMF	CMF	CMF	CMI	CMI