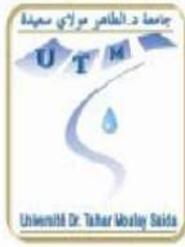
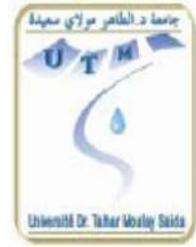


République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique.



UNIVERSITE Dr MOULAY TAHER SAIDA
FACULTE DES SCIENCES ET DE LA TECHNOLOGIE
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



Mémoire
MASTER ACADEMIQUE

Domaine : Science de la Nature et de la Vie
Filière : Biologie
Spécialité : Biotechnologie Végétale

Présente par : Hartani Abdelkrim
Mébarki Moubarek

Thème

**Extraction, et Valorisation
de l'huile essentielle de l'écorce racinaire
du *Thapsia garganica*.**

Soutenu publiquement Le : 09-06-2015
Devant le jury :

Mme Hachem Y.	M .A. A	Présidente	Université De SAIDA
M. Hachem K.	M.C. B	Encadreur	Université De SAIDA
Melle Chikhi A.	M .A. A	Examinatrice	Université De SAIDA
Mme Fares S.	M .A. A	Examinatrice	Université De SAIDA

Promotion 2014-2015

REMERCIEMENTS

AVANT TOUTE CHOSE, NOUS TENONS A REMERCIE DIEU, LE TOUT PUISSANT, POUR NOUS AVOIR DONNÉE LA FORCE ET LA PATIENCE.

NOUS EXPRIMONS D'ABORD NOS PROFONDS REMERCIEMENTS ET NOTRE VIVE CONNAISSANCE À DR. HACHEM K, POUR NOUS AVOIR ENCADRÉ ET DIRIGÉ CE TRAVAIL. SA PATIENCE EXEMPLAIRE ET SON SENS DE COMMUNICATION, SA DISPONIBILITÉ, SES CONSEILS ET LA CONFIANCE QU'IL NOS 'ACCORDÉ, NOUS ONT PERMET DE RÉALISER CE TRAVAIL.

NOUS TENONS A DIRE UN GRANDES MERCI A MME HACHEM . Y, D'AVOIR ACCEPTÉ DE PRÉSIDER LE JURY, ET POUR SON AIDE CES IDÉES, ET POUR NOUS 'AVOIR PERMIS DE DÉVELOPPER NOS CONNAISSANCES.

NOUS ADRESSONS ENCORE NOS REMERCIEMENTS AUX MEMBRES DES JURYS QUI ON BIEN VOULU EXAMINER CE MANUSCRIT ET JUGER CE TRAVAIL.

ÉGALEMENT À M ELLE CHIKHI, AMIRA, AUSSI À MME FARES.S, NOUS AVONS GRANDEMENT APPRÉCIÉ SES QUALITÉS HUMAINES ET BÉNÉFICIÉ DE SA CONNAISSANCE. ET TOUS LES ENSEIGNANTS QUI ON ATTRIBUÉ À NOTRE FORMATION, ET À TOUS CEUX QUI ONT CONTRIBUÉ À LA RÉALISATION DE CE TRAVAIL, ET QUI NOUS 'ONT TÉMOIGNÉ LEUR INTÉRÊT ET LEUR SOUTIEN.

Dédicace

NOUS DÉDIONS SE TRAVAILLE

- **A NOS PARENTS** *EN TÉMOIGNAGE DE NOS RECONNAISSANCES POUR LEUR PATIENCE, LEURS SACRIFICES ET LEUR SOUTIEN TOUT AU LONG DE NOS ÉTUDES.*
- **A TOUTE LA FAMILLE HARTANI ET MÉBARKI**
- **A NOS COLLÈGES DE PROMOTION**
- **ET A TOUT NOS AMIS**

SOMMAIRE

Introduction	1
I- Etude de <i>Thapcia garganica</i>	4
1 historique	4
2-Position systématique	5
3-Caractéristique botanique	5
4- répartition géographique	6
5-Usages de <i>Thapsia garganiga</i>	6
5-1-Usages traditionnels	6
5-2-Usages agricoles	7
5-3-Utilisations médicinales	8
5-3-1- Utilisations pharmacologique	8
5-3-2 Utilisations thérapeutiques	8
6-Propriétés d'huile essentiel de <i>Thapcia garganica</i>	9
7-Toxicité	10
7-1-Parties et principes toxiques	10
7-2-Circonstances de l'intoxication	10
7-3-Symptomatologie	10
7-4-Traitement	11
II Les huiles essentielles	13
1-Aperçu Historique	13
2-Définitions	13
3-Localisation des huiles essentielles	14
4-Rôle dans la plante	15
5-Composition chimique	16
6-Notion de chémotype	17
7-Biosynthèse des huiles essentielles	17
7-1-Voie des terpenoides	17
7-2-Voie des phenylpropanoides	17
8-Méthodes d'extraction.....	19
8-1. Distillation.....	19
8-2.Extraction par percolation (soxhlet)	21
8-3.Extraction à froid (Expression)	21
8-4.Extraction assistée par micro-ondes.....	21
8-5. Extraction par les solvants et les graisses.....	22
8-6.Extraction par fluides supercritique	22

8-7. Enflourage et macération.....	23
9-Propriétés pharmacologiques des huiles essentielles	23
9-1.Pouvoir antiseptique.....	24
9-2.Propriétés spasmolytiques et sédatives	25
10-Toxicité des huiles essentielles.....	26
10-1.Toxicité aigue	26
10-2.Toxicité dermique	27
11-Domaine d'application des huiles essentielles	27
a)En pharmacie.....	27
b) En parfumerie.....	28
c) Dans les industries agroalimentaires	28
12-Facteurs de variabilités des huiles essentielles.....	29
a) Influence du cycle végétatif.....	29
b) Influence des facteurs extrinsèques	29
c) Influence du procédé d'extraction	30
13-Méthodes d'identification des huiles essentielles	31
13-1. La chromatographie en phase gazeuse (CPG).....	31
13-2. La spectrométrie de masse (SM).....	34
13-3.Couplage CPG/SM (GC-MS)	32
Matériel et méthode	36
1-Matériel	36
1-1- Matérielles et produits de laboratoire	36
1-2-Matériel végétale	36
a)-Choix de la plantes	36
b)-La récolte de plante	36
1-3-Matériel biologique	39
a). Bactéries à Gram positif	39
b). Bactéries à Gram négatif	39
c).Souche fongique	40
1-4- Les animaux de laboratoire.....	40
2-Méthode	40
2-1- Extraction des huiles essentielles de <i>Thapsia garganica</i> :.....	40
a) L'hydro distillation	40
b) Le relargage	41
c) L'extraction liquide-liquide	41
d) Purification et concentration.....	42

e) Conservation des huiles essentielles obtenue	42
2-2- Détermination du rendement en huile essentiel	42
2-3- Tests microbiologiques	43
2-3-1- Conservation des souches	43
2-3-2- Préparation de l'inoculum	43
2-3-3- Etude de l'activité antibactérienne	43
2-4- Teste de toxicité	45
2-4-1-L'élevages des rats	46
2-4-2-Répartition des lots des rats.....	46
2-4-3-Prélèvement sanguin.....	47
2-4-4-Analyse biochimique.....	48
Résultats et discussion	52
1- Extraction de l'huile essentielle	52
a) Caractères organoleptiques.....	52
b) Calcul de rendement	52
2- Activité antimicrobienne des huiles essentielles	53
3-Test de la toxicité	58
a) Les paramètres hépatiques	59
b) Les paramètres rénal	60
c) Les paramètres lipidiques	61
d) Les paramètres de glycémie	63
Conclusion :	66

Références Bibliographiques

Annexe

LISTE DES FIGURES

Figures	<u>Contenu</u>	Page
Figure01	la partie aérienne de la plante <i>Thapcia garganica</i>	04
Figure02	grains, inflorescence, feuilles et racines de la plante <i>Thapcia garganica</i>	06
Figure03	Molécule de Thapsigargine	09
Figure04	schéma représente les vois principales de la synthèse de terpène	18
Figure05	localisation des voies de la synthèse dans la cellule	19
Figure06	Principe de la technique d'hydro distillation	20
Figure07	Principe de la technique de l'entraînement à vapeur	20
Figure08	Procédé d'extraction des huiles essentielles par micro-ondes	22
Figure09	Principe de la technique d'extraction par le CO2 supercritique	23
Figure10	Exemple d'enfleurage artisanal	23
Figure11	Principe de la chromatographie en phase gazeuse	32
Figure12	Principe de la spectrométrie de masse	33
Figure13	Schéma d'un couplage CPG/SM	34
Figure14	la récolte des racines de <i>Thapsia garganica</i>	37
Figure15	Présentation de la zone de prélèvement de <i>Thapsia garganica</i>	38
Figure16	Montage de l'Hydrodistillateur. (clevenger)	41
Figure17	ampoule à décanter	42
Figure18	Schéma simplifie le principe de la méthode de l'aromatogramme	44
Figure19	schéma représente la méthode d'écouvillonnage	44
Figure20	rat WISTAR	46
Figure21	Répartitions Des Rats	47
Figure22	huile essentielle du <i>Thapsia Garganica</i> obtenues par hydrodistillation	52
Figure23	histogramme des diamètres des zones d'inhibitions	55
Figure24	taux de quelques enzymes hépatique (TGO, TGP) chez le rat témoin et les rats testées	59
Figure25	Taux des paramètres rénal (créa, urée) sur le rat témoin et les rats testée	61
Figure26	taux de quelques paramètres lipidiques (triglycéride, cholestérol) chez le rat témoin et les rats testés	62
Figure27	taux de glycémie chez le rat témoin et les rats testés	63

LISTE DES TABLEUX

Tableaux	<u>Contenu</u>	Page
Tableau01	Masse De L'exportation En Kg Entre 1876 Et 1885.	08
Tableau02	Les Parties De Certaines Plantes Riches En Huiles Essentielles	15
Tableau03	Dose Létale De Quelques Huiles Essentielles	27
Tableau04	Les Matériels Et Les Produits Utilisés Dans Laboratoire	36
Tableau05	Origine Et Caractéristique Du Matériel Végétal	37
Tableau06	Les Concentrations Préparées	45
Tableau07	Répartition Des Lots Des Rats Témoins Expérimentaux	47
Tableau08	Caractères Organoleptiques De L'huile Essentielle Obtenue.	52
Tableau09	Résultats Des Testes Antibactériennes.	53
Tableau10	Exemple De L'activité Antimicrobienne De L'HE De Quelques Plantes Médicinales Selon Des Travaux Antérieurs	56
Tableau11	Paramètres Biochimiques Des Testes De La Toxicité	58

LISTE DES ABBREVIATIONS

µl/ml : microlitre/millilitre

4-AP : 4 aminophénazone

ADP : adénosine-5-diphosphate

AFNOR : association française de normalisation

ALAT : alanine aminotransférase

ASAT : aspartate aminotransférase

ATCC : American Type Culture Collection

ATP : adénosine triphosphate

BS : bouillon saboraud

C° : degré Celsius

CAP : centre Algerian de prévention

CMI : concentration minimal d'inhibition

CPG : chromatographie phase gazeuse

CRAPC : centre de recherche scientifique et technique en analyses physico-chimiques, Alger, Algérie.

DAP : dihydroxyacétone phosphate

DL₅₀ : dose létale médiane

G3P: glycérol-3-phosphate

G3P: Le glycérol-3-phosphate

GC/MS: gas chromatography /mass spectrometry

GN : gélose nutritif

GPO : le glycérol phosphate déshydrogénase

GRAM- : résultat négative de technique de coloration appelée coloration de Gram

GRAM+ : résultat positive de technique de coloration appelée coloration de Gram

GS : gélose saboraud

HE : huile essentielle

IC : ionisation chimiques

IE : impact électronique

IPP : isopentylpyrophosphate

LPL : lipoprotéinlipase

MH : muller hinton

NF.T : Numéro de fiche technique

nm: nanomètre

Pc: poids corporel

PEP: phosphoenolpyriviate

POD : la peroxydase

RD : rats Pour toxicité aiguë testés par une dose de solution issue de la décoction

RH₁₀ : rats Pour toxicité subaiguë testés par une dose de 10µ/kg

RH₂₀₀ : rats Pour toxicité aiguë testés par une dose de 200µ/kg

RH₅ : rats Pour toxicité subaiguë testés par une dose de 5µ/kg

RT : rats témoins

SERCA: sarcoplasmic Endoplasmic Reticulum Calcium ATPASE

SM : spectrométrie de mass

TGO : transaminase glutamique-oxaloacétique

TGP : transaminase glutamique-pyruvique

INTRODUCTION

Introduction

L'histoire des plantes aromatiques et médicinales est associée à l'évolution des civilisations. Dans toutes les régions du monde, l'histoire des peuples, montre que les plantes ont toujours occupé une place importante en médecine, dans la composition des parfums et dans les préparations culinaires. L'homme utilise les plantes depuis des milliers d'années, pour traiter divers maladies. Le monde végétal est à l'origine d'un grand nombre de médicaments.

Les plantes sont dites médicinales lorsque l'un de leurs organes possède des activités pharmacologiques pouvant conduire à des emplois thérapeutiques. L'usage thérapeutique des plantes médicinales est très présent dans certains pays du monde et surtout les pays en voie de développement.

La médecine traditionnelle est l'ensemble des connaissances et pratiques explicables ou non utilisées pour diagnostiquer, prévenir ou éliminer un déséquilibre, physique, mental, ou social en se fondant exclusivement sur des connaissances acquises ou transmises de génération en génération, oralement ou par écrit. En effet, d'après les estimations, la médecine traditionnelle assume 80 % à 90 % des soins de santé en Afrique (OMS, 2000).

Traiter, soigner, ou guérir les maladies, c'est le but des phytothérapeutes à travers le monde. De ce fait plusieurs maladies qui posent de très graves problèmes à l'échelle mondiale sont prises en charge par les chercheurs dans ce domaine afin de trouver de nouveaux remèdes. (Bobekar, 2012)

Actuellement, plusieurs questions se sont soulevées concernant la sécurité et l'efficacité des médicaments et leur composition chimique d'origines synthétiques utilisées en médecine. En effet, durant les vingt dernières années, il a été prouvé que l'efficacité des certains médicaments notamment les antibiotiques a fortement diminué. Les bactéries sont devenues de plus en plus résistantes.

Les limites thérapeutiques, des antibiotiques classiques ont poussé les scientifiques à orienter les recherches vers des nouvelles voies et surtout l'utilisation des principes actifs des plantes (composés phénoliques, alcaloïdes, huiles essentielles) comme agents antibactériens

La flore Algérienne est caractérisée par sa diversité florale : Méditerranéenne, Saharienne et une flore Paléo Tropicale, estimée à plus de 3000 espèces appartiennent à

plusieurs familles botaniques, dont 15% endémiques. Ce qui a donné à la pharmacopée traditionnelle une richesse inestimable. Parmi celles-ci, *Thapsia garganica L.*, une espèce ayant des vertus encore peu connus et c'est dans ce contexte que notre étude s'inscrit.

Trois voies seront prospectées :

- Extraction des huiles essentielles des écorces racinaires.
- Valorisation de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles
- Des essais sur la toxicité de cette plante par la mise en évidence *in-vivo* sur des rats wistars pour but d'optimiser des doses à la fois inoffensives et thérapeutiques.

DONNÉES
BIBLIOGRAPHIQUES
THAPSIA GARGANICA

I- Etude de *Thapsia garganica* :

1 historique :

Les vertus médicinales de cette plante sont connues depuis l'antiquité : Hippocrate, le « père de la médecine grecque » a décrit les effets irritants des racines vers 400 av. J.-C.

D'autres grands botanistes et naturalistes tels le grec Théophraste (372-287 av. J.-C.) et le romain Pline l'Ancien (24-79) en ont fait mention dans leurs ouvrages. Les racines et les graines de *Thapsia Garganica* L sont depuis lors utilisées en médecine traditionnelle en Europe et dans certains pays arabes de la côte méditerranéenne : des onguents sont ainsi préparés dans le but de soulager des rhumatismes ou certains maux pulmonaires (Christensen, et Andersen, 1997).



Figure 1 : la partie aérienne de la plante *Thapsia garganica*

2-Position systématique :

Thapsia garganica est une espèce végétale de la famille des Apiacées ,déjà connue d'Hippocrate, Dioscoride, Théophraste, Pline et Galien, la plante tire son nom de l'île de Thapsos de l'Italie où elle fut découverte et du promontoire de Gargano (dans les Fouilles) où elle poussait abondamment (Hammiche et al, 2013).

C'est une vraie panacée leur nom arabe Bou nafà désigne la racine comme « Le père de l'efficacité », « le père de la santé ».

Classée selon le taxon suivant :



Règne	Plantae
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Ordre	Apiales
Famille	Apiaceae
Genre	Thapsia
Nom binominal :	<i>Thapsia garganica</i>
Noms vernaculaires:	BOu-nafà , Dryâs
	(Quezel et Santa1962)

3-Caractéristique botanique :

Cette plante vivace présente une tige striée, glabre, ramifiée dans sa partie supérieure, atteignant de 0,90 à 1,40 m de hauteur. Les feuilles sont vertes, glabres. Les feuilles primordiales sont petites, elliptiques et entières, les suivantes sont palmatilobées. Les feuilles de la base de la tige sont grandes, 2 3 pennatiséquées, les supérieures sont réduites à une gaine

large (Pottier, 1979). La racine est volumineuse, noirâtre extérieurement, blanche intérieurement (Cazin, 1876).

L'inflorescence est une grande ombelle composée à 15-20 rayons, portant des fleurs jaunes. L'involucre et involucelle sont absents. Les ombellules sont de forme globuleuse. Le fruit est elliptique, comprimé dorsalement, de 10-15 sur 20-25 mm, à échancrures plus ou moins larges au sommet et à la base. Ailes latérales très développées, brillantes, d'un jaune paille, finement striées (Pottier, 1979).

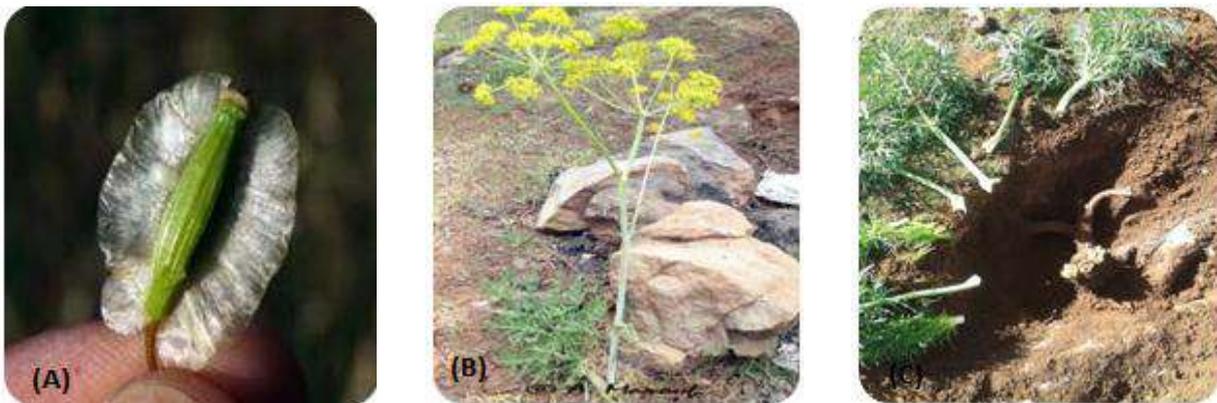


Figure02 : (A) grains,(B) inflorescence,(C) feuilles et racines de la plante *Thapsia garganica*

4- répartition géographique :

Très commun dans tout le pourtour méditerranéen, surtout abondant dans le Maghreb et, plus particulièrement, en Algérie où il est adapté à la sécheresse méditerranéenne et à l'aridité des steppes et des montagnes sahariennes; tous les sols lui conviennent, depuis les sables maritimes jusqu'aux sables sahariens du nord en passant par toutes les formes d'argiles sèches ou gorgées d'eau (Merad et Hammiche 1992).

5-Usages de *Thapsia garganica* :

5-1-Usages traditionnels :

L'écorce de racine trouve encore quelques emplois en médecine traditionnelle maghrébine, pour traiter la stérilité féminine, les douleurs rhumatismales, les entorses et surtout, pour les maladies pulmonaires graves. Au Maroc, la réputation de l'efficacité de la plante dans le traitement de la stérilité féminine est si grande qu'un proverbe marocain dit "li

ma weldet î ala deryas, ghir taqtâ liyas", ce qui veut dire "celle qui n'a pas réussi à enfanter au moyen de *Thapsia*, doit perdre l'espoir d'accoucher un jour" (Bellakhdar, 1997).

La racine fraîche est enfouie dans des cendres chaudes jusqu'à ramollissement et exsudation de la résine; elle est, alors, grossièrement broyée et placée dans une gaze; Ce cataplasme, appliqué sur le thorax préalablement enduit d'huile d'olive, y est maintenu jusqu'à sensation de brûlure. On renouvelle chaque jour si nécessaire. Pour les enfants, on utilise la racine privée de son écorce (Hammiche, 1991).

La décoction dans le lait ou l'huile est utilisée, dans les affections pulmonaires courantes à raison d'une cuillère à soupe par jour pour l'adulte et une cuillère à café pour l'enfant de plus de huit ans. Le suc frais est absorbé avec une datte qui en dissimule l'âcreté, comme purgatif drastique et emménagogue. En Kabylie, dès l'arrivée du printemps, il est d'usage de faire une cure « dépurative »; on procède de la manière suivante: dans la partie inférieure d'un couscoussier, on l'ait durcir sept œufs avec une bonne poignée de racines; la vapeur traverse la semoule disposée dans la partie supérieure. Un œuf, accompagné d'un bol de semoule, est absorbé chaque matin, à jeun. Une phase d'excitation proche de l'ivresse précéderait la débâcle intestinale (Hammiche, 1991).

Mijotée pendant 10 minutes à plusieurs heures dans un récipient clos, avec de l'eau, de l'huile ou du beurre, la racine fournit un décocté, un liniment ou une pommade ayant les mêmes indications thérapeutiques. Un fragment de racine calmerait, par contact direct, les algies dentaires.

5-2-Usages agricoles :

Les Arabes employaient comme topique sur certaines affections articulaires des chevaux un onguent composé de racine et de goudron (Soubeiran, 1870).

Rachid Meddour (2012) ajoute d'autres emplois :

- en usage externe, le bulbe trempé dans de l'huile d'olive sert à masser les mamelles des animaux pour son effet galactogène. Le *Thapsia* a également la propriété de "gonfler" la peau, ainsi les vendeurs de bétail malhonnêtes frottent leurs bêtes avant de les vendre au marché bien "grosses"!
- Les feuilles et les racines broyées et jetées dans les eaux des oueds, servent à pêcher facilement les poissons, lesquels sont consommés sans risque aucun d'intoxication.

- Un usage agronomique notoire est celui de déposer des feuilles de Thapsia sur les arbres fruitiers et les vignes au moment de la floraison, elles évitent ainsi l'avortement des fleurs et la chute précoce des fruits. Comme le contact direct des feuilles vertes provoque une dermatite, les paysans se protègent les mains avec de l'huile d'olive.

5-3-Utilisations médicinales :

5-3-1- Utilisations pharmacologique :

Ayant observé l'usage révulsif du bou-néfa, le Docteur Reboulleau (1856) a l'idée de l'améliorer sous la forme d'un emplâtre à base de résine, prescrit contre la bronchite aiguë (Bouchut, 1883).

Le succès est tel que Battandier (1900) précise que la racine est exportée en grande quantité et que la résine a été extraite "en grand". Mais il explique également que cette industrie a alors « à peu près cessé ». Six ans après.

Dans un article intitulé « la thérapeutique par les chiffres », les Docteurs Bourgoïn et de Beurmann communiquent la consommation en révulsifs cutanés de la Pharmacie centrale des hôpitaux et hospices civils de Paris entre 1876 et 1885. (Tableau01)

Tableau 01 : masse de l'exportation en kg entre 1876 et 1885. (Bourgoïn et Beurmann , 1888).

	1876	1877	1878	1879	1880	1881	1882	1883	1884	1885
Graines de moutarde	7960	6400	7630	8040	7150	7191	7040	7515	7035	5905
Thapsia	1248	1084	1279	1055	1270	757	689	640	770	722

5-3-2 Utilisations thérapeutiques :

La plante fait l'objet d'investigations dans le traitement du cancer de la prostate; les données précliniques semblent prometteuses, une rémission dans l'évolution de la tumeur apparaît avec une toxicité minimale (Isaacs, 2005).

Les chercheurs ont conçu, à partir de la thapsigargine, l'un des principes du thapsia, une pro-drogue appelée G202. La G202 est hydrolysée par une carboxy-peptidase membranaire, spécifique des cellules cancéreuses prostatiques ; cette hydrolyse active la G202 qui inhibe la pompe SERCA ce qui induit la mort de ces cellules (Denmeade, et al. 2012).

6-Propriétés d'huile essentiel de *Thapsia garganica* :

L'huile essentielle extraite des racines contient principalement de l'élimicine (54 à 73 %) et de la latifolone (20–32%) (Avato et Rosito, 2002).

Les racines contiennent principalement les constituants volatiles suivants : les lactones sesquiterpènes δ -cadinene, α - et δ -guaïene, elemol et guaiols (Drew et al., 2012), dont la thapsigargine.

Ali, et al. (1985) ont montré que la thapsigargine est capable d'induire la libération d'histamine de diverses cellules (classées par ordre de sensibilité : mésentère, poumon et cœur). Cette propriété est à l'origine des propriétés vésicantes, mais aussi de l'intoxication humaine si elle est consommée en interne. (Figure 03)

Elle inhibe les protéines membranaires qui pompent le calcium à l'intérieur du réticulum. Couplée à un peptide, c'est une pro-drogue qui peut cibler et, après activation, tuer par apoptose les cellules du cancer de la prostate (Winther *et al.* 2010).

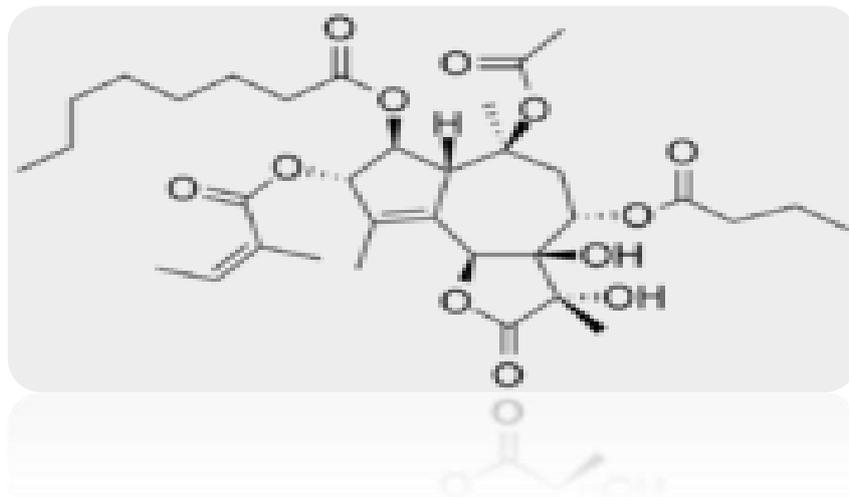


Figure03 : Molécule de Thapsigargine

7-Toxicité :

7-1-Parties et principes toxiques :

Toute la plante est toxique par sa résine, jaune ou légèrement rougeâtre, rubéfiante et vésicante, particulièrement abondante dans l'écorce de la racine. On y a caractérisé deux substances histamino-libératrices, des lactones sesquiterpéniques: thapsigargine et thapsigarginine (Denmeade et al. 2012), ainsi que des triesters de lactones sesquiterpéniques ayant des structures inhabituelles (Rasmussen et al, 1978).

La thapsigargine, guaianolide hexaoxygéné (Falsone et al, 1986), mobilise le calcium intracellulaire selon des modalités très particulières, en inhibant la Ca⁺⁺ ATPase (SERCA) du réticulum endoplasmique (Christensen et al, 1997), (Hastrup et al, 1990).

Dans le fruit, quatre phénylpropanoïdes et un analogue de la thapsigargine ont été mis en évidence par spectroscopie; toutes ces substances ont développé une activité cytotoxique (Wrzosek et al, 1993).

Le fruit contiendrait une fraction lipidique riche en acide pétrosélinique qui est une matière première recherchée (Liu et al, 2006).

7-2-Circonstances de l'intoxication :

Il s'agit, surtout, d'intoxications animales. Elles ne sont pas rares, soit que des fruits et des feuilles soient mêlés au fourrage (Avato et al, 2001), soit que les troupeaux nomadisent loin de leur aire naturelle de pâturages; ainsi, les chameaux qui confondent les jeunes pousses de *Thapsia* avec une Ombellifère saharienne, sont pris de gastro-entérite (Perrot, 1943-1944). On observe, d'abord, une importante sécrétion salivaire, puis des troubles de la vision, des désordres nerveux, des troubles digestifs suivis, dans les cas graves, de mort. La sève agit de manière corrosive sur les parois digestives (Hammiche et al, 1993).

Les intoxications humaines sont toutes dues aux utilisations traditionnelles mal maîtrisées. Au CAP d'Alger, on relève, chaque année, une à deux intoxications causées par des utilisations abusives de la racine, principalement (Hammiche et al, 2013).

7-3-Symptomatologie :

Sa toxicité est connue et seules des personnes averties la manipulent avec beaucoup de précautions pour éviter les ophtalmies et des œdèmes de la face, type de œdèmes Quincke (Bellakhdar, 1978).

Sur la peau, l'action révulsive se manifeste d'abord par une rubéfaction violente avec forte éruption de vésicules et s'accompagne d'un œdème sous jacent et de prurit intense qui peut aboutir à la formation de pustules. On note, parfois, de la fièvre. L'inflammation et le prurit évoluent, en 3 à 4 jours, vers un dessèchement de l'épiderme qui se desquame sans laisser de cicatrices (Avato et al, 2001).

L'ingestion, chez l'homme, se traduit, même à faible dose, par de la diarrhée parfois des vomissements (Bellakhdar, 1978).

7-4-Traitement :

Symptomatique, il vise à débarrasser l'organisme du toxique par des vomissements provoqués ou par un lavage gastrique. L'administration de pansements gastriques et d'antihistaminiques peut être préconisée. Des préparations topiques calmantes et un « talkage » abondant apaisent le prurit désagréable (Hammiche et al, 2013).

DONNÉES
BIBLIOGRAPHIQUES
LES HUILES
ESSENTIELLES

II Les huiles essentielles :

1-Aperçu Historique :

Le règne végétal, en tant que source naturelle d'énergie, offre à l'homme l'aliment, l'hygiène et la santé. Depuis long temps, les parfums de ces végétaux sont associés à des rites mystiques, artistiques et esthétiques. Les Egyptiens, sont les premiers à tirer parti du règne végétal dans un souci esthétique et spirituel. Plus tard la civilisation Arabe dont Bagdad, Bassora et Damas étaient les principaux centres qui développent le commerce des épices et des aromates et donna une grande impulsion à l'art de distillation. Hermann Boerhave (1668_1738) fut l'un des premiers à décrire les huiles essentielles d'un point de vue chimique (Lucchesi, 2005).

L'aromathérapie est ensuite tombée dans l'oubli ; il a fallu attendre le XXème siècle pour que les scientifiques commencent à s'y intéresser. En 1928 René-Maurice Gatte Fossé, chimiste Français publia l'ouvrage "aromathérapie" décrivant la relation entre la structure biochimique des huiles essentielles et ces activités antimicrobiennes. En 1929, le pharmacien Français Sevelinge, étudia les huiles essentielles en médecine vétérinaire en confirmant le potentiel antimicrobien élevé de ces substances aromatiques. En 1975, l'aromatologue Français, Franchomme, à mis en évidence l'importance du chémotype (Fouche *et al*, 2000). Il existe aujourd'hui approximativement 3000 huiles dont environ 300 sont réellement commercialisées, destinées principalement à l'industrie des arômes et des parfums (Zhiri, 2006).

2-Définitions :

On appelle huiles essentielles (ou parfois essence végétale) le liquide concentré et hydrophobe des composés aromatiques volatiles d'une plante. Elle est obtenue par distillation ou extraction chimique, par solvant (eau, alcool). Contrairement à ce que suppose la dénomination, ces extraits ne sont pas forcément huileux.

Produit odorant, généralement de composition complexe, obtenu à partir d'une matière première végétale botaniquement définie, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par distillation sèche, soit par un procédé mécanique approprié sans chauffage (Paris et al, 1981).

L'huile essentielle appartient à la gamme des métabolites secondaires, issue du métabolisme végétale, elle ne se rencontre cependant que chez certaines plantes, qui prennent ainsi le nom de plantes aromatiques (Guinard, 1996).

La norme A.F.NOR NF.T 75-006 a donné la définition suivante « produit obtenu à partir d'une matière première végétale, soit par entraînement à la vapeur, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe des citrus, soit par distillation sèche » (Bruneton, 1999).

3-Localisation des huiles essentielles

Il est bien connu que la plupart des huiles essentielles se retrouvent dans des glandes. Les structures glandulaires et les cellules sécrétrices isolées peuvent se rencontrer dans tous les organes végétaux Tableau02. Il existe trois types de structures sécrétrices dans les plantes (Ntezurubanza, 2000):

- **Les poils glandulaires épidermiques** : les plantes possédant ces poils font partie des familles des Lamiacées, des Géraniacées, des Verbénacées, entre autres.
- **Les poches sphériques schizogènes** : les glandes de type poche se retrouvent chez des plantes des familles des Astéracées, Hypéricacées, Rosacées, Rubiacées, Rutacées et autres. Un exemple de ce type est l'*Eucalyptus globulus*.
- **Les canaux glandulaires lysigènes** : on retrouve des canaux glandulaires dans tous les bois résineux, en particulier chez les Abiétacées et les Cupressacées; le pin maritime en est un exemple. Les familles suivantes contiennent aussi des espèces avec ce type de glande : les Apiacées (les fruits), les Dipterocarpacees, les Burséracées et les Anacardiacees.

Tableau02 : Les parties de certaines plantes riches en huiles essentielles (Ntezurubanza, 2000)

Partie de plante	Exemple de plante
Feuilles	Romarin, sauge, eucalyptus, menthe,
Feuilles de conifères	Sapin, cèdre
Tiges	Citronnelle, lemongrass
Écorces	Cannelier
Racines	Angelica, vetiver
Rhizomes	Acorus, gingembre
Bulbes	Oignon
Bois	Santal, bois de rose
Fruits	Bleuet, citron, fenouil, anis
Fleurs	Jasmin, rose, oranger
Graines	Aneth, coriandre

4-Rôle dans la plante:

La fonction biologique des terpénoïdes des huiles essentielles demeure le plus souvent obscure, il est toutefois vraisemblablement qu'ils ont un rôle écologique. A l'appui de cette hypothèse, on remarquera que le rôle de certains d'entre eux a été établi expérimentalement en ce qui concerne le domaine des interactions végétales (agents allelopathiques, notamment inhibiteurs de germination) ; ces substances olfactives issues du métabolisme secondaire sur certains végétaux renferment beaucoup de rôles, certains sont recensés d'autres pas encore , parmi ces rôles recensés il y a celui de l'opposition plante-plante qu'on peut considérer comme une guerre chimique, on prend le cas de *Salvia leucophylla* qui libère dans l'atmosphère le

cinéole et le camphre qui est absorbé par le sol sec ceci inhibe la germination des espèces prairial ; celles-ci ne peuvent germiner et croître que lors des pluies hivernales (Guinard,1996)

.5-Composition chimique :

Sur le plan chimique, les H.E sont des mélanges de structure extrêmement complexe, pouvant contenir plus de 300 composés différents. Ces substances sont des molécules très volatiles appartenant pour la grande majorité à la famille des terpènes comme les monoterpènes (myrcène, β -pinène, γ -terpinène) et les sesquiterpènes (β -caryophyllène, ahumulène, β -bisabolène etc.) (Croteau et al, 2000).

Les terpènes Les terpènes sont des hydrocarbures naturels, de structure cyclique ou de chaîne ouverte. Leur particularité structurale la plus importante est la présence dans leur squelette d'unité isoprénique à 5 atomes de carbone (C_5H_8). Ils sont subdivisés selon le nombre d'entités isoprènes en **monoterpènes** formés de deux isoprènes ($C_{10}H_{16}$), **Les sesquiterpènes**, formés de trois isoprènes ($C_{15}H_{24}$),

les diterpènes, formés de quatre isoprènes ($C_{20}H_{32}$).

Les tétraterpènes huit isoprènes qui conduisent aux caroténoïdes.

Les polyterpènes (C_5H_8) n ou n peut-être de 9 à 30.

Les terpénoïdes sont des terpènes avec une ou plusieurs fonctions chimiques (alcool, aldéhydes, cétone, acide, etc.). (Hernandez-Ochoa, 2005).

Les composés aromatiques : Les dérivés du phénylpropane sont moins abondants que les terpénoïdes. Cette classe comprend des composés odorants comme la vanilline, l'eugénol, l'anéthole, l'estragole et bien d'autres. Ils sont plus fréquents dans les H.Es d'*Apiaceae* (anis, fenouil, cannelle, basilic).

Les composés d'origine diverses : Il existe un nombre non négligeable de produits résultant de la transformation de molécules non volatiles issues soit de la dégradation des terpènes non volatils qui proviennent de l'auto-oxydation par exemple des carotènes ou des acides gras comme les acides linoléique et α -linoléique en (3-cis hexanol, decanal, β -ionone) (Piochon, 2008).

6-Notion de chémotype :

Le chémotype d'une H.E est une référence précise qui indique le composant biochimique majoritaire ou distinctif, présent dans l'HE. C'est l'élément qui permet de distinguer des HE extraites d'une même variété botanique mais, d'une composition biochimique différente. Cette classification permet de sélectionner les HE pour une utilisation plus précise, plus sûre et plus efficace. Ce polymorphisme chimique existe chez certaines espèces : *Thymus vulgaris*, *Mentha spicata*, *Origanum vulgare*. Il est important de noter que les HE à chemotypes différents présentent non seulement des activités différentes mais aussi des toxicités très variables (Pibiri, 2005).

7-Biosynthèse des huiles essentielles :

La biosynthèse des huiles essentielles se fait suivant deux voies principales (figure04) (Helander et al, 1998)

7-1-Voie des terpénoides :

Le matériau de base est l'IPP (isopentylpyrophosphate), molécule à cinq atomes de carbones ayant une structure semi-alvéolaire. Il est dérivé de l'AcétylCoA (carrefour important), lui-même issu de PEP (phosphoenolpyruvate) provenant directement du fructose. La construction des squelettes hydrocarbonés a lieu de la même manière par la juxtaposition « tête à queue » des unités isopréniques, unités pentacarbonés ramifiées assemblées enzymatiquement. Ainsi on trouve des squelettes hydrocarbonés à dix carbones monoterpènes, puis à quinze carbones sesquiterpènes et plus rarement, à vingt carbones diterpènes. Le processus peut se poursuivre mais dans d'autres buts que la synthèse des essences (Hammer et al, 2003)

7-2-Voie des phénylpropanoïdes :

La synthèse des huiles essentielles par la voie des phénylpropanoïdes commence par un métabolite des fructoses, le PEP (phosphoenolpyruvate). Elle aboutit à un très grand nombre de substances aromatiques, via une série des acides, dont l'acide shikimique (la voie shikimique) et l'acide cinnamique. Les métabolites terminaux, importants en thérapeutique, sont les acides aromatiques suivants : acide salicylique, cinnamique en benzoïque et leurs esters dont le salicylate de méthyle, les cinnamates, les benzoates, certains phénols (eugénol) ainsi que les coumarines. Quelques grandes chimiques de molécules non volatiles, comme les tannoides et les flavonoides, se trouvent incluses dans cette voie (Faleiro et al, 2003).

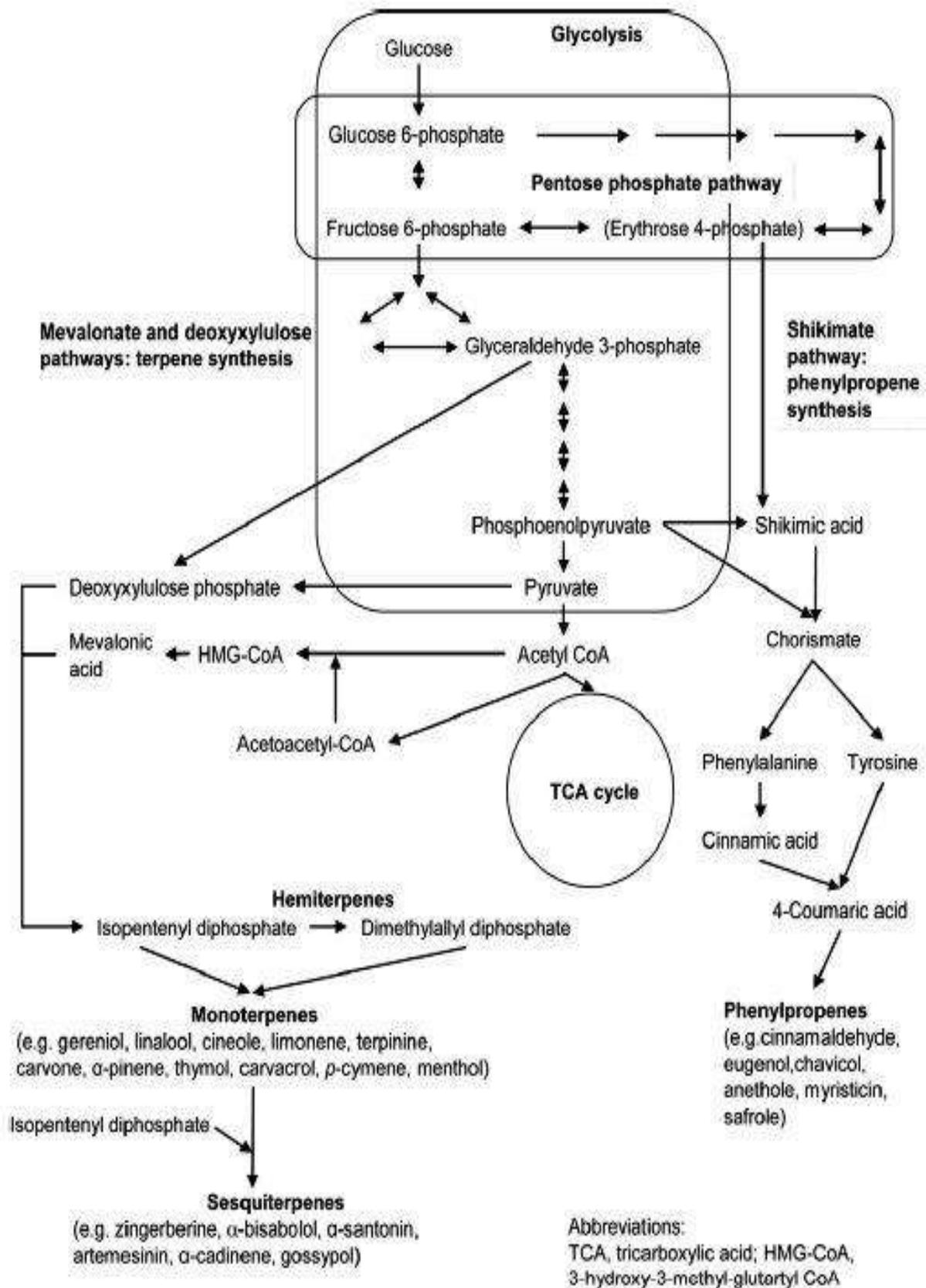


Figure04 : schéma représente les voies principales de la synthèse de terpène (Benchaara et Greatheardb, 2011).

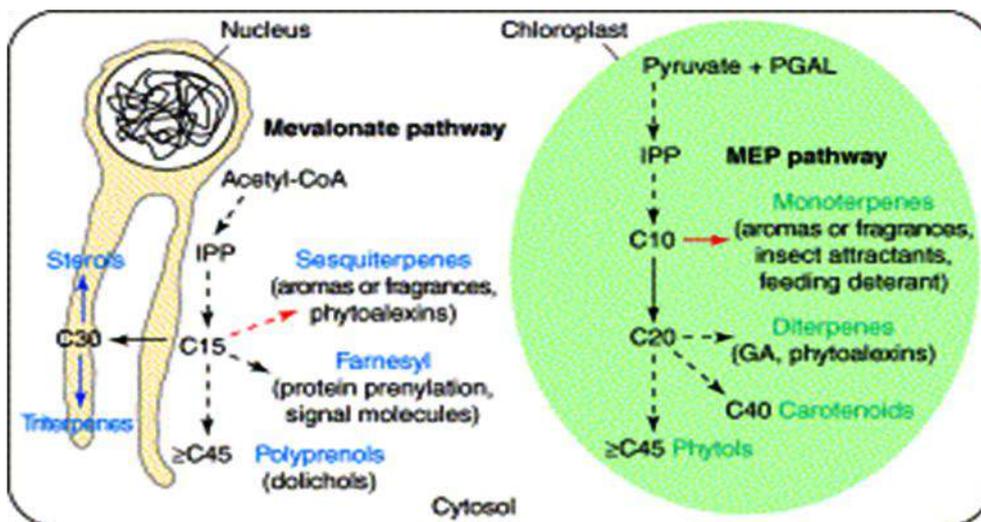


Figure05 : localisation des voies de la synthèse dans la cellule (Benchaara et Greatheadb , 2011).

8-Méthodes d'extraction

Différentes méthodes sont mises en œuvre pour l'extraction des essences végétales. En général le choix de la méthode dépendra de la nature du matériel végétal à traiter (graines, feuilles, ramilles), de la nature des composés (par exemple, les flavonoïdes, les huiles essentielles, les tanins), le rendement en l'huile et la fragilité de certains constituants des huiles aux températures élevées.

8-1. Distillation

Trois différents procédés utilisant le principe de la distillation (Piochon, 2008) sont possibles :

i. Hydrodistillation

Il s'agit de la méthode la plus simple et la plus anciennement utilisée. La matière végétale est immergée directement dans un alambic rempli d'eau, placé sur une source de chaleur, le tout est ensuite porté à l'ébullition. Les vapeurs sont condensées dans un réfrigérant et l'huile essentielle se sépare de l'hydrolysât par simple différence de densité. L'huile essentielle étant plus légère que l'eau, elle surnage au dessus de l'hydrolysât. Cependant, un chauffage prolongé et trop puissant engendre la dégradation de certaines molécules aromatiques (Lucchesi, 2005).



1. Chauffe ballon
2. Ballon
3. Thermomètre
4. Réfrigérant
5. Entrée et sortie d'eau
6. Erlenmeyer
7. Matière à extraire l'essence
8. Couche d'huile essentielle

Figure06 : Principe de la technique d'hydro distillation (Lucchesi, 2005)

ii. entraînement à la vapeur d'eau

Dans ce type de distillation, le matériel végétal ne macère pas directement dans l'eau. Il est placé sur une grille perforée au travers de laquelle passe la vapeur d'eau (Figure07). La vapeur endommage la structure des cellules végétales et libère ainsi les molécules volatiles qui sont ensuite entraînées vers le réfrigérant. Cette méthode apporte une amélioration de la qualité de l'huile essentielle en minimisant les altérations hydrolytiques.

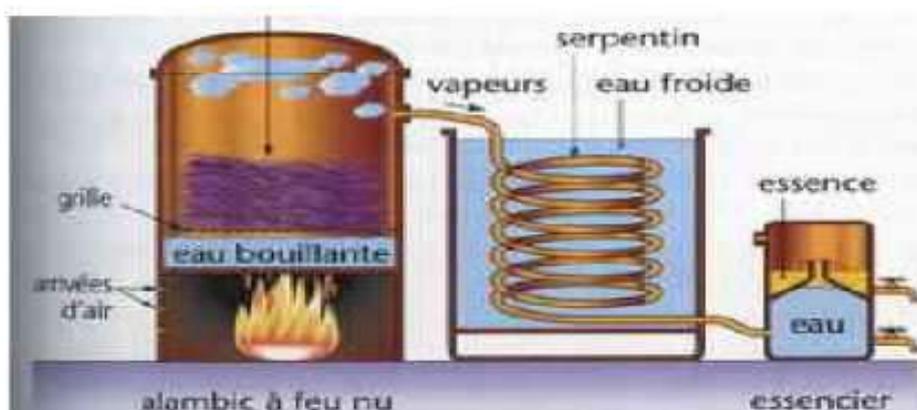


Figure07 : Principe de la technique de l'entraînement à vapeur (Lucchesi, 2005)

iii. Hydro diffusion

Cette technique est relativement récente. Elle consiste à faire passer du haut vers le bas, et à pression réduite, la vapeur d'eau au travers la matière végétale. L'avantage de cette méthode est d'être plus rapide donc, moins dommageable pour les composés volatils.

8-2.Extraction par percolation (soxhlet) :

Elle consiste à faire passer lentement un solvant à travers une cartouche de papier épais et poreux ou une pochette de papier filtre. Elle présente l'avantage de ne pas utiliser beaucoup de solvants.

8-3.Extraction à froid (Expression)

Elle constitue le plus simple des procédés, mais ne s'applique qu'aux agrumes (orange, citron, bergamote) dont l'écorce des fruits comporte des poches sécrétrices d'essences. Ce procédé consiste à broyer, à l'aide de presses, les zestes frais pour détruire les poches afin de libérer l'essence. Le produit ainsi obtenu porte le nom d'essence, car il n'a subi aucune modification chimique (Roux, 2008).

8-4.Extraction assistée par micro-ondes

C'est une nouvelle technique combinant l'utilisation des micro-ondes et d'autres méthodes traditionnelles. Dans ce procédé, la matière végétale est chauffée par micro-ondes dans une enceinte close dans laquelle la pression est réduite de manière séquentielle. Les composés volatils sont entraînés par la vapeur d'eau formée à partir de l'eau propre à la plante. Ils sont ensuite récupérés à l'aide des procédés classiques de condensation, de refroidissement et de décantation. Certains travaux (Hemiwimon et al, 2007), montrent que cette technique présente de nombreux avantages : gain de temps d'extraction, utilisation de petites quantités de solvant et un rendement d'extraction élevé.

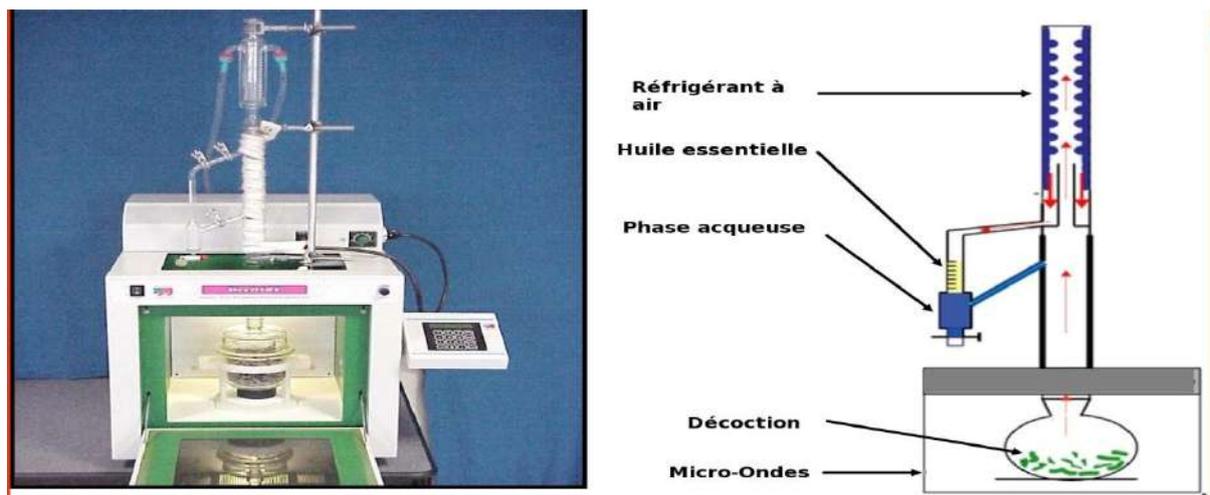


Figure08 : Procédé d'extraction des huiles essentielles par micro-ondes (Lucchesi et al, 2007)

8-5. Extraction par les solvants et les graisses

Il s'agit d'extrait de plantes obtenu au moyen de solvants non aqueux (hexane, éther de pétrole etc.), mais aussi de graisses, des huiles (absorption des composés volatils lipophiles par les corps gras). Ces solvants ont un pouvoir d'extraction plus élevé que l'eau, si bien que les extraits ne contiennent pas uniquement des composés volatils mais également un certain nombre de composés non volatils tels que des cires, des pigments et des acides gras. Un lavage à l'éthanol permet l'élimination de ces composés non désirables. Après distillation de l'alcool, le produit obtenu est appelé "absolu" et sa composition se rapproche de celle d'une huile essentielle. Par ailleurs, l'extraction à l'aide de solvants organiques pose le problème de toxicité et de la présence de solvants résiduels (Hernandez-Ochoa, 2005).

8-6.Extraction par fluides supercritique

Ce procédé a pris ces dernières années beaucoup d'essor dans l'extraction des extraits végétaux. L'avantage de cette technique réside dans la combinaison entre les caractéristiques des gaz et des liquides pendant le processus d'extraction (Figure09). En outre, tous les processus de dégradation possibles, tels que l'oxydation ou l'isomérisation, sont réduits au minimum du fait de temps d'extraction le plus faible.

Toutefois, cette technique présente un inconvénient lié à la basse polarité du dioxyde de carbone supercritique dans le solvant d'extraction le plus employé. Au-delà du point critique (Pression = 73,8 bars, Température = 31,1°C), le CO_2 possède des propriétés intermédiaires entre celles des liquides et des gaz, ce qui lui confère un bon pouvoir d'extraction (Piochon, 2008).

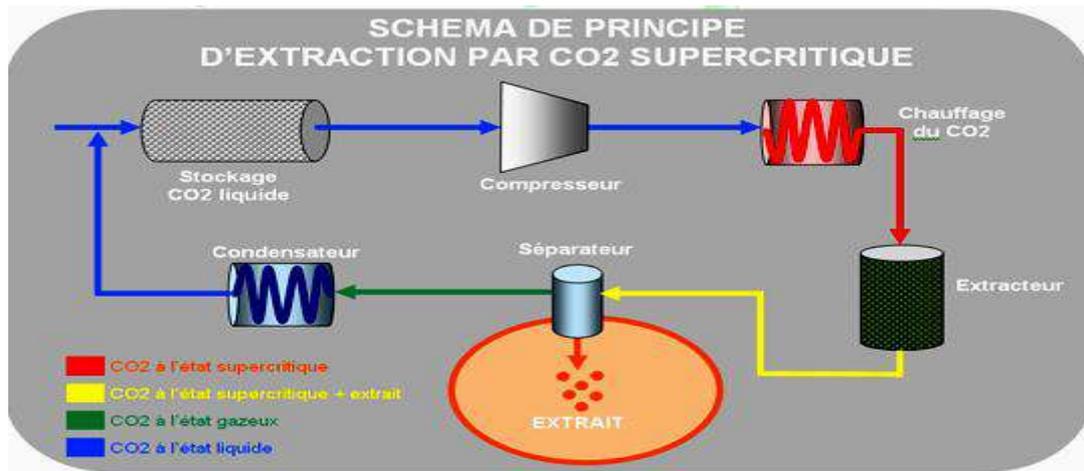


Figure09 : Principe de la technique d'extraction par le CO₂ supercritique (Pourmortazavi, 2007)

8-7. Enflourage et macération

Cette technique, la plus ancienne, très coûteuse et peu employée aujourd'hui. On l'emploie pour des fleurs sensibles, ne supportant pas un chauffage trop élevé, comme le "jasmin", la violette et la rose. Les fleurs sont mises à macérer dans des graisses ou des huiles et chauffées (bain-marie ou soleil) et étalées sur des châssis en bois pendant plusieurs jours (Figure10). Une fois gorgés de parfum, les corps gras sont filtrés au travers de tissus de lin ou de coton. Les huiles sont ensuite lavées à l'alcool pur, filtrées et évaporées.



Figure 10 : Exemple d'enflourage artisanal

9-Propriétés pharmacologiques des huiles essentielles

Tous d'abord il ne faut pas confondre avec l'activité d'une huile essentielle avec celle de la plante dont elle est issue. Il faut savoir qu'une telle superposition n'est que rarement possible, ainsi ; l'huile essentielle du romarin est antibactérienne alors l'infusé de la même espèce est traditionnellement utilisé pour le traitement symptomatique des troubles digestifs divers.

Remarquons ensuite que si l'on peut étudier et décrire les effets biologiques et/ou pharmacologiques d'un monoterpène, d'un sesquiterpène ou d'un alkylbenzène pur, il est difficile de parler de pharmacologie, de pharmacocinétique ou de métabolisme d'une huile essentielle c'est-à-dire d'un mélange (Bruneton, 1999). Aussi la phytothérapie et l'aromathérapie possèdent le rare privilège d'être à la fois les plus anciennes et les plus actuelles des thérapeutiques. (Valnet, 1984)

9-1.Pouvoir antiseptique

Ce pouvoir antiseptique s'exerce à l'encontre de bactéries pathogènes variées, y compris des souches habituellement antibiorésistantes. Certaines huiles essentielles sont également actives sur des champignons responsables de mycoses et sur des levures (*Candida*). Les doses actives sont en générale faibles. Cette priorité antiseptique est exploitée sur différents volets :

- Au niveau respiratoire on peu citer l'huile essentielle de Pin, d'Eucalyptus, de Niaouli qui stimuleraient les cellules de mucus et augmenteraient les mouvements de l'épithélium cilié au niveau de l'arbre bronchique, ils agissent comme libérateur broncho-pulmonaire. (Valnet, 1984), aussi l'essence de l'ail est utilisé à titre préventif au cours des épidémies grippales et comme modificateur des sécrétions bronchiques. (Bruneton, 1999).
- Au niveau des voies urinaires, l'huile essentielle de buchu, de genévrier, de lavande, de térébenthine sont de puissants désinfectants urinaires, l'essence de santal l'emporte par rapport au reste, on l'utilise généralement en capsule de 0,25g. (Valnet, 1984)
- Au niveau des plaies infectées et gangréneuses, des brûlures. Les huiles essentielles s'avèrent efficaces, le secret du traitement réside dont le fait qu'elle donne naissance à des dérivés qui se combine chimiquement aux produits de dégradations des albumines tissulaires, pour donner naissance à des corps atoxiques; qui seront alors éliminés de l'organisme. Il s'ensuit un véritable embaumement et la cicatrisation s'amorce. (Bruneton, 1999), aussi certains essences sont douées d'un pouvoir antitumoral, elles suppriment les plaies infectées cancéreuses par un mode d'action physicochimique (Valnet, 1984), la cytotoxicité de l'essence de *Rosmarinus officinalis* vis-à-vis des cellules tumorales (myélomeP3×36 Ag8) a été récemment démontré, l'étude morphologique de celle-ci a révélé une lyse cellulaire avec éclatement membranaire. (Mounchide et al , 2005).
- Au niveau des dermatoses diverses, les eczéma secs ou suintants, l'acné, les rougeurs trouvent leur solution dans le traitement aromatique par des complexes particuliers d'essences de fleurs. (Valnet, 1984)

- Au niveau de la purification bactériologique de l'air ; le mélange d'essences (de pin, de thym, de menthe, de lavande, de romarin, de girofle et de cannelle) dispersé sous forme de brouillarde à l'aide d'un appareil aérosoliseur réalise une désinfection très nette de l'air se traduisant par une diminution considérable ou totale des germes microbiens préexistants. (Valnet, 1984)
- Enfin, sarriette, cannelle, thym, girofle, lavande, eucalyptus sont au nombre des huiles essentielles les plus antiseptiques. Des composés comme le linalol, le citral, le géraniol et le thymol sont respectivement 5 ; 5,2 ; 7,1 et 20 fois plus antiseptique que le phénol. (Bruneton, 1999)
- Comme conservateur la coriandre, associée au poivre et au sel, est utilisée dans les pays tropicaux pour recouvrir les viandes que l'on veut conserver. (Valnet, 1984)

9-2. Propriétés spasmolytiques et sédatives

Menthe, verveine, badiane...sont réputées efficaces pour diminuer ou supprimer les spasmes gastro-intestinaux. Il est fréquent qu'elles stimulent la sécrétion gastrique d'où les qualificatifs de (Eupeptique, Stomachique, Carminatifs), d'autres huiles essentielles (Sauge) sont Calogogues ou Cholérétique, d'autres encore sont vermifuges, c'est le cas de celles extraites de Tanaisie, Chénopode. Les conséquences qui peuvent découler de cette Eupepsie sont : amélioration de certaines insomnies et de troubles psychosomatiques divers, diminution de la nervosité. (Bruneton, 1999).

D'autres huiles essentielles comme celles de la sauge, le cyprès, la verveine ont des propriétés hormonales : la sauge a les propriétés régulatrices et favorisantes des règles car elle renferme une substance oestrogène c'est-à-dire qu'elle provoque le cycle chez la femme et la femelle des mammifères. L'essence de cyprès est un homologue de l'hormone ovarienne. La verveine comprend un puissant activateur des contractions utérines, elle est conseillée aux femmes qui rencontrent des difficultés lors de l'accouchement. Quant à l'essence d'anis, elle favorise la lactation. (Valnet, 1984)

Aussi l'essence de la lavande et d'aspic abaissent la tension artérielle (par action périphérique, en abaissant la tension superficielle du sang), l'essence de marjolaine par un mécanisme central. L'ail a également des vertus hypotensives. Alors que l'eucalyptus, le géranium et l'oignon ont des vertus antidiabétiques, des travaux ont montré que c'est grâce à sa glucokinine que l'oignon s'avère si précieux dans le diabète. (Valnet, 1984)

Par contre, d'autres huiles essentielles sont pourvues de propriétés antinévralgique et antirhumatismales par l'application locale sous forme d'émulsion, d'onguents de liniment ou de compresses. (Bruneton, 1999)

L'application des essences de lavande, de géranium et d'origan fait merveille dans le traitement des piqûres d'insectes, guêpes, moustiques, araignées... elles sont alors douées de propriété antitoxique et antivenimeuse. (Valnet, 1984)

L'utilisation par voie externe de l'essence de térébenthine provoque une augmentation de la microcirculation, une rubéfaction importante, une sensation de chaleur et dans certains cas, une légère action anesthésique local. C'est ce que l'on recherchait autrefois dans les embrocations et les onguents. Aujourd'hui encore nombreux sont les gels, les crèmes ou les pommades à base d'huiles essentielles destinées à soulager entorses, courbatures, claquages et autres algies articulaires ou musculaires. (Bruneton, 1999)

10-Toxicité des huiles essentielles

Elle est surtout relative à des erreurs ou à des excès de posologie ou bien encore à des sujets prédisposés; souvent exhibée par l'automédication pratiquée par certains utilisateurs confondant entre plante à huiles essentielles et l'huiles essentielles; l'innocuité des premières est presque toujours, un fait établi. La toxicité des seconds et assez souvent démontrée, aussi elle est accentuée par la distribution des huiles essentielles en dehors des secteurs pharmaceutiques au mépris de la législation. (Valnet, 1984)

Plusieurs huiles essentielles sont connues pour leur toxicité, c'est le cas par exemple des essences d'anéthol à action convulsivante à forte dose, il en est de même des essences de thuyone (thuya, absinthe). Notons que les essences absorbées seules comme médicaments en usage interne (aromathérapie), peuvent présenter une certaine toxicité. (Binet et Brunel, 1968)

10-1.Toxicité aigue :

En règle générale les huiles essentielles ont une toxicité aigue par voie orale faible ou très faible, le tableau.03, regroupe quelques exemples d'HE

Les mêmes observations peuvent être faites pour les constitutions des huiles essentielles. Rare en effet sont ceux qui ont une DL50 <2g/kg exemple Thuyones ($\approx 0,2$ g/kg), Pulégone (0,47g/kg), Carvacrol (0,81g/kg), Carvone (1,64g/kg). (Bruneton, 1999)

Tableau 03 : Dose létale de quelques huiles essentielles. (Bruneton, 1999)

Plantes	DL50
Anis, Eucalyptus, Girofle	2 à 5 g/kg
Camomille, Citronnelle, Lavande, Marjolaine, Vétiver	□ 5 g/kg
Basilic, Estragon, Hysope	1 à 2 g/kg
Origan, Sarriette	1,5 ml/kg
Melaleuca, Sassafras	1,9 g/kg
Wintergreen	0,9 à 1,25 g/kg
Boldo	0,3g/kg
Chénopode	0,25g/kg
Thuya	0,83g/kg
Pennyroyal	0,4g/kg
Moutarde	0,34g/k

10-2.Toxicité dermique :

Le large usage que la parfumerie et l'industrie cosmétiques font de ces huiles essentielles a suscité de très nombreux travaux sur leur éventuelle toxicité (aigue, chronique) par application locale, leur pouvoir irritant (Moutarde, Thym) les résultats de ces travaux ont conduit les organisateurs professionnelles internationales à édicter des recommandations concernant leur utilisation et/ou celle de leurs constituants (concentration maximales, évictions, formulation particulières). (Bruneton, 1999)

11-Domaine d'application des huiles essentielles

Actuellement les huiles essentielles trouvent des emplois dans trois secteurs principaux :

a)En pharmacie

Les drogues à huiles essentielles peuvent être utilisées pour leurs actions physiologiques, en particulier pour la préparation d'infusion (menthe, mélisse, verveine, camomille, fleurs d'oranges) et sous la forme galénique simple. Elles sont également utilisées pour l'obtention des huiles essentielles ou pour isolement de quelques constituants (eugénol,

anéthol, pinènes) dont certains peuvent avoir un intérêt médicamenteux (en particulier dans le domaine des antiseptiques externes) mais qui, majoritairement, sont surtout destinées à l'aromatisation des formes médicamenteuses destinées à la voie orale ou encore comme adjuvants. (Paris et al, 1981)

Il faut souligner que la majorité des constituants des huiles essentielles sont lipophiles, de ce fait, ils sont rapidement absorbés que ce soit par voie pulmonaire, voie cutanée ou voie digestive. Il convient donc d'être particulièrement vigilant (Paris et al, 1981).

S'il est évident que la plus grande prudence s'impose lorsque les huiles essentielles sont administrées par voie orale et a fortiori, en mélange, elles ne doivent pas non plus être utilisées inconsidérément par voie externe : l'agressivité de certaines d'entre elles à l'encontre des muqueuses et/ou de la peau doit inciter à ne les utiliser qu'après dilution dans un véhicule approprié. Il est impératif de ne pas laisser ces produits à la portée des enfants et il serait souhaitable qu'ils soient systématiquement délivrés dans des conditions adaptés et toujours correctement étiqueté (Bruneton, 1999).

b) En parfumerie

C'est le débouché des huiles essentielles, des concrètes absolues et autres résinoïdes fournis par ces drogues. L'industrie des cosmétiques et le secteur des produits d'hygiène sont également des consommateurs, même si le coût souvent élevé des produits naturels conduit parfois à privilégier les formulations de grande diffusion des produits synthétiques. (Bruneton, 1999)

De nombreux parfums sont toujours d'origine naturelle et certaines huiles essentielles constituent des bases de parfums irremplaçables (exemple : Rose et Jasmin). (Paris et al, 1981)

A la limite de la pharmacie et des produits d'hygiène, on notera la présence des huiles essentielles dans les préparations pour bains (bains calmants, bains relaxant) on notera qu'il y'a là une possibilité d'absorption percutanée des constituants terpéniques. (Bruneton, 1999)

c) Dans les industries agroalimentaires

Si certaines drogues sont utilisées en nature (épices et aromates), d'autres sont sous forme d'huiles essentielles ou de résinoïdes et d'oléorésine dispersés, en capsule, complexés.

Le développement de nouvelles pratiques culinaires (plats préparés, préparation surgelées industrielles, etc.), le goût pour l'exotisme, les qualités gustatives des produits d'une agriculture intensive et d'autres facteurs conduisent à une augmentation rapide de la

consommation de ces aromatisants naturels. Tous les segments alimentaires sont consommateurs : boissons, confiseries, produits laitiers, produits carnés, sauces, soupes, snacks, produits de boulangerie, sans oublier la nutrition animale (Paris et al, 1981).

Depuis le début des années quatre-vingt, la part du naturel dans l'aromatization des produits alimentaires ne cesse de croître aux dépens des compositions aromatiques de synthèse. A côté des dérivés de transformations des fruits, les huiles essentielles ont vraisemblablement encore une marge de progression prévisible des produits néonaturels (produits de fermentation et de bioconversion) (Bruneton, 1999).

12-Facteurs de variabilités des huiles essentielles

a) Influence du cycle végétatif

La composition des essences peut changer selon l'âge et l'époque de la végétation. (Paris et al, 1981). Guinard, (1996) Aussi, pour une espèce donnée, la proportion des différents constituants d'une huile essentielle peut varier tout au long du développement, ainsi les variations parfois très importantes sont observées chez ces espèces : fenouil, carotte, coriandre (chez cette dernière la teneur en linalol est de 50% plus élevé chez le fruit mûr que chez le fruit vert) (Bruneton, 1999).

b) Influence des facteurs extrinsèques

De façon générale il s'agit de l'incidence des facteurs climatiques, la nature du sol et des pratiques culturales. (Guinard, 1996) La température, l'humidité relative, la durée totale d'insolation et le régime des vents exercent une influence directe, surtout chez les espèces qui possèdent des structures histologiques de stockage superficielle (poils sécréteurs de lamiaceae) (Bruneton, 1999).

Lorsque la localisation est plus profonde, la qualité est beaucoup plus constante. (Bruneton, 1999) quelques exemples illustrent cette influence des facteurs extrinsèques :

- La composition chimique de l'essence de *micromeria fruticosa* est largement affectée par la variation saisonnière. Ainsi, durant les mois d'été, la pulégone forme 80% de l'huile essentielle, cependant, en hiver le niveau de cette dernière baisse d'une façon dramatique à un pourcentage minime, c'est l'isomenthol qui prend le dessus jusqu'à constituer 80% du totale de l'huile essentielle; (Dubai et al, 2001)
- Chez *laurus nobilis L*, la teneur en huile essentielle des feuilles exposées au Sud est plus importante que celle des feuilles exposées au nord.

- Chez la menthe poivrée, les jours longs et les nuits tempérées conduisent à des rendements en huile essentielle plus élevés et à une augmentation de la teneur en mentofuranne. A contrario, les nuits froides favorisent la formation de menthol. (Bruneton, 1999)

En règle générale, un climat sec est ensoleillé favorise la formation des huiles essentielles. Les principales familles à essences sont méditerranéennes (Lamiacées, Rutacées, Myrtacées,...) ou des régions chaudes (Térébinthacées,...) (Guinard, 1996).

Les pratiques culturelles sont également déterminantes sur le rendement et la qualité du produit final. L'apport d'engrais et l'influence des variations N.P.K ont été étudiés pour diverses espèces. L'expérience montre qu'il n'y a pas de règle générale applicable dans tous les cas. Un autre élément fondamental est le régime hydrique. Là encore, toute généralisation s'avère hasardeuse (Dubai et al, 2001)

c) Influence du procédé d'extraction

La labilité des constituants des huiles essentielles explique que la composition du produit obtenu par l'hydrodistillation soit, le plus souvent, différente de celle du mélange initialement présent dans les organes sécréteurs du végétal. Au cours de l'hydrodistillation, l'eau, l'acidité et la température peuvent induire l'hydrolyse des esters mais aussi des réarrangements, des isomérisations, des racémisations, des oxydations, etc. il faut aussi évoquer, parmi les facteurs qui influent sur la composition, l'incidence de l'état de la matière première : chez certaines *lamiaceae*, un stockage de 24 heures suffit pour induire des changements sensibles de composition lesquels peuvent d'ailleurs être souhaités il faut enfin signaler que la cinétique de distillation n'est pas la même pour tous les constituants d'une huile essentielle (carbures, alcools, cétones etc.) : la composition du distillat varie en fonction du temps. On voit donc l'importance qu'il y a, pour assurer la qualité du produit et sa constance, à étudier, définir et contrôler l'ensemble des paramètres, de la culture à l'élaboration du produit final (Bruneton, 1999).

La composition chimique des huiles essentielles varie aussi durant la conservation (d'où la nécessité de les conserver dans des flacons bien bouchés, à l'abri de la lumière, et de les renouveler chaque année) (Paris et al, 1981).

13-Méthodes d'identification des huiles essentielles

La détermination de la composition chimique des huiles essentielles est une étape importante. Elle demeure une opération délicate nécessitant la mise en œuvre de divers techniques tel que les méthodes chromatographiques et spectrométriques.

13-1. La chromatographie en phase gazeuse (CPG)

La CPG est une méthode d'analyse par séparation qui s'applique aux composés gazeux ou susceptibles d'être vaporisés par chauffage sans décomposition. Les progrès technologiques réalisés dans le domaine des colonnes capillaires, des phases stationnaires et des détecteurs ont contribué à rendre la CPG incontournable pour la caractérisation des huiles essentielles.

Le chromatographe en phase gazeuse est constitué de trois modules : un injecteur, une colonne capillaire dans le four et un détecteur (Figure 11). Le mode d'injection le plus répandu est l'injection en "*split*" ou injection avec "division de flux", il est utilisé pour l'analyse de solutions concentrées. L'injection se fait à haute température. L'échantillon est rapidement introduit dans l'injecteur où il est instantanément vaporisé et mélangé au gaz vecteur (hélium, azote, argon, ou hydrogène). Une électrovanne permet de régler le débit de fuite. Ce procédé permet de faire en sorte qu'une fraction importante du flux gazeux soit évacuée, diminuant ainsi la quantité d'échantillon qui pénètre dans la colonne et évitant de saturer la phase stationnaire (Bouchonnet et Libong, 2002).

Le four contient l'élément clé de la séparation chromatographique de la colonne analytique. Cette colonne peut être de deux types : colonne remplie ou colonne capillaire.

Dans le cas des huiles essentielles, les colonnes capillaires semblent les plus adaptées ; elles sont en métal, en verre ou le plus souvent en silice fondue. Les substances de l'échantillon traversent la totalité de la colonne où est placée la phase stationnaire.

Les constituants d'un mélange sont séparés en fonction de leur polarité si la phase stationnaire est polaire, ou de leur volatilité si cette dernière est apolaire. Leurs différences de propriétés physicochimiques, leur confèrent des vitesses d'élution et ils sont donc séparés en fonction du temps. Ils arrivent à l'extrémité de la colonne, ils sont alors détectés et enregistrés. La chromatographie en phase gazeuse permet donc de séparer un mélange gazeux complexe par succession continue d'équilibre entre phase mobile gazeuse et phase stationnaire (Besombres, 2008).

Le développement des phases stationnaires et de la CPG multidimensionnelle, a permis de surmonter certaines difficultés rencontrées dans la séparation et l'identification des composés des huiles essentielles. Ainsi, la CPG bidimensionnelles (CPG/CPG), mettant en ligne deux colonnes capillaires, permet la séparation, l'identification et la quantification de composés minoritaires pouvant Co-éluer avec les composés les plus abondants. L'échantillon est injecté dans la première colonne, puis les composés qui Co-éluent sont transférés dans une deuxième colonne pour être séparés (Paolini, 2005).

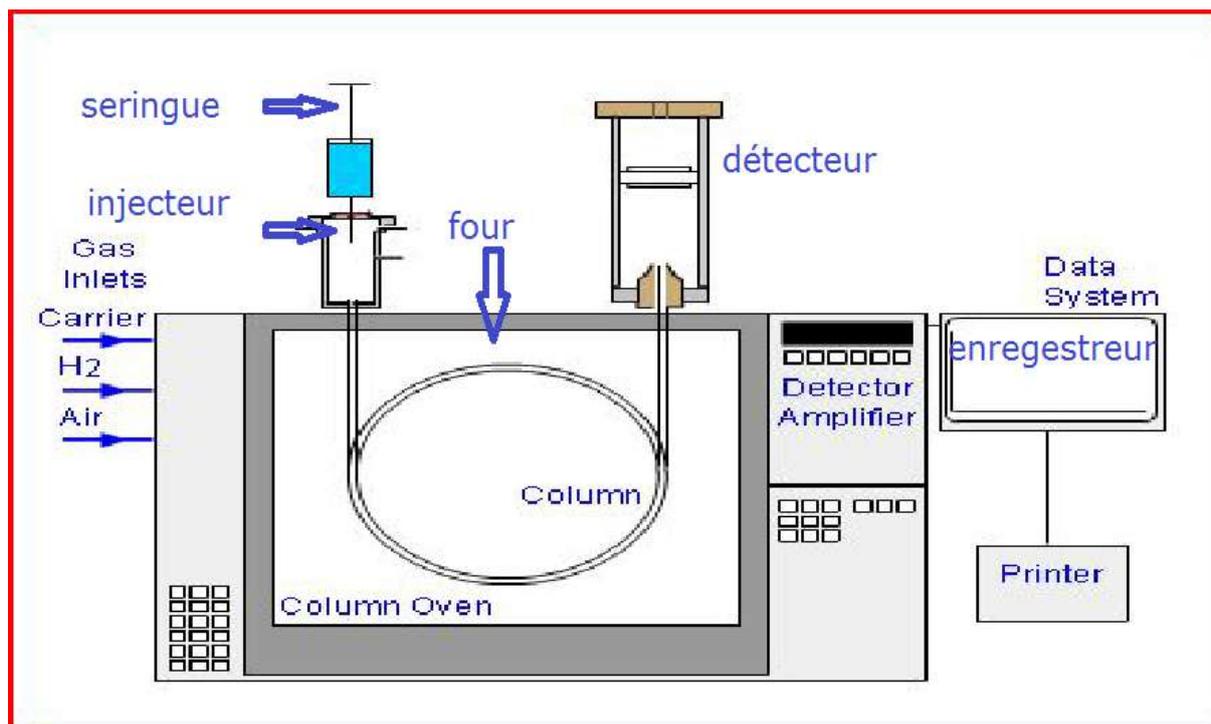


Figure 11 : Principe de la chromatographie en phase gazeuse (Besombes, 2008)

13-2. La spectrométrie de masse (SM)

Le spectromètre de masse, permet l'identification et la quantification des composés. Il existe de nombreux types de spectromètres de masse ; tous ont en commun trois éléments : Une source, un analyseur et un détecteur. La source est la partie du spectromètre de masse où sont produits des ions gazeux à partir des molécules introduites. En couplage avec le chromatographe en phase gazeuse, où les composés sont élués arrivent au spectromètre à l'état gazeux, les sources utilisées sont dites à "impact électronique" (IE) ou à "ionisation chimique" (IC). La source est maintenue à une température élevée (généralement comprise entre 100 et 250°C) pour éviter la condensation des substances (Bouchennet et Libong, 2002).

Les ions sont ensuite dirigés vers la partie analytique de l'appareil. Dans le spectromètre de masse, les ions sont séparés selon leur ration «masse/Charge», à l'aide d'un champ magnétique ou électrique (Besombes, 2008). Le faisceau d'ions ayant traversé l'analyseur de masse est détecté et transformé en un signal utilisable.

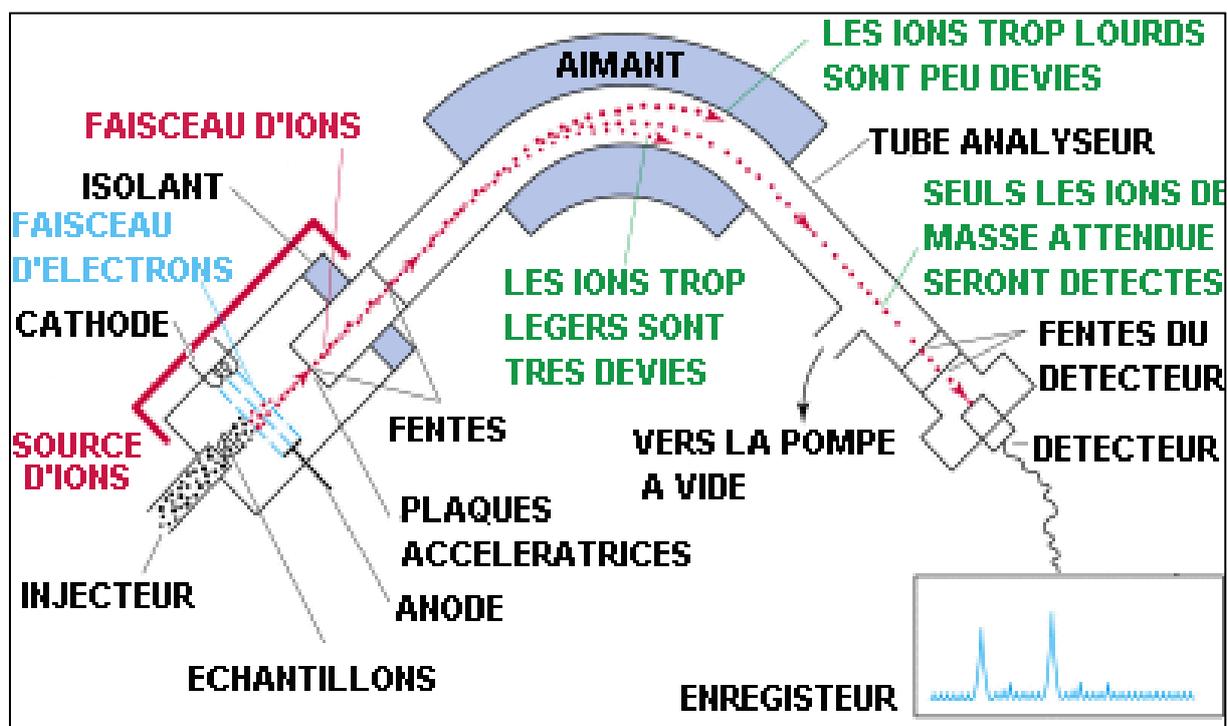


Figure12 : Principe de la spectrométrie de masse

13-3.Couplage (GC-MS)

Le couplage chromatographie en phase gazeuse – spectrométrie de masse, est aujourd'hui une des techniques les plus utilisées de la chimie analytique. L'association des deux techniques fournit un instrument d'analyse particulièrement performant. Le couplage CPG/SM en mode impact électronique est la technique la plus utilisée dans le domaine des huiles essentielles (Cavalli, 2002).

Le bombardement des substances par un faisceau d'électrons d'énergies de l'ordre de 70 eV, provoque leur ionisation et leur fragmentation. Les fragments ioniques positifs forment alors le spectre de masse caractéristique du composé. Les spectres de masse ainsi obtenus sont comparés avec ceux des produits de référence (Bouchennet et Libong, 2002).

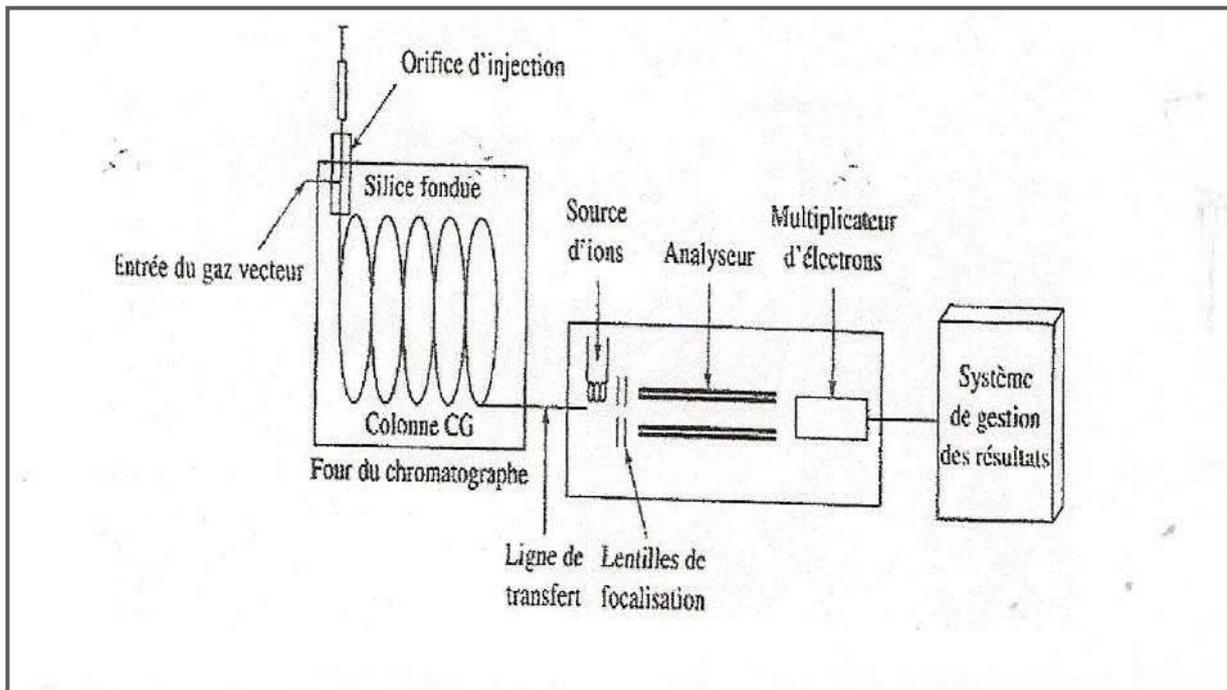


Figure13 : Schéma d'un couplage chromatographe à tube capillaire à un spectromètre de masse (Douglas et al, 2003)

MATÉRIEL
ET MÉTHODES

Matériel et méthode :

1-Matériel :

1-1- Matérielles et produits de laboratoire :

Les verreries et l'appareillage, les milieux de culture ainsi que le solvant utilisé au cours de la réalisation de ce travail sont résumés dans le tableau04 :

Tableau 04 : les matériels et les produits utilisés dans laboratoire.

verreries et appareillage	milieux de culture	Produits chimiques et solvant utilisés
Ampoule à décanter	Gélose Mueller Hinton MH	Eau physiologique
Autoclave	Gélose nutritif GN	Ether éthylique
Bain marie	Bouillon nutritif BN	Tween 80
Balance analytique	Gélose sabouraud GS	MgSO ₄
Béchers	Bouillon sabouraud BS	NaCl
Boîtes de pétri	Milieu Chapman	
Anse de platine		
Etuve		
Hydro distillateur type clevenger avec recycleur d'eau		
Pipettes pasteur, micropipettes		
 Tubes à essai		
 Les écouvillons		

1-2-Matériel végétale :

a)-Choix de la plantes :

Il s'agit d'une plantes endémique, très utilisé par la population locale en tant que plante médicinale, ainsi son étude fait partie de la valorisation des ressources naturelles locales.

b)-La récolte de plante :

La récolte des échantillons (figure14) a été effectuée aux niveaux de la région de TIMETLAS connue par son climat semi-aride au commune sidi Ahmed, daïra d'Ain El-Hadjar le sud de la wilaya de Saïda (figure15), les caractéristiques de notre plante sont motionnés dans le tableau05



Figure14: la récolte des racines de *Thapsia garganica*.

Tableau05 : origine et caractéristique du matériel végétal.

Matière végétale	<i>Thapsia garganica L</i>
Quantité de matériel végétale traité	1500 g
Lieu de récolte	Temetlas ; Saïda 34°35'09.3"N 0°08' 07.3"E
La date de récolte	Mars
Partie utilisée	L'écorce des racines
Etat	Frais

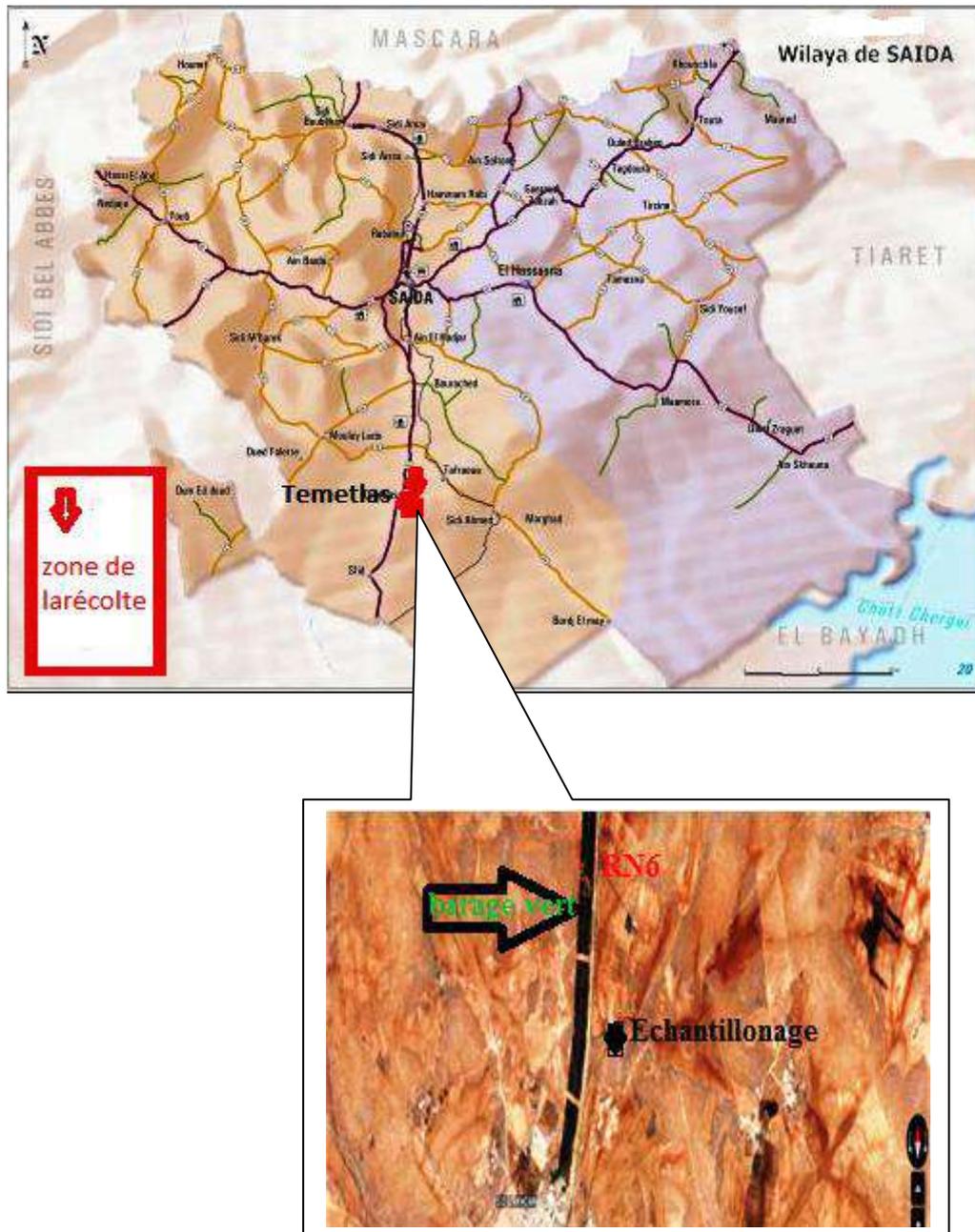


Figure15 : Présentation de la zone de prélèvement de *Thapsia garganica*.

1-3-Matériel biologique :

Les souches utilisées dans notre étude font partie de groupe des microorganismes pathogènes. Les testes sont réalisées sur cinq souches bactériennes et une souche fongique qui ont été ramenées par Mr Halla .N maître assistant de département de biologie, l'université de Saida.

Dans notre travail nous avons retenu les espèces suivantes :

a). Bactéries à Gram positif :

Staphylococcus aureus

Ce sont des coques gram positif arrondis d'environ 1 µm de diamètre, immobiles, dépourvus de spores et de capsules. Responsable de Septicémie, toxi-infection alimentaires et entérocolites aigues, inflammation locales et formation de pus et furoncles, (infection cutané-muqueuse), panaris, abcès du poumon, entérites, vulvites (inflammation de l'épithélium vulvo) (Rosenbach 1884 In Noudin et Grumbach, 2000).

***Enterococcus faecalis* ATCC 29212**

Bactérie commensale à Gram positif de la famille Enterococcaceae, elle se trouve dans le tube digestif humains et d'autres mammifères, causer des infections mortelles chez l'homme et le singe, particulièrement dans un environnement hospitalier. Elle peut aussi déclencher des inflammations chroniques de l'intestin.

b). Bactéries à Gram négatif :

***Escherichia coli* ATCC 25922**

Bacille à Gram négatif apparentant à la famille des Entérobactériaceae (Hart et Shears, 2002), hôte normale du tube digestif de l'homme et des animaux (Chakou *et al*, 2007), responsables des infections urinaires, septicémie méningite du nourrisson, de plaies opératoires et gastro-entérites (Hart et Shears, 2002).

***Klebsilla pneumonie* ATCC 700603**

Genre de bactérie, non mobiles de famille Enterobacteriaceae, capsulés avec des colonies à aspect de muqueuses. (Garbannelle et al, 1987). Il se trouve dans les matières fécales de l'homme et des animaux, elle provoque les bronchites, broncho-pneumonies, pleurésies, infections urinaires et septicémies. (Nathalie, 2006).

***Proteus mirabilis* ATCC 49452**

Bacilles à Gram négatif, mobiles de famille Enterobacteriaceae, trouvant dans le sol, l'eau d'égouts et font partie de la flore fécale normale provoquent des infections urinaires, plaies, méningites, septicémies (Beernesh et al, 1996).

c).Souche fongique :

Candida albicans

Elle provoque des infections fongiques (candidiase ou candidose) essentiellement au niveau des muqueuses digestive et gynécologique. Les candidoses sont une cause importante de morbidité chez les patients immunodéprimés comme les patients atteints du sida, les patients cancéreux sous chimiothérapie ou après transplantation de moelle osseuse. Les candidoses orales et œsophagiennes sont fréquentes chez le patient atteint de sida. Lorsque *Candida* s'infiltré dans le flux sanguin, l'infection devient systémique et on parle alors de candidémie. Les candidémies sont caractérisées par une mortalité de l'ordre de 40%. *C. albicans* peut donner également une multitude d'autres infections car il s'agit d'un pathogène opportuniste très polyvalent, il peut être responsable d'infection superficielle cutanée, causer un érythème fessier chez les nouveau-nés, une bronchopneumonie et/ou une pneumonie, une vaginite, une balanite ou être responsable d'infections profondes (Berkhout, 1923).

1-4- Les animaux de laboratoire:

Nous avons utilisé des rat blanches variétés Wistar, des sexes males, adultes, âgés de 2 mois, ayant un poids corporel compris entre 80 et 90g pour les analyses de toxicité.

2-Méthode :

2-1- Extraction des huiles essentielles de *Thapsia garganica* :

Les huiles essentielles sont des substances extrêmement puissantes, pouvant concentrées jusqu'à 100 fois certains principes actifs de la plante fraîche. Dans ce travail nous avons utilisé la méthode d'hydro distillation à l'aide d'un appareil de type clevenger pendant une durée d'extraction de trois heures. (Figure16)

a) L'hydro distillation

La matière végétale dans notre cas c'est l'écorce des racines de *Thapsia garganica* qui a été immergée directement dans un ballon rempli d'eau, placé sur une source de chaleur (Chauffe-ballon), le tout est en suite porté à l'ébullition. Les vapeurs sont condensées dans un

réfrigérant (clevenger) branché avec un recycleur d'eau et l'huile essentielle se sépare de l'hydrolat par simple différence de densité.



Figure16 : Montage de l'Hydrodistillateur. (clevenger)

b) Le relargage

Le distillat recueilli subit un relargage par l'ajout de quelques cristaux de chlorure de sodium le NaCl ayant plus d'affinité à l'eau que l'huile essentielle incite celle-ci à flotter, puisque les huiles essentielles sont moins denses que l'eau.

c) L'extraction liquide-liquide

Le distillat est ensuite transvasé dans une ampoule à décanter où l'huile essentielle est séparée de l'eau par une extraction liquide-liquide au moyen de diéthyléther (de formule brute $(C_2H_5)_2O$, température d'ébullition $34.6^\circ C$, très volatil et très inflammable). On agite vivement l'ampoule à décanter en tenant bien le bouchon, il se produit alors une surpression, on ouvre le robinet pour la dégazer (cela en la tenant renverser col bas robinet en haut), on place l'ampoule sur un support (statif + anneau) puis on enlève le bouchon et on laisse décanter après quoi on récupère la phase organique. (Figure17)



Figure17 : ampoule à décanter

d) Purification et concentration

Pour éliminer toute trace d'eau dans la phase organique on lui ajoute du sulfate de magnésium anhydre et on laisse agir pendant 15 min. après la récupération de la phase organique exempte d'eau, est fait à l'aide d'une micro pipette et qui est constituée de notre huile plus le solvant qui sera éliminé à l'air libre.

e) Conservation des huiles essentielles obtenue

L'huile essentielle ainsi récupérée est conservée à basse température, à l'abri de la lumière dans un tube en verre opaque, hermétiquement clos pour éviter toute dégradation.

2-2- Détermination du rendement en huile essentiel :

Le rendement est défini comme étant le rapport entre la masse de l'huile essentiel obtenu et la masse de matériel végétale utilisé pour cent. Après récupération d'HE, le rendement est calculé par la méthode suivante :

$$R^{dt} \% = m / m_0 \times 100$$

R^{dt} : rendement en huile essentiel en gramme pour 100 gramme de matière végétale

m : masse d'huile essentiel récupéré en gramme

m₀ : prise d'essai du matériel végétale en gramme (AFNOR , 2000)

2-3- Tests microbiologiques :

L'activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Thapsia garganica* a été réévaluée par des essais basés sur la méthode de diffusion par disque et détermination de la concentration minimale inhibitrice.

3-3-1- Conservation des souches :

Après isolement puis pré identification, nous avons procédé à une purification des souches par des repiquages successifs dans des tubes de gélose de conservation en piqure centrale. L'incubation est réalisée dans une étuve à 37°C pendant 24 heures. Les tubes sont ensuite conservés à 6 °C ± 1. Les repiquages sont réalisés tous les 15 jours.

2-3-2- Préparation de l'inoculum :

Préparation de pré-culture

Les tests antibactériens doivent être réalisés à partir des cultures jeunes de 18 à 24 heures en phase de croissance exponentielle. Après incubation pendant 24 heures à 37°C, un deuxième repiquage est réalisé dans des boîtes de Pétri contenant de la gélose nutritive puis, incubées à 37°C pendant 18 heures.

Préparation de la suspension bactérienne

A partir des cultures jeunes sur gélose nutritive, on prélève 3 à 5 colonies bien isolées et identiques dans 5 ml d'eau physiologique stérile, on agite au vortex pendant quelques secondes. Afin d'avoir une turbidité voisine à celle de Mc farland 0,09 à 0,1 nm, pour La standardisation de la suspension de la charge de l'inoculum.

2-3-3- Etude de l'activité antibactérienne :

Pour évaluer l'activité antimicrobienne de l'huile de *Thapsia garganica* , nous avons adopté la méthode de diffusion sur milieu gélosé en utilisant des disques stériles en cellulose, appelée aromatoigramme. Elle repose sur la diffusion du composé antimicrobien en milieu

solide dans une boîte de Pétri, avec création d'un gradient de concentration après un certain temps de contact entre le produit et le microorganisme cible. L'effet du produit antimicrobien sur la cible est apprécié par la mesure d'une zone d'inhibition, et en fonction du diamètre d'inhibition. La souche sera qualifiée de sensible, ou résistante. (Figure18) (Benjelalli et al, 1986).

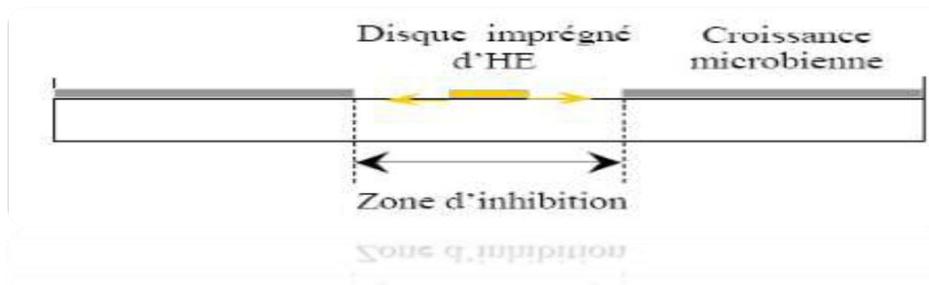


Figure18 : Schéma simplifié le principe de la méthode de l'aromatogramme.

Protocole expérimental :

➤ **L'ensemencement des souches par écouvillonnage**

A partir des tubes (pré-culture) contenant les suspensions microbiennes à testés de concentration d'environ 10^6 UFC/ml et à l'aide des écouvillons on ensemence nos souches dans des boites de pétries contenant le milieu MH avec 4 boites pour chaque souche (Figure19).

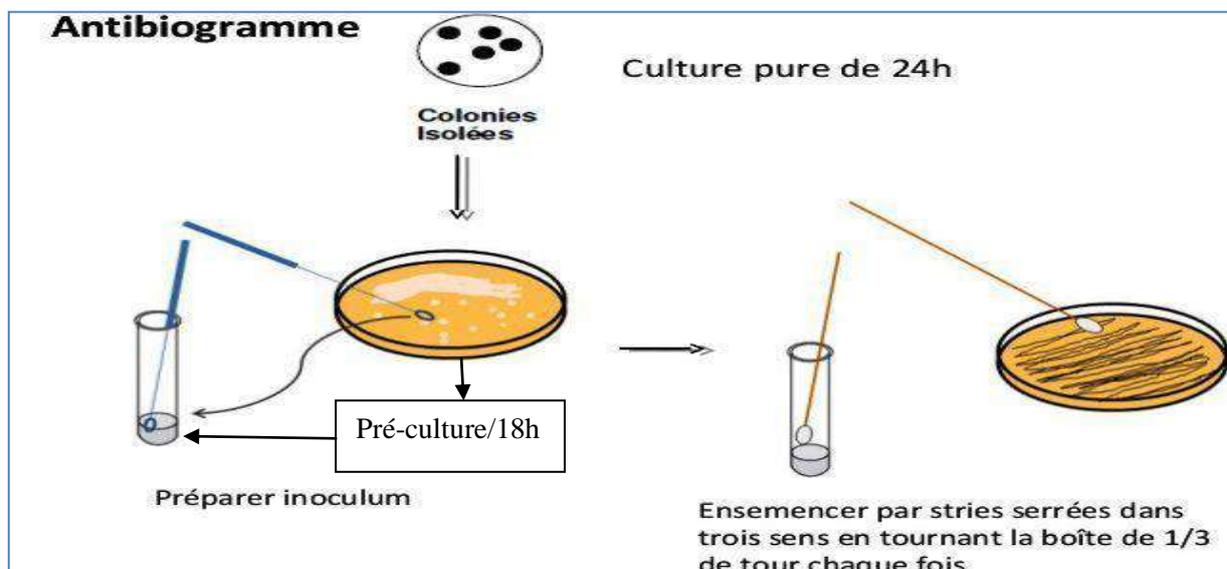


Figure19 : schéma représente la méthode d'écouvillonnage.

➤ **Préparation des dilutions d'huile essentielle :**

La non-miscibilité des huiles essentielles dans l'eau exige l'utilisation d'un émulsifiant pour assuré la dispersion homogène, pour notre travail nous avons utilisé tween 80 au raison de (H.E) 1/9 (tween).

Pour obtenir les différentes concentrations de l'huile essentielle de *Thapsia garganica*, on prend cinq tubes d'eau distillé stérilisé (quatre pour les concentrations plus un tube témoin), les concentrations sont récapitulées dans le Tableau06

Tableau06 : les concentrations préparées

Concentration	1/250	1/500	1/1000	1/2000
H.E/ eau distillé et stérilisé	4µl/ml	2µl/ml	1µl/ml	0,5µl/ml

➤ **Dépôt de disques**

A l'aide d'une pince stérile, on prend le disque de cellulose stérile (disque de papier filtre Watman de 6 mm de diamètre) et on l'imbibe dans huile dilué d'une façon qu'on mettant en contact le bout du disque, celui-ci va absorber progressivement l'huile jusqu'a imprégnation totale. Ce dernier est soigneusement déposé sur la surface de la gélose à l'aide d'une pince stérilisée au bec benzène (trois disques pour chaque concentration, plus un disque témoin trempé dans l'eau distillée stérilisée). Les boites de Pétri sont ensuite fermées et laissées diffuser à température ambiante pendant 30 mn, puis mises en étuve à une température de 37 °C pendant 24 heures pour les souches bactériennes ,et 48 heures pour levure .

➤ **Lecture**

La lecture se fait par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition autour de chaque disque. Les résultats sont exprimes par la moyenne des diamètres des trois disques

2-4- Teste de toxicité:

Notre analyse biologique est basée sur l'évaluation (*in vivo*) de la toxicité aigue et subaiguë, et la recherche d'effet biochimiques (TGO, TGP, urée, créatine, triglycéride et

cholestérol ainsi glycémie) des différentes doses de l'huile essentielle, ainsi la solution issue du décoction des racines de *Thapsia garganica*, , administrées par voie orale aux rats Wistar.



Figure20 : rat WISTAR.

2-4-1-L'élevages des rats :

Les rats sont élevés dans des cages tapissées d'une litière renouvelable trois fois par semaine. Ils sont nourris d'un aliment complet sous forme des granules de types "EL AALF".

2-4-2-Répartition des lots des rats:

Notre étude est réalisée sur 5 rats wistar (males) réparties en lots (Tableau07) (Figure 21)

- Un lot témoin (**RT**)
- Deux rats Pour toxicité subaiguë : traités par l'huile essentielle pendant 10 jours, qui reçoivent chaque jour par la voie orale une dose de $10\mu\text{I/kg}$ pour le rat (**RH₁₀**), et $5\mu\text{I/kg}$ pour rat (**RH₅**),
- Deux rats pour la toxicité aigue reçoit une seule dose de 3ml de la solution issue de la décoction des racines (**RD**), l'autre(**RH₂₀₀**) reçoit une hyper dose de $200\mu\text{I/kg}$ les rats sera sacrifié 12 heurs après.

Tableau07 : la répartition des lots des rats témoins expérimentaux

	Lots	Effectifs	poids	Solution	Doses administrées
Témoin	RT	1	80±5	Eau de robinet	*****
Toxicité aigue	RD	1	80±5	Le décocté des racines	10ml/kg. PC
	RHe200	1	80±5	HE	200µl/kg.PC
Toxicité	RHe10	1	80±5	HE	10µl/kg. PC
sub- aigue	RHe5	1	80±5	HE	5µl/kg. PC



Figure 21 : photos correspondant les différents lots des rats

2-4-3-Prélèvement sanguin

A la fin de la période du traitement, les rats sont mis à jeun pendant une nuit. Ils sont sacrifiés le matin par décapitation le sang a été immédiatement recueilli dans des tubes héparines.

Le sang collecté dans des tubes héparines et immédiatement centrifugé et destiné au dosage des paramètres biochimiques

2-4-4-Analyse biochimique

L'analyse biochimique réalisée au cours de notre travail comporte le dosage des paramètres biochimiques. Toutes les dosages ont été effectuées au niveau du laboratoire d'analyses médicales l'hôpital AHMED MEDAGHERI, Saida.

➤ **Dosage des transaminases**

Les transaminases sont dosées, comme les lipides, par une méthode colorimétrique enzymatique (auto-analyseur INTEGRA 400), selon la méthode de Reitman et Frankel (1957).

L'alanine aminotransférase (ALAT), connue sous le nom de transaminase glutamiqueoxaloacétique (TGO) et l'aspartate aminotransférase (ASAT), connue aussi sous le nom de transaminase glutamique-pyruvique (TGP) sont des transaminases catalysant le transfert de la fonction amine entre les acides aminés et les acides α -cétoniques selon les réactions suivantes :

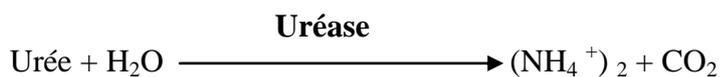


Le pyruvate ou l'oxaloacétate ainsi formés, sont dosés sous forme de leur dérivé 2,4 dinitrophénylhydrazone, qui donne en milieu alcalin une coloration lisible à 505 nm proportionnelle à l'activité TGO ou TGP.

➤ **Dosage de l'urée :**

Le dosage de l'urée a été réalisé par la méthode enzymatique colorimétrique selon la Fiche technique du Kit Spinréact (Espagne).

Principe : l'uréase hydrolyse l'urée en ammonium (NH_4^+) et dioxyde de carbone (CO_2). Les ions ammonium formés réagissent avec le salicylate et l'hypochlorite en présence du nitroprussiate, pour former un indophénol vert selon les réactions ci-dessous :



L'intensité de la coloration est directement proportionnelle à la concentration de l'urée dans L'échantillon (Kaplan, 1984).

➤ **Dosage de la créatinine :**

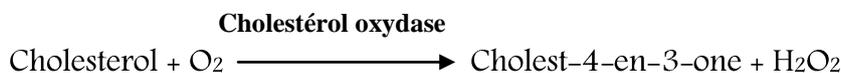
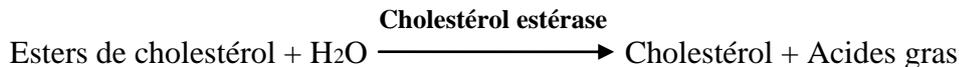
Le dosage de la créatinine a été réalisé par la méthode cinétique colorimétrique selon la fiche technique du Kit Spinréact (Espagne).

Principe : l'essai est basé sur la réaction de la créatinine avec le picrate de sodium comme décrit par Jaffé. La créatinine réagit avec le picrate alcalin formant un complexe rouge. L'intervalle de temps est choisi pour les mesures de telle sorte qu'il évite des interférences avec d'autres constituants de sérum. L'intensité de la couleur est proportionnelle à la concentration en créatinine dans l'échantillon (Murray, 1984).

➤ **Dosage du cholestérol :**

Le dosage du cholestérol a été réalisé par la méthode enzymatique colorimétrique selon la fiche technique du Kit Spinréact (Espagne).

Principe : le cholestérol et ses esters sont libérés à partir des lipoprotéines par des détergents. la cholestérol estérase hydrolyse les esters et le H₂O₂ est formé dans la réaction d'oxydation enzymatique du cholestérol sous l'action de la cholestérol oxydase. Le peroxyde d'hydrogène réagit avec le phénol pour produire le quinonéimine, selon les réactions ci-dessous :



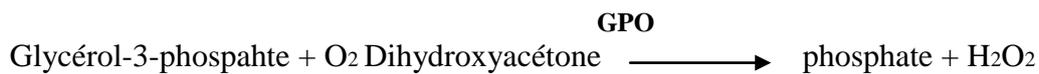
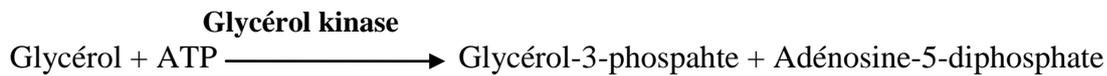
L'intensité de la coloration rouge formée est proportionnelle à la concentration du cholestérol dans l'échantillon (Naito, 1984).

➤ **Dosage des triglycérides :**

Le dosage des triglycérides a été réalisé par la méthode enzymatique colorimétrique selon la fiche technique du Kit Spinréact (Espagne).

Principe : les triglycérides incubés avec la lipoprotéinlipase (LPL), libèrent le glycérol et les acides gras libres. Le glycérol est converti en glycérol-3-phosphate (G3P) et adénosine-5-diphosphate (ADP) par la glycérol kinase et l'adénosine triphosphate (ATP). Le glycérol-3-phosphate (G3P) est alors converti par la glycérol phosphate déshydrogénase (GPO) en

dihydroxyacétone phosphate (DAP) et peroxyde d'hydrogène (dernière réaction, le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂)). Dans la réaction avec 4 aminophénazone (4-AP) et p-chlorophénol en présence de la peroxydase (POD) pour donner une coloration rouge. Le protocole comprend donc les réactions suivantes :



➤ **Dosage de la glycémie**

Principe :

Le dosage du glucose sanguin a été effectué par un glucomètre qui utilise des bandelettes réactives. Ces dernières sont destinées à un usage diagnostique in vitro pour le test de la glycémie. Elles sont conçues pour mesurer le glucose dans le sang total capillaire. La bandelette réactive contient de la glucose-oxydase, une enzyme qui oxyde le glucose dans le sang et qui produit de l'acide D-gluconique et du peroxyde d'hydrogène.

RÉSULTATS
ET DISCUSSION

Résultats et discussion :

1- Extraction de l'huile essentielle

a) Caractères organoleptiques

Les caractères organoleptiques, ainsi le rendement des huiles essentielles du *Thapsia Garganica* obtenues par hydrodistillation (Figure22) sont présentés dans le tableau 08.

Tableau08 : caractères organoleptiques de l'huile essentielle obtenue.

Plante	ASPECT	COULEUR	ODEUR	Rendement
<i>Thapsia Garganica</i>	Liquide	bleu azure	dégage une forte odeur caractéristique	0,03 %

b) Calcul de rendement :

Le rendement est exprimé en pourcentage (%) est calculé par la formule suivante :

$R\% = \frac{M_{HE}}{M_{MF}} \times 100$; la masse de l'huile essentielle sur la masse de matière fraîche en gramme.

$$R\% = 0,51500 \times 100$$

$$R\% = 0,03\%$$

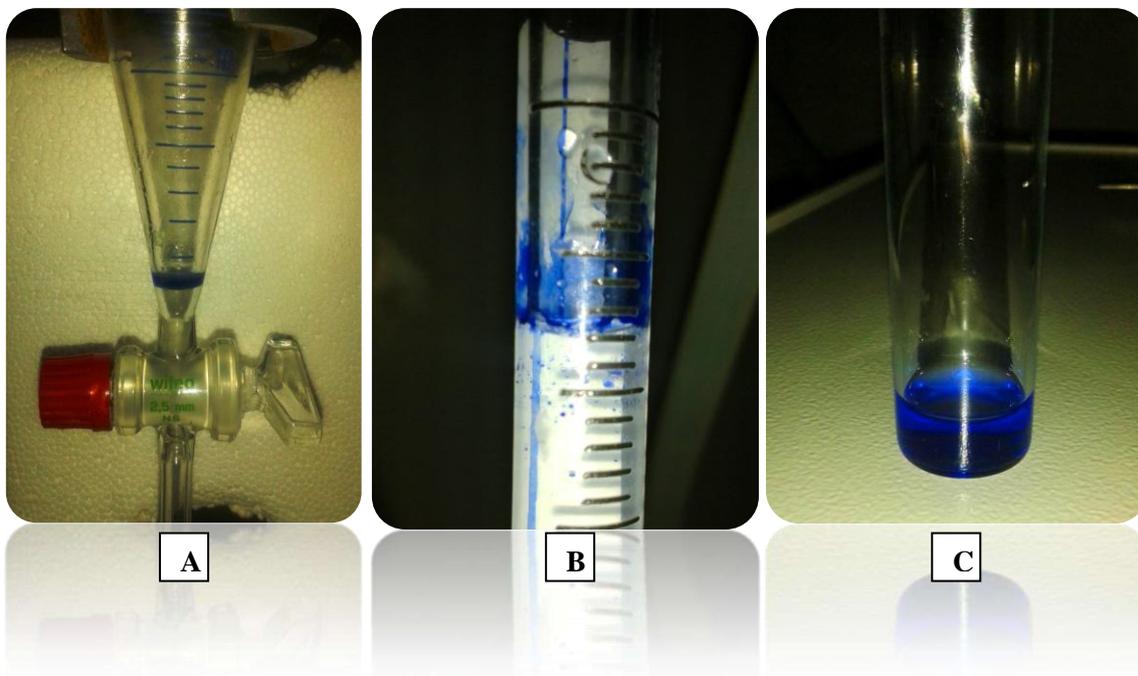


Figure22 :(A) Ampoule a décanté, (B) tube clevenger ,(C) huile essentielle du *Thapsia Garganica* obtenues par hydrodistillation

L'extraction du huile essentielle par l'hydrodistillation a montré une rentabilité très faible (0,03%) en comparant avec les travaux de (Ladjel et al, 2011) qui est de (0,2%), ce la peut être due aux différents facteurs : l'utilisation de la matériel végétale fraiche, la période de récolte, et la zone de prélèvement.

Le plus remarquable de notre résultat c'est bien la couleur bleu azure de notre huile essentielle (« azul » signifie bleu en espagnol), du nom donné en 1863 par le parfumeur Septimus Piesse a l'étrange huile bleue de son distillat de camomille. et selon Damian paul drew et al (2011) cette couleur est due de la conversion d'une molécule sesquiterpénique en azulène au cours de l'hydrodistillation.

2- Activité antimicrobienne des huiles essentielles :

L'activité antimicrobienne de l'huile essentielle du *thapsia garganica* est évaluée en fonction du diamètre d'inhibition. Ce dernier indique le pouvoir d'inhibition. Les résultats des tests sont présentés dans le tableau09

Tableau09 : résultats des tests antibactériens.

Dilutions Souches	Témoin	0,5µl/ml	1µl/ml	2µl/ml	4µl/ml
<i>Escherichia coli</i>	/	/	/	6,33 mm	7,33 mm
<i>Staphylococcus aureus</i>	/	8 mm	/	8 mm	/
<i>Klebsilla pneumonie</i>	/	/	7 mm	/	/
<i>Enterococcus faecalis</i>	/	9,33 mm	7 mm	8 mm	8 mm
<i>Proteus mirabilis</i>	/	7 mm	7 mm	7 mm	9,66 mm
<i>Candida albicans</i>	/	6,33 mm	6,66 mm	7 mm	/

/ : Absence de la zone d'inhibition ; Toutes les valeurs sont exprimées par la moyenne des trois disques.

Les résultats de test d'inhibitions bactérienne illustré dans le tableau09 montrent une variation d'activité antibactérienne en termes de diamètres d'inhibitions et en fonction de la concentration des huiles essentielles étudiées, et en fonction de la souche bactérienne.

✚ Pour la concentration 0,5µl :

C'est la **concentration minimale inhibitrice** pour *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Proteus mirabilis*, et levure *Candida albicans* avec des diamètres de 8mm, 9,33mm, 7mm, et 6,33mm respectivement, alors que *Escherichia coli*, et *Klebsilla pneumonie* (bactéries GRAM-) est résistante.

✚ Pour la concentration 1µl :

Nous constatons que Les deux souches *Escherichia coli*, et *Staphylococcus aureus* sont résistantes pour cette dilution, les autre souches ont montrés une sensibilité modéré varie entre 6,66mm, et 7mm, ainsi c'est la **concentration inhibitrice** pour *Klebsilla pneumonie* avec une zone d'inhibition de 7mm.

✚ Pour la concentration 2µl :

Une action inhibitrice contre la majorité des bactéries testées par cette concentration est observer avec des diamètres de 6,33 mm à 8 mm, seul *Klebsilla pneumonie* a résister, il est important de signaler que cette dernière est le moins sensible vis-à-vis l'huile essentielle de *thapsia garganica*.

✚ Pour la concentration 4µl :

Les diamètres d'inhibition autour des disques sont importants pour *Proteus mirabilis* allant jusqu' a 11mm, donc une action inhibitrice complète sur la croissance de la bactérie, cet résultat est comparable à celle de URIBES *et al.*, (1985) qui ont énoncé que les faibles concentrations en huile essentielle de certains Citrus ont un effet inhibiteur partiel du fait que la respiration est inhibée et la perméabilité des cellules altérée tandis que des fortes concentrations en huile essentielle provoquent des dommages membranaires sévères et une perte d'homéostasie d'où la mort cellulaire ou l'inhibition totale.

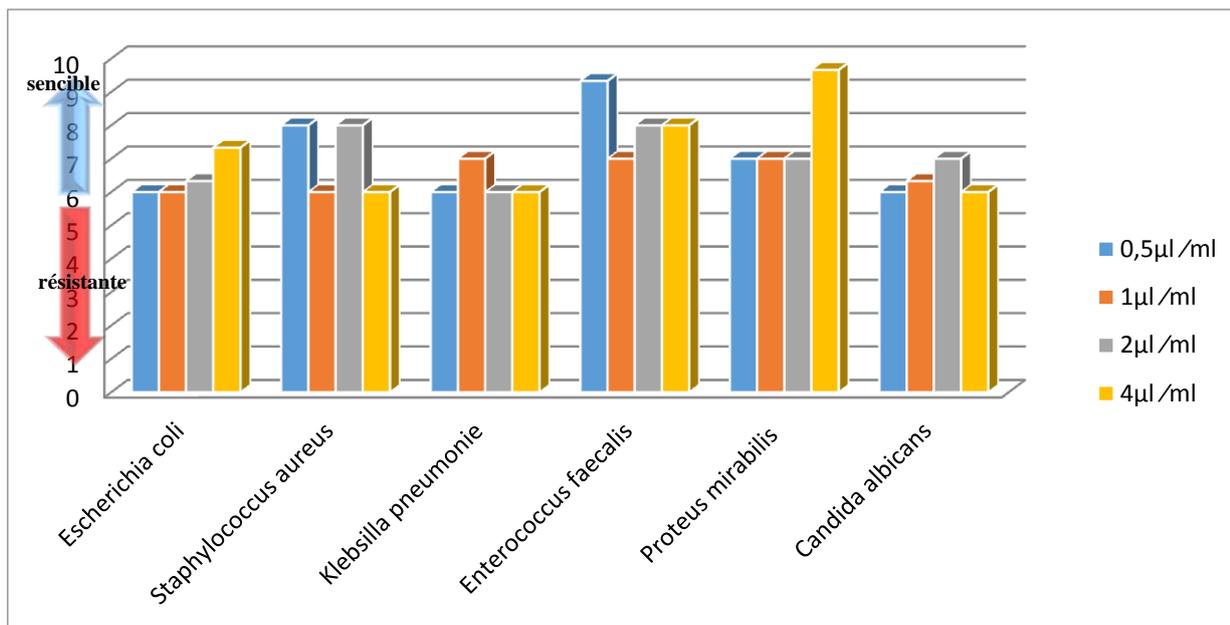


Figure23 : histogramme des diamètres des zones d'inhibitions.

Discussion :

L'étude de l'inhibition des germes par les huiles essentielles *in-vitro* est connue depuis longtemps, et jusqu'à ce jour des nouveautés apparaissent grâce aux travaux établis par des chercheurs (Tableau10), mais pour notre plantes aucun travail n'a été publiés concernant l'activité antimicrobienne.

Cependant la comparaison de l'efficacité des HE à travers les différentes publications reste difficile à réaliser, et cette difficulté réside au niveau des différents paramètres externes incontrôlables: comme la composition chimique des HE qui varie selon les conditions environnementales de la plante, même au sein d'une même espèce. Donc les activités antimicrobiennes d'une HE peuvent changer par la variation de sa composition chimique, les génotypes de l'espèce testée et les méthodes employées pour évaluer l'activité antimicrobienne (la technique de diffusion des disque sur agar ou la méthode des puits), les résultats obtenus pour chacune de ces deux méthodes peuvent être différents ; selon les conditions physiologiques des microorganismes, la période de l'exposition du microorganisme à l'HE, aux doses d'HE utilisées, le choix de l'émulsifiant pour solubiliser les HE et la spécificité de chaque souche envers l'HE. Ces facteurs entre autres peuvent expliquer parfois des résultats contradictoires des différentes études.

Les résultats obtenus pour *Staphylococcus aureus* et *Enterococcus faecalis*, avec des diamètres des zones d'inhibition de 8mm, 9,33mm respectivement, ces bactéries à GRAM positif ont montré une importantes sensibilité avec une CMI de 0,5µl qui reste une faible concentration. Les germes à GRAM négatif *Escherichia coli*, et *Klebsilla pneumonie* avec une zone d'inhibition de 7,33 mm, et 7mm et une CMI de 4µl pour *Escherichia coli* , et une concentration de 1µl comme la seule concentration inhibitrice pour *Klebsilla pneumonie* . Selon (Poole, 2001 ; Burt, 2004 ; Busatta *et al*, 2008), la grande résistance des bactéries à Gram (-) aux H.E est liée en partie à la complexité de l'enveloppe cellulaire de ces microorganismes qui contient une double membrane, contrairement à la structure membranaire simple des bactéries à Gram (+).

L'exception dans notre étude est celle de la souche *Proteus mirabilis* qui présente une forte sensibilité malgré qu'elle fait partis des bactéries à Gram (-), cela peut être expliqué par la composition membranaire de cette souche et /ou le mode d'action de notre HE qui est encore mal connu dans l'absence de travaux de recherche cernant l'activité antibactérienne et antifongique de l' HE de *Thapsia garganica*.

Tableau10 : exemple de l'activité antimicrobienne du HE de quelques plantes médicinales selon des travaux antérieurs

Plantes	Dose HE µl/ml	Les souches microbiennes						Auteurs
		E.coli	<i>Klebsilla pneumoni</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Enterococcu s faecalis</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Candida albicans</i>	
<i>Mentha pulegium L</i>	50µl	9mm	/	15mm	/	/	25mm	lahrech 2010
<i>Saccocalyx satureioide</i>	50µl	32mm	/	17mm	/	/	Abs des colonies	
<i>Inula viscosa</i>	125µl	9.5mm	6mm	6mm	/	/	/	kheyar et al 2014
<i>Salvia officinalis</i>	125µl	6mm	6mm	7.5mm	/	/	/	
<i>Laurus nobilis</i>	125µl	6mm	6mm	6mm	/	/	/	
<i>Laurus nobilis L</i>	Pure	9.2mm	/	/	10.2mm	7.9mm	/	Goumni et Salhi 2013

3-Test de la toxicité :

La toxicocinétique des huiles essentielles est difficile à établir. En effet, si l'on peut étudier et décrire les effets biologiques et/ou pharmacologiques d'un monoterpène ou sesquiterpène pur, il est difficile (voire impossible) de parler de pharmacologie, pharmacocinétique ou de métabolisme d'une huile essentielle, c'est-à-dire d'un mélange d'une centaine de composés. (Bruneton, 1993)

Le traitement des rats par l'HE de *Thapsia garganica* n'a produit aucun signe apparent de mortalité, Pendant la période de traitement, les rats traités n'ont pas été influencés par rapport à celle des rats témoins. Le régime n'a pas changé et les rats ont maintenu un appétit normal.

Le tableau 11 et les figures (24-27) illustrent les résultats des paramètres biochimiques sanguins des rats témoins RT et traités RH₅ RH₁₀, RH₂₀₀ et RD.

Tableau11 : les paramètres biochimiques des testes de la toxicité

	Paramètres	RT	Subaiguë		Aigue	
			RH ₅	RH ₁₀	RH ₂₀₀	RD
Hépatique	TGO □ (UL)	14,73	82	22,01	8,58	62
	TGP □ (UL)	115	59,5	76,86	144	229 ,5
Rénal	Urée (g/L)	0,15	0,35	0,22	0,33	0 ,36
	Créatine □(g/L)	3,59	3,73	3,94	3,65	3,9
Lipidique	Cholestérol (g/L)	0,47	0,47	0,45	0,46	0,61
	Triglycéride (g/L)	0,87	0,24	0,16	0,84	0,46
	Glycémie (g/L)	1,03	0,27	0,15	0 ,62	0,19

□ analyses répéter deux fois.

a)-Les paramètres hépatiques :

TGO L'aspartate aminotransférase (AST) et TGP l'alanine amino transférase (ALT) sont deux enzymes pour lesquelles les tests sont régulièrement pris ensemble pour constater les possibles lésions au foie. Une concentration élevée de l'AST peut être Provoquée par des lésions dans d'autres parties du corps, mais l'ALT est plus spécifique au foie. Les deux tests fournissent des renseignements utiles sur la fonction du foie, des Faibles niveaux de ces enzymes se trouvent normalement dans le sang, mais il y en aura une plus haute concentration si le foie est endommagé. (Tim et Alan, 2004)

Résultat

Pour toxicité subaigüe :

Le traitement des rats par l'huile essentiel au raison de 5 µl/kg, et 10µl/kg du poids corporel, pendant dix jours, montrons une augmentation de TGO, par contre le TGP a diminué en comparent avec témoin. (Figure24)

Pour aigue :

Le test de toxicité aigue des rats entraine une augmentation hautement significative des transaminases TGP de 229,5U/l pour le rat RD, et 144 pour le rat RH₂₀₀ (l'hyper dose), et une diminution significative de TGO pour RH₂₀₀, alors que le rat RD a enregistré une augmentation de 62u/l (Figure24)

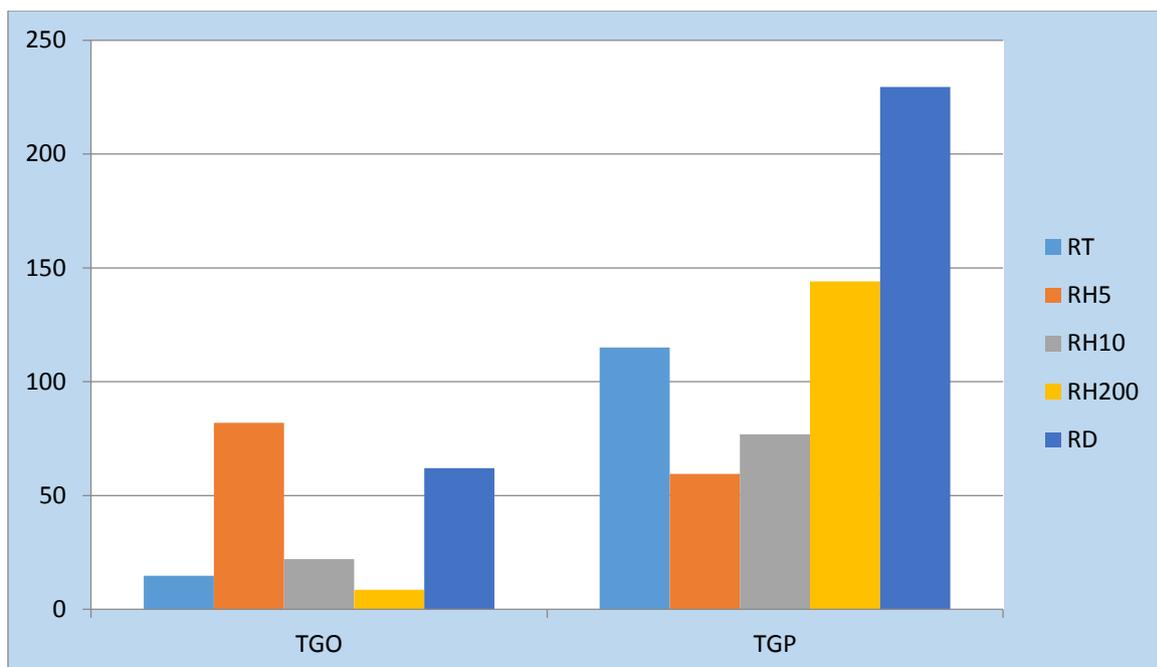


Figure24 : taux des enzymes hépatique (TGO, TGP) chez le rat témoin et les rats testées.

Discussion :

Une élévation importante des transaminases TGP supérieure à la limite des valeurs normales du laboratoire, témoigne d'une cytolyse hépatique pour le rat RT, qui peut être due à une probabilité d'intoxication de l'ensemble des rats de test bien avant les essais (aliments, eau de robinet, conditions d'élevage...).

Les résultats de TGP pour les rats du test de l'intoxication subaiguë, montrent que l'augmentation est modérée, en se basant sur l'éventuelle intoxication préexistante et sur la diminution des valeurs de TGP et en comparant avec le rat témoin, l'effet thérapeutique de notre huile exercé sur les rats peut être justifié.

Il ne s'agit pas ici d'anomalies qu'il faut rechercher pour évaluer une maladie du foie mais des conséquences de la cytolyse sur des substances qui sont dosées.

Il faut savoir que la lésion hépatique seule entraîne des modifications de taux de TGP et complique l'interprétation des anomalies qui peuvent être notées.

Par contre le TGO du rat témoin montre un taux très varié pour les rats testés. Le TGO est dépendant non seulement de l'activité hépatique mais aussi peut être causé par la cytolyse musculaire selon D. Guyader(2005), les causes en sont variées (écrasement prolongé de la masse musculaire, myopathies endocriniennes révélant notamment une hypothyroïdie, myopathies génétiques, infarctus du myocarde...) ce qui explique la variation des valeurs entre les rats.

b)-Les paramètres rénaux :

Les fonctions rénales sont mesurées par des tests de laboratoires qui comprennent l'azote uréique du sang, la créatine et l'acide urique. Les reins jouent un rôle essentiel dans l'élimination des déchets organiques et dans la régularisation de la pression artérielle. Par conséquent, tout déséquilibre dans la fonction rénale peut mettre la vie en danger. La teneur du sang en créatine est la mesure la plus répandue de la fonction rénale. (Tim et Alan ,2004)

Résultats :

Pour toxicité subaiguë :

Les résultats de taux d'urée des deux rats RH₅ et RH₁₀ montrent une augmentation légère avec des valeurs de 0.22g/l pour RH₁₀ et 0.35g/l pour RH₅ en comparaison avec le RT qu'est de 0.15g/l aussi qu'une augmentation de taux de créatinine pour les deux rats par rapport au rat témoin RT=3.59g/l, RH=3.73g/l, RH=3.94g/l (Figure25)

Pour aigue :

Les résultats de taux d'urée des deux rats RH₂₀₀ et RD montrent une augmentation très remarquable avec des valeurs de 0.33g/l pour RH₂₀₀ et 0.36g/l pour RD en comparaison avec le RT qu'est de 0.15g/l aussi qu'une augmentation de taux de créatinine pour les deux rats par rapport au rat témoin RT=3.59g/l, RH₂₀₀=3.65g/l, RD=3.90g/l (Figure25)

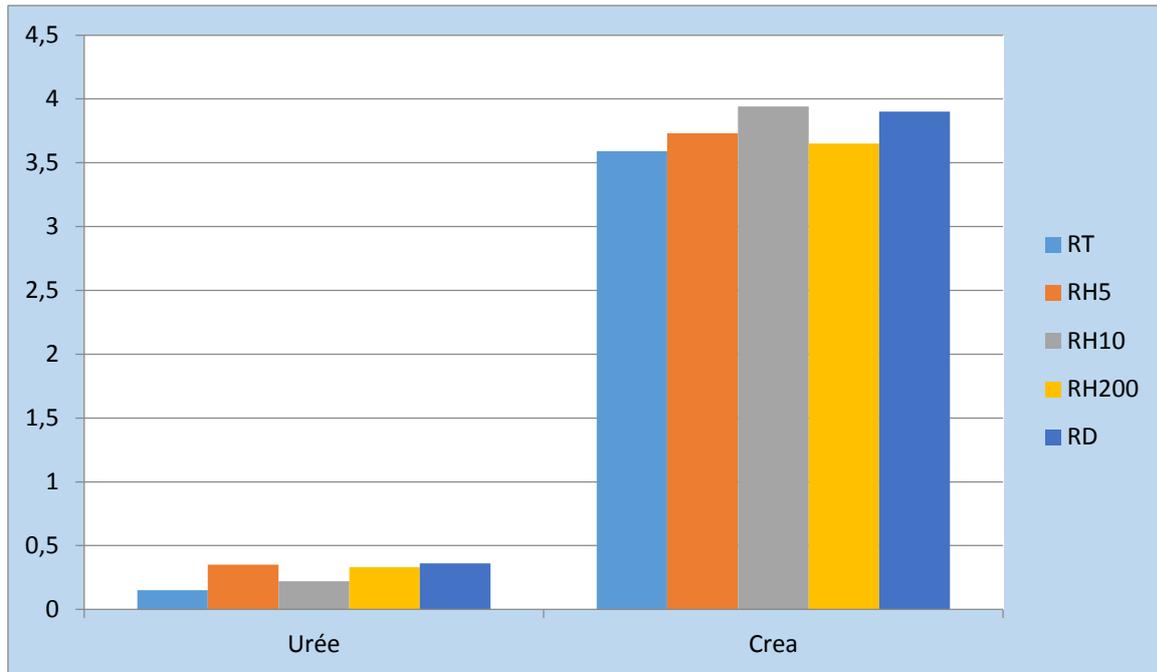


Figure25: Taux des paramètres rénaux (créa, urée) sur le rat témoin et les rats testée

Discussion

Dans notre étude, l'administration orale du HE et le décocté des racines aux rats ont provoqué des changements aux paramètres rénaux. Les résultats obtenus montrent clairement que les tests ont entraîné une altération de la fonction rénale révélée par l'augmentation des niveaux de ses marqueurs dans le sérum (urée, créatinine).

c)-Les paramètres lipidiques :

Les lipides les plus fréquemment mesurés sont les triglycérides et le cholestérol. Un taux élevé de triglycérides et de cholestérol peut être un symptôme d'artères endommagées et d'une maladie cardiaque potentielle, il s'agit de problèmes médicaux graves. (Tim et Alan, 2004)

Résultats :

Pour subaiguë :

D'après les résultats illustrés dans le tableau11 et la figure26, nous notons une diminution hautement significative des triglycérides chez le rat RH₅ de l'ordre de 0,24 et chez le rat RH₁₀ de l'ordre de 0,16g/l en revanche les valeurs du cholestérol n'ont pas été influencé par l'administration de l'huile essentielle chez l'ensemble des rats testés.

Pour aigue :

Le rat RD a montré une augmentation de cholestérol avec un taux de 0.61g/l, en comparaison avec le RT, en revanche le taux des triglycérides du rat RD est inférieur par rapport au RT avec une valeur de 0.46g/l. Le rat testé par l'hyper dose de 200µl/kg a un taux triglycéride approximative de RT avec une valeur de 0.84g/l. (Figure26)

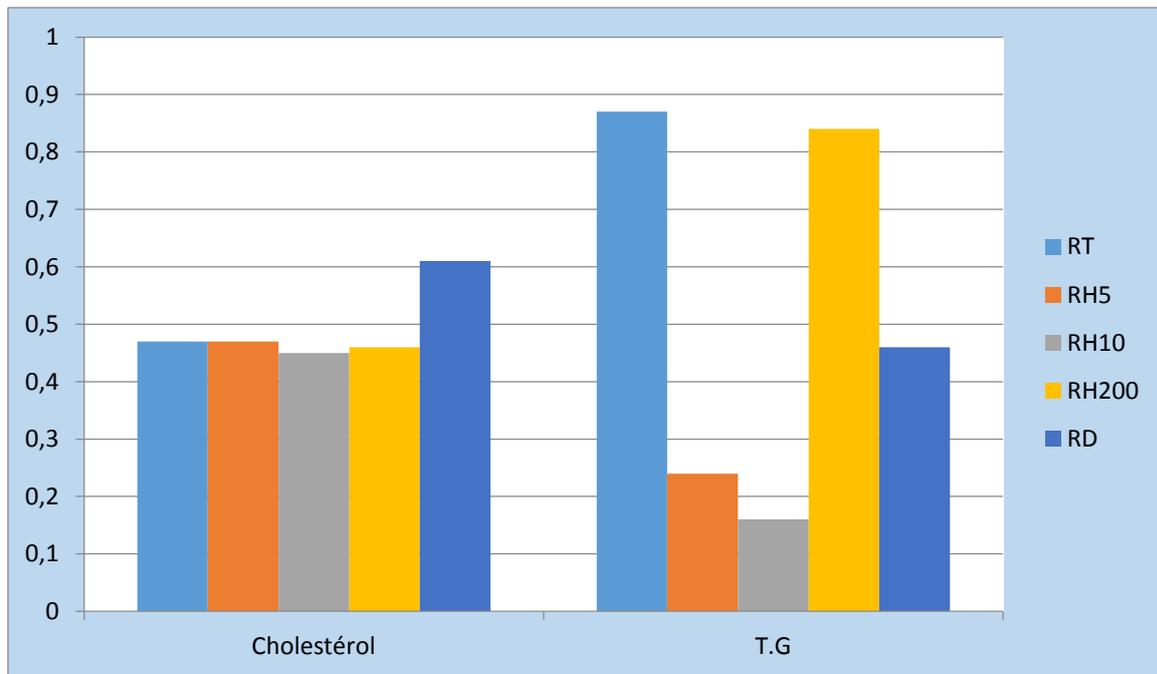


Figure26: taux de quelques paramètres lipidiques (triglycéride, cholestérol) chez le rat témoin et les rats testés.

Discussion :

Concernant les paramètres lipidiques, nous avons constaté que l'HE provoque une diminution significative des triglycérides pour les tests de toxicité subaiguë, et elle entraîne une légère augmentation du cholestérol pour le rat RD.

De ce fait, on peut dire que les tests subaigu de notre huile n'assure pas une grande modification du cholestérol ;(c'est le foie qui synthétise le cholestérol), par contre leur influence sur triglycéride est remarquable, ces résultats suggèrent que l'HE de *Thapsia*

garganica peut inhiber l'absorption intestinale de la matière grasse en inhibant son hydrolyse. Cet effet anti-obésité peut être dû aux composés actifs contenu dans l'huile essentielle.

d)-Les paramètres de glycémie :

Le glucose représente le taux de sucre dans le sang. Un taux de sucre élevé dans le sang constitue de l'hyperglycémie et celle-ci peut être l'indice du diabète. Un taux de sucre faible dans le sang s'appelle hypoglycémie et il s'agit d'une condition rare. (Tim et Alan, 2004)

Pour toxicité subaigüe :

D'après le tableau 11 et la figure 27, nous constatons qu'il y a une diminution importante des niveaux du glucose sanguin chez les rats testés en comparaison avec le rat témoin avec des valeurs de 0,27 pour RH₅, et 0,15 g/l pour RH₁₀.

Pour aigue :

La diminution est moins intense chez le rat RH₂₀₀ avec 0,62 g/l, contrairement au rat RD qui représente une valeur de 0,19g/l et qui est très inférieure à celle de témoin (Figure 27)

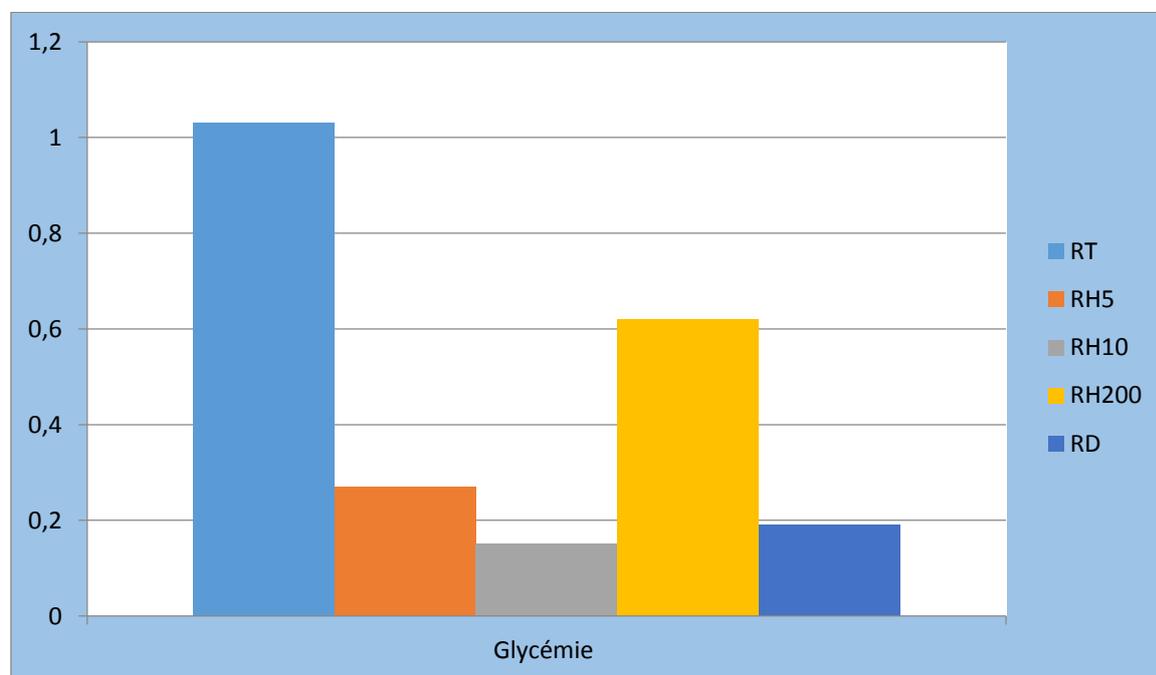


Figure 27 : taux de glycémie chez le rat témoin et les rats testés

Discussion :

Dans notre étude, les résultats indiquent que les concentrations de glucose dans le sang chez les rats testés par différentes doses d'HE sont inférieures par rapport aux rats témoins, cela peut être expliqué probablement par un effet hypoglycémiant de l'HE de *Thapsia garganica*.

D'autres parts dans certaines insuffisances hépatocellulaires majeures, des hypoglycémies peuvent survenir par atteinte de la fonction glycogénique du foie (assurant la mise en réserve du glucose et sa délivrance en dehors des repas).

CONCLUSION

Conclusion :

Notre travail sur *Thapsia garganica* est une contribution à la valorisation de nos ressources végétales locales notamment les plantes connus traditionnellement par leurs effets thérapeutiques très important.

L'huile essentielle extraite des racines de cette plante par hydro distillation possède des propriétés organoleptiques très appréciées avec une forte odeur et une couleur bleue spécifique.

La sensibilité des microorganismes vis-à-vis de notre huile essentielle est déterminée selon la méthode de diffusion sur gélose (aromatogramme) en mesurant le diamètre de l'halo d'inhibition des différentes concentrations de l'HE ; 0,5µl/ml, 1µl/ml, 2µl/ml et 4µl/ml, les résultats montrent une variation d'inhibition de la croissance des microorganismes testées selon les concentrations utilisées et la souche microbienne testée (*Staphylococcus aureus*, *E. coli*, *Enterococcus faecalis*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella*, et levure *Candida albicans*,.).

Il est important de signaler que les bactéries GRAM (+) (*Staphylococcus aureus* *Enterococcus faecalis*) sont plus sensibles à notre huile que les bactéries à GRAM (-) Selon le diamètre d'inhibition observé. Alors que la levure *Candida albicans*, dont le diamètre d'inhibition allant de 6,33 à 7 mm présente une sensibilité modéré. L'huile essentielle de *Thapsia garganica* constitue alors un excellent produit à activité antimicrobiennes.

Concernant la concentration minimale inhibitrice (CMI) obtenue est la même pour *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Proteus mirabilis*, et la levure *Candida albicans* avec des diamètres de 8mm, 9,33mm, 7mm, et 6,33mm respectivement ; CMI= 0,5µl/ml, la concentration minimale inhibitrice pour *Klebsilla pneumonie* est de µl/ml avec une zone d'inhibition de 7mm. pour *E.coli* la CMI est de 2µl/ml., En effet, le pouvoir antimicrobienne de l'huile de *Thapsia garganica* est très intéressant vue les concentrations utilisées.

Et parce que la majorité des souches microbiennes testés ont une concentration minimale inhibitrice CMI=0.5µl/ml nous sommes passé à l'utilisation de cette concentration sur les rats wistar à fin d'évaluer leur effet toxique sur les rats avec une dose de 5µl/kg du p.c pour la toxicité subaiguë aussi qu'une dose de 10µl/kg du p.c. relative à la concentration inhibitrice du *Klebsilla pneumonie*.

Pour explorer d'éventuels effets toxiques de notre HE a forte dose, deux rats ont subis un teste de toxicité aigue avec une Méga dose de 200µl/kg du p.c. pour le premier et une solution issue de la décoction des racines de notre plante pour le deuxième.

Les tests de toxicité subaiguë de l'HE d'écorce des racines de *Thapsia garganica* par voie orale ont montré qu'il est sans effet toxique sur les paramètres biologiques étudiés pour les doses testées 5µl/kg et 10µl/kg et sans aucun changement des paramètres corporels sur les rats, Ces résultat semblent être en faveur de la recommandation de l'utilisation de notre HE dans le traitement des infections intestinales causées par les germes testés.

Cependant, les résultats de la toxicité aigue montrent une perturbation des paramètres hépatiques et rénaux des rats testés révèlent une intoxication importante, donc l'utilisation abusive de *Thapsia garganica* dans la thérapie traditionnelle constitue une source potentielle d'intoxications graves.

En perspective, notre travail nécessite d'autres études complémentaires tels que:

- Faire l'extraction par la méthode « solid phase micro-extraction (SPME) » à fin d'éviter tout conversion possible des molécules induite par les méthodes classiques.
- Etudes comparative de l'HE extraite des différentes parties de la plante, ainsi l'utilisation de différentes provenances.
- Elargir le nombre des souches testées.
- Etude synergique de l'HE du *Thapsia garganica* avec d'autres huiles essentielles.
- Etude de l'effet toxique chronique d'HE pour définir la DL₅₀ et la DJA
- Etude anatomique et histologique au niveau du foie, des reins et du pancréas
- Etude de l'activité antioxydant, anti-inflammatoire et anticancéreux

RÉFÉRENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE

- **AFNOR, 2000.** Huiles Essentielles. Monographies Relatives Aux Huiles Essentielles. Tome 2. 6ième Edition. Afnor, Paris.
- **Ali H., Brogger Christensen S., Foreman J.C., Pearce F.L., Piotrowski W. & Thastrup O., 1985.** The Ability Of Thapsigargin And Thapsigarginic To Activate Cells Involved In The Inflammatory Response. Br. J. Pharmac., 85, 705-712 P.
- **Avato P, Fanizzi Fp, Rosito I ,2001** The Genus Thapsia As A Source Of Petroselinic Acid. Lipids 36: 845-50 P.
- **Avato P. & Rosato I., 2002.** Essential Oils From The Roots Of Thapsia Garganica L. Journal Of Essential Oil Research, 14(1): 20-22.
- **Battandier J., 1900.** Algérie. Plantes Médicinales. Alger, Giralt, 61 P.
- **Beernesh Buttiaux R. Et Tacquet A., 1996.** Manuel De Techniques Bactériologiques. 2ème Ed. Paris ,P572.
- **Bellakhdar J ,1978** Medecine Traditionnelle Et Toxicologie Ouest-Saharienne. Contribution L'etude De La Pharmacopee Marocaine. Edition Techniques Nord-Africaines, Rabat
- **Bellakhdar J., 1997.** La Pharmacopée Marocaine Traditionnelle. Médecine Arabe Ancienne Et Savoir Populaire. Paris, Ibis Press, 764 P.
- **Benchaara Chaouki, Henry Greatheadb, 2011.** Essential Oils And Opportunities To Mitigate Enteric Methane Emission From Ruminants. Animal Feed Science And Technology.P96-100.
- **Benjilali B. Et Zrira S., 2004,** Plantes Aromatiques Et Médicinales .Atouts Du Secteur Et Perspectives De Développement Durable .Actes Edition (Rabat).
- **Besombes C. 2008.** Contribution A L'étude Des Phénomènes D'extraction Hydrothermomécanique D'herbes Aromatiques. Applications Généralisées. Thèse De Doctorat De L'université De La Rochelle. France.
- **Binet P.Et Brunel J.P. 1968** Physiologie Végétale. Ed. Doin, Paris, Pp.774-782.
- **Bobekar Keltoum 2012,** Toxicité Aigue Et Effet Hypoglycémiant De L'extrait Ethanolique Des Graines De La Coloquinte (*Citrillus Colocynthis*) Chez Les Rats "Wistar" Mémoire De Master Université Abou Bakr Belkaid, Telemcen

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- **Bouchonnet S, Et Libong D. 2002.** Le Couplage Chromatographique En Phase Gazeuse-Spectrométrie De Masse. Département De Chimie, Laboratoire Des Mécanismes Réactionnels. Ecole Polytechnique, Palaiseau Cedex.
- **Bouchut E. & Després A., 1883.** Dictionnaire De Médecine Et De Thérapeutique Médicale Et Chirurgicale (4^e Edition). Paris, G. Baillièrre Et Cie, 1593 P.
- **Bourgoin & Beurmann , 1889.** La Thérapeutique Jugée Par Les Chiffres. In Nothnagel H. & Rossbach M.J. Nouveaux Éléments De Matière Médicale Et De Thérapeutique. Paris, Librairie J.B. Baillièrre Et Fils, 924 P.
- **Bruneton J. 1999** Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes Médicinales. 3^{ème} Edition, Ed. Tec Et Doc, Paris.
- **Bruneton J. 1999.** Pharmacognosie, Phytochimie. Plantes Médicinales. Edition Technique Et Documentation, 3^{ème} Edition Lavoisier, Paris.
- **Bruneton, J 1993,** Pharmacognosie Phytochimie Plantes Médicinales- 1993, Tec & Doc, Lavoisier, Paris, 915 P .
- **Brunton,J. 1999,** Pharmacogenosie Phytochimie Plante Médicinales. 3 Eme Edition, Tec & Doc Et Em Inter, 1120 P.
- **Burt S.A. (2004).** Essential Oils: Their Antibacterial Properties And Potential Applications In Foods. International Journal Of Food Microbiolog.

- **Cazin F.-J., 1876.** Traité Pratique Et Raisonné Des Plantes Médicinales Indigènes Et Acclimatées . Paris, P. Asselin, 1254 P.
- **Chaves A.V., Stanford K., Dugan M.E.R., Gibson L.L, Mcallister T.A.,Vvherk F. Et Benchaar C., 2008-** Effets Of *Cinnamaldehyde*, Garlic And Juniper Berry Essential Oils On Rumen Fermentation, Blood Metabolites, Growth Performance, And Carcass Characteristics Of Growing Lambs. Livest. Sci,Doi:10.1016/J.Livsci. 2007-12-13.
- **Christensen Sb, Andersen A, Smitt Uw , 1997** Sesquiterpenoids From Thapsia Species And Medicinal Chemistry Of The Thapsigargins. Fortsch Chern Org Naturst 71: 129-67
- **Croteau R., Kutchan T.M. & Lewis N.G. 2000.** Natural Products (Secondary Metabolites). In: **Buchanan B., Gruissem W., Jones R.** (Eds.), Biochemistry And Molecular Biology Of Plants. American Society Of Plant Physiologists, 1250-1268.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- **D. Guyader** **Sémiologie Biologique Hépatique** Univ-Rennes1-Poycopié Médecine M2- Sémiologie Du Foie Et Des Voies Biliaires *Version Septembre 2005*
- **Damian Paul Drew, Søren K. Rasmussen, Pinarosa Avato, And Henrik Toft Simonse 2011** A Comparison Of Headspace Solid - Phase Microextraction And Classic Hydrodistillation For The Identification Of Volatile Constituents From *Thapsia* Spp. Provides Insights Into Guaianolide Biosynthesis In Apiaceae *Phytochem. Anal.* 2012, 23 ,44– 51.
- **Denmeade Sr, Mhaka Am, Rosen Dm Et Al. 2012** Engineering A Prostate-Specific Membrane Antigen-Activated Tumor Endothelial Cell Prodrug For Cancer Therapy. *Sci Transl Med* 4: 140-86
- **Douglas,A. ;Skoog,H.F.J. ; Nieman,T.A. 2003** Principe D'analyse Instrumental., 5^{Eme} Edition, De Boeck Diffusion, 944 P.
- **Drew D.P., Rasmussen S.K., Avato P. Et Simonsen H.T., 2012.** A Comparison Of Headspace Solid-Phase Microextraction And Classic Hydrodistillation For The Identification Of Volatile Constituents From *Thapsia* Spp. Provides Insights Into Guaianolide Biosynthesis In Apiaceae. *Phytochem Anal.*, 23(1): 44-51.
- **Dubai,N. ; Larkov,O.;Putievsky,E. ;Lewinsohn,E 2001.** *Annals Of Botany.*, 88, 349-354.
- **Falsone A, Haddad H, Wendisch D 1986** Sesquiterpenelactone Triesters With Unusual Structures From *Thapsia Garganica* L. (Umbelliferae). *Arch Der Pharmazie* 319: 372-9
- **Faoliro, M.L., M. G. Miguel, 2003.** Antimicrobial Activity Of Essential Oils Isolated From Portuguese Endemic Species Of *Thymus*, *Let Appl Microbial* Vol36, P35-40.
- **Fouche J.G, Marquet A. Et Hambuckers A. 2000.** *Les Plantes Médicinales, De La Plante Au Médicament.* Observatoire Du Monde Des Plantes Sart Tilman.
- **Goumni Zahira ,SALHI Asma 2013** Etude De L'activite Antimicrobienne De L'huile Essentielle Extrait De La Plante *Laurus Nobilis* L. Mémoire Master Académique, Université Kasdi Merbah Ouargla.
- **Guinard, J.L. 1996,** *Biochimie Végétale.* Masson, Parie, 255p
- **Hadji Warda, 2013** Valorisation Des Huiles Essentielles : Cas De L'utilisation De L'huile De Cade Dans Les Eaux, Mémoire Magister Université Kasdi Merbah Ouargla.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- **Hammer, K. A., C. F. Carson Et T. V. Riley, 2003.** Antifungal Activity Of The Components Of Melaleuca Alternifolia (Tea Tree) Oil Journal Of Applied Microbiology. Vol 95, P 853-860.
- **Hammiche V , 1991** Pathologie Hivernale Et Pharmacopée Traditionnelle Dans Les Montagnes Kabyles. 3^e Séminaire National Sur Les Ressources Phytogénétiques, Alger 17–18 Juin
- **Hammiche V, Azzouz M, Merad R ,1993** Aspects Toxicologiques De La Flore D'algerie. 1^{er} Congrès Intercontinental Plantes Médicinales Et Phytothérapie, Tunis, 19-20 Mai 1993
- **Hammiche, Victoria, Merad, Rachida, Azzouz, Mohamed , 2013** Plantes Toxiques A Usage Médicinal Du Pourtour Méditerranéen, Paris, Springer Verlag France 285-288p.
- **Hart T. Et Shears P., 2002-** Atlas De Poche De Microbiologie Flammarion Médecine Sciences. Paris, P213.
- **Hastrup O, Cullen Pi, Drobak Bk Et Al. (1990)** Thapsigargin, A Tumor Promoter, Discharges Intracellular Ca²⁺ Stores By A Specific Inhibition Of The Endoplasmic Reticulum Ca²⁺-Atpase. Proc Natl Acad Sci Usa 87: 66-70
- **Helander I.M., Alakomi H.L., Latva-Kala K., Mattila-Sandholm T., Pol I., Smid E.J., Gorris L.G.M. & Vonwright A. 1998.** Characterisation Of The Action Of Selected Essential Oil Components On Gram-Negative Bacteria. Journal Of Agricultural And Food Chemistry, 46 (9), 3590-3595.
- **Hemwimon S, Pavasant P, & Shotiprux A. 2007.** Microwave-Assisted Extraction Of Antioxidative Anthraquinones From Roots Of Morinda Citrifolia. Separation And Purification Technology.
- **Hernandez-Ochoa L.R. 2005.** Substitution De Solvants Et Matières Actives De Synthèse Par Combiné « Solvant/ Actif ». D'origine Végétale. Thèse De Doctorat De L'institut National Polytechniques De Toulouse. France.
- **Isaacs Jt 2005** New Strategies for The Medical Treatment Of Prostate Cancer. Bju International Suppl 2: 35–40

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- **Khadidja Lahrech, 2010**, Extraction Et Analyse Des Huiles Essentielles De *Mentha-Pulegium L.* Et De *Saccocalyx Satureioide*. Tests D'activités Antibactériennes Et Antifongiques, Mémoire Magister, Université D'Oran Es-Sénia.
- **Liu H, Jensen Kg, Tran Lm Et Al. 2006** Cytotoxic Phenylpropanoids And An Additional Thapsigargin Analogue Isolated From *Thapsia Garganica*. *Phytochemistry* 67: 265 1-8p
- **Lucchesi M.E, Smadja J, Bradshaw S, Louw W, Chemat F. 2007**. Solvent Free Microwave Extraction Of *Elletariacardamomum*: A Multivariate Study Of A New Technique For The Extraction Of Essential Oil. *J. Food Engineer.*
- **Lucchesi M.E. (2005)**. Extraction Sans Solvant Assistée Par Micro-Ondes Conception Et Application A L'extraction Des Huiles Essentielles. Thèse De Doctorat En Sciences, Discipline: Chimie. Université De La Réunion, Faculté Des Sciences Et Technologies.
- **Lucchesi M.E. 2005**. Extraction Sans Solvant Assistée Par Micro-Ondes Conception Et Application A L'extraction Des Huiles Essentielles. Thèse De Doctorat En Sciences, Discipline: Chimie. Université De La Réunion, Faculté Des Sciences Et Technologies.
- **Merad R, Hammiche V, 1992** The Inventory Of Toxic Plants Of Algeria. *Recent Advances In Toxinology Research* 3: 7–11
- **Mounchid K., Bourjilat F., Dersi N., Abouaouira T., Rachidai A., Tantaoui-Elaraki A. And Alaoui-Ismaili M. 2005** The Susceptibility Of *Escherichia Coli* Strains To Essential Oils Of *Rosmarinus Officinalis* And *Eucalyptus Globulis*. *African Journal Of Biotechnology*, 4(10): 1175-1176.
- **Murray RI 1984** Alanine Aminotransferase. In: Kaplan La And Pesce Aj. Eds. *Clinical Chemistry: Theory, Analysis And Correlation* . St Louis. Toronto. Princeton: The C. V. Mosby Company; ; 1088-90.
- **Murray RI. 1984** Creatinine. In: Kaplan La And Pesce Aj. Eds. *Clinical Chemistry: Theory, Analysis And Correlation* . St Louis. Toronto. Princeton: The C. V. Mosby Company; A ; 1261-6.
- **Murray RI 1984**. Aspartate Aminotransferase. In: Kaplan La And Pesce Aj. Eds. *Clinical Chemistry: Theory, Analysis And Correlation* . St Louis. Toronto. Princeton : The C. V. Mosby Company; B ; 1112-116.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- **Nathalie Verbeke., 2006.** L'Aromatherapie Comme Alternative Credible A L'antibiotherapie. Préparatrice En Pharmacie, P20.
- **Nawal Kheyar, dahia meridja, kaamel belhamel, 2014.** Etude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles d'*Inula viscosa*, *Salvia officinalis* et *Laurus nobilis* de la région de Bejaia, Algerian Journal of Natural Products 2:1(2014)18-26.
- **Noudin,C. ; Grumbach,N. 2000,** Larousse Médicale. Larousse & Bardas, Paris 1203.
- **Ntezurubanza L. 2000.** Les Huiles Essentielles Du Rwanda. Laseveuqac Mémoire De Doctorat, Université, Chicoutimi, Québec.
- **Oms (Organisation Mondiale De La Santé); 2000.** Principes Méthodologiques Généraux Pour La Recherche Et L'évaluation Relatives A La Médecine Traditionnelle.
- **Paolini J. 2005.** Caractérisation Des Huiles Essentielles Par Cpg/Ir, Cpg/Sm- (Ie Et Ic) Et Rmn Du Carbone-13 De *Cistus albidus* Et Deux Asteraceae Endémiques De Corse: *Eupatorium cannabinum* sub Sp. *Corsicum* et *Doronicum Corsicum*. Thèse De Doctorat De L'université De Corse. France.
- **Paris M, Et Al 1981,** Abrégé De Matière Médicale, Pharmacogénosie. Tome I, Masson, Paris, 339 P
- **Pauli A. (2001).** Antimicrobial Properties Of Essential Oil Constituents. International Journal Of Aromatherapy **11**, 126-133.
- **Perrot E 1943-1944** Matières Premières Usuelles Du Règne Végétal. Masson, Paris
- **Pibiri M.C. 2005.** Assainissement Microbiologique De L'air Et Des Systèmes De Ventilation au Moyen D'huile Essentielle. Thèse De Doctoral. Polytechniques Fédérale De Lausanne.
- **Piochon M. 2008.** Etude Des Huiles Essentielles D'espèces Végétales De La Flore Laurentienne: Composition Chimique, Activités Pharmacologiques Et Héli-Synthèse. Mémoire De Doctorat, Université Du Québec A Chicoutimi, Canada.
- **Pottier-Alapetite G., 1979.** Flore De La Tunisie. Volume 1. Publié Par Les Soins De A. Nabli. Tunis, Ministère De L'Enseignement Supérieur Et De La Recherche Scientifique Et Ministère De L'Agriculture, 612 P.
- **Pourmortazavi S.M, & Hajimirsadeghi S.S. 2007.** Supercritical Fluid Extraction In Plant Essential And Volatile Oil Analysis, Journal Of Chromatography A.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- **Rasmussen U, Christensen SB, Sandberg F 1978** Thapsigargine Et Thapsigarginine, Two New Histamine Liberators From *Thapsia Garganica*. Acta Pharm Suee 15: 133-40
- **Roux D. 2008.** Conseil En Aromathérapie. 2ème Edition, Pro-Officina.
- **S. Ladjel, A. Zellagui And N. Gherraf, 2011** Reinvestigation Of Essential Oil Content Of *Thapsia Garganica* Grown In The East Of Algeria, RSFA Rev. Sci. Fond. App., Vol. 3 N°. 2, 30-34.
- **Soubeiran E., 1870.** Traité De Pharmacie Théorique Et Pratique. Septième Edition Entièrement Refondue Publiée Par M.J. Regnaud. Tome Second. Paris, Victor Masson Et Fils, 861 P.
- **Tim Teeter Et Alan Franciscus 2004** Fiche De Renseignements Hcsp, [Www.Hevadvocate.Org](http://www.hevadvocate.org) Visité Le 22/05/2015.
- **URIBES., RAMIREZ T., PENA A. 1985.** Effects Of B. Pinene On Yeast Membrane Functions. Journal Of Bacteriology, Pp1195-1200.
- **Valnet J. 1984** Aromathérapie. Traitement Des Maladies Par Les Essences Des Plantes. Maloine S.A. Editeur. Paris 544 P.
- **Winther A.M.L. Et Al., 2010.** Critical Roles Of Hydrophobicity And Orientation Of Side Chains For Inactivation Of Sarcoplasmic Reticulum Ca²⁺-Atpase With Thapsigargin And Thapsigargin Analogs. J Biol Chem. 285, 28883-28892
- **Wrzosek A, Schneider H , Grueninger S, Chiesi M 1993.** Effect Of Thapsigargin On Cardiac Muscle Cells. Cell Calcium 13: 281-92
- **Zhiri A. 2006.** Les Huiles Essentielles Un Pouvoir Antimicrobien Avéré. Nutra News. Science, Nutrition, Prévention Et Santé. Edité Par La Fondation Pour Le Libre Choix.

ANNEXES

Annexe n°1 : composition des milieux des cultures.

Chapman

- Chapman Peptone 10,0 g/l
- Extrait de viande de bœuf 1,0 g/l
- Chlorure de sodium 75,0 g/l
- Mannitol 10,0 g/l
- Rouge de phénol 0,025 g/l
- Agar 15,0 g pH = 7,4

Muller Hinton

- Infusion de viande de bœuf 2 g/l
- Hydrolysate de caséine 17,5 g/l
- Amidon 1,5 g/l
- Agar 17 g/l
- Eau distillée 1L, pH = 7,4

Gélose Sabouraud

- Peptone..... 10 g
- Glucose massé..... 20 g
- Agar-agar..... 15 g
- Eau distillée (qsp)..... 1 000 ml
- vitamines et facteurs de croissance
- pH = 6,0

Bouillon Sabouraud

- Peptone..... 10 g
- Glucose massé..... 20 g
- Eau distillée 1 000 ml
- vitamines et facteurs de croissance
- pH = 6,0

Gélose nutritif

- Extrait de viande 1,0g/L
- Extrait de levure 2.5g/L
- Peptone 5,0g/L
- Chlorure de sodium 5,0g/L
- Agar 15,0g/L
- Ph = 7,0

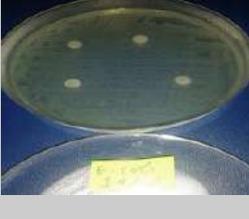
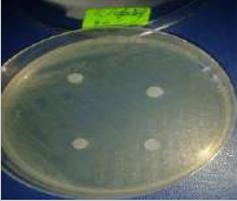
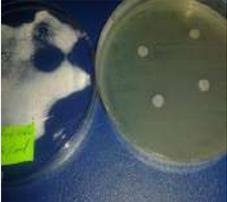
Bouillon nutritif

- Extrait de viande 1,0g/L
- Extrait de levure 2.5g/L
- Peptone 5,0g/L
- Chlorure de sodium 5,0g/L
- Ph = 7,0

Eau physiologique :

- Na cl 9g
- Eau distillé 1L

Annexe n°2 : photos des résultats des tests antimicrobiens.

Dilution	4µl/ml	2µl/ml	1µl/ml	0,5µl/ml
<i>Escherichia coli</i>				
<i>Staphylococcus aureus</i>				
<i>Klebsilla pneumonie</i>				
<i>Enterococcus faecalis</i>				
<i>Proteus mirabilis</i>				
<i>Candida albicans</i>				

Résumé

Thapsia garganica L. est une plante médicinale largement utilisée en thérapeutique traditionnelle. Elle est connue pour ses effets diurétiques, émétiques et purgatifs. L'extraction de l'huile essentielle par hydrodistillation de l'écorce des racines de cette plante a donné un rendement de 0,03%. L'activité antibactérienne des huiles essentielles a été évaluée *in-vitro* par la méthode de diffusion sur gélose contre des souches multirésistantes : *Staphylococcus aureus*, *Proteus mirabilis*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumonia*, cette dernière s'est avérée la plus résistante parmi les souches bactériennes testées. Une sensibilité légère a été enregistré avec la levure *candida albicans*. La confrontation de ces résultats *in vivo* par une intoxication aigue et sub-aigue montrent des perturbations des paramètres hépatiques (TGP allant de 59,5 U/L à 253 U/L) et (rénaux créatinine 3,59 à 3,94g/l). Les rats testés révèlent une intoxication importante a forte doses.

Mots clés : *Thapsia garganica*, huiles essentielles, extraction, activité antimicrobienne, toxicité.

Abstract

Thapsia garganica is a very famous medicinal plant known especially for its therapeutic effects such as diuretic, emetic and purgative. The extraction of essential oil by steam distillation from the root bark of this plant has a yield of 0.03%. The antibacterial activity of essential oils was evaluated *in vitro* by the agar diffusion method against multiresistant strains of *Staphylococcus aureus*, *Proteus mirabilis*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumonia*, the latter proved to be among the most resistant bacterial strains testeeds. Mild tenderness was recorded with *candida albicans* yeast. The confrontation of these results with *in vivo* acute and sub-acute poisoning show disturbances of liver parameters (TGP ranging from 59.5 to 253 U/L U/L) and (renal creatinine 3.59 to 3,94g/l). The tested rats show significant intoxication high doses.

Keywords: *Thapsia garganica*, essential oils, extraction, antimicrobial activity, toxicity.