

CENTRE UNIVERSITAIRE DE GHARDAIA
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
DEPARTEMENT DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE



Projet de Fin d'Etudes
En vue de l'obtention du diplôme de
Licence

Domaine : Sciences de la nature et de la vie

Filière : Biologie

Spécialité : Biochimie

Thème

Contribution à l'étude de l'effet biologique de
l'extrait brut des fruits de *Citrullus*
colocynthis(L.)Schard

Présenté par: HADJ DAOUD Aziza

Encadreur : HAMID OUDJANA Aicha

Année universitaire 2011/2012

DEDICACE

À mes très chers parents

Pour leurs soutiens et leurs amours infinies

À ma sœur Nassima

À mes frères Mehamed, Rostom et Otman

À toute ma famille chacun par son nom

À mes chères amies Wahiba, Karima, Messaouda, Aïcha,

Farah, Fafa, Souad, Asma, Noura, Yasmin,

Hafsa, Hadia, Siham, Rym et Amina

À celle qui est toujours dans mon cœur Keltoum,

Ce modeste travail est dédié.

HADJ DAOUD Aziza

REMERCIEMENTS

Je remercie tout d'abord ALLAH tout puissant de m'avoir donné la patience, la santé et la volonté pour réaliser ce mémoire.

Je tiens particulièrement à remercier ma promotrice, M^{me} HAMID-OUDJANA Aïcha, L'enseignante au centre universitaire de Ghardaïa pour avoir acceptée la charge d'être rapporteuse de ce mémoire, je le remercie pour sa disponibilité, ses pertinents conseils et pour les efforts qu'elle avait consentis durant la rédaction de ce mémoire.

Nous tenons à exprimer nos reconnaissances à tous nos enseignants des différents niveaux d'étude qui nous ont formés.

Mes remerciements aussi pour les membres du laboratoire du centre universitaire de Ghardaïa, et du laboratoire d'analyse médicale Ibn Rochd au Ghardaïa pour avoir réalisé les différentes analyses.

Mes remerciements à tout particulièrement aux étudiants et étudiantes de notre promotion 3^{ème} année Biochimie.

Mes remerciements à tous nos sincères remerciements et nos reconnaissances à nos parents pour tout ce qu'ils ont fait pour nous.

A toutes celles et à tous ceux qui ont participé de pré ou loin à l'élaboration de ce travail.

HADJ DAOUD Aziza

SOMMAIRE

SOMMAIRE

INTRODUCTION.....	1
-------------------	---

PREMIERE PARTIE: ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I : GENERALITES SUR LES METABOLITES SECONDAIRES

I- 1	Le monde végétal et le métabolisme secondaire	5
I- 2	Rôles biologiques	6
I- 3	La distribution dans la plante	7
I- 4	La toxicité des métabolites secondaires	8
I- 5	La structure des métabolites secondaires	8
I- 5- 1	Terpénoïdes	8
I- 5- 1- 1	Généralités	8
I- 5- 1- 2	Biosynthèse des terpénoïdes	9
I- 5- 1- 3	Les grands groupes des terpénoïdes	11
I- 5- 1- 3- 1	Monoterpènes (C10)	11
I- 5- 1- 3- 2	Sesquiterpènes (C15)	12
I- 5- 1- 3- 3	Diterpènes (C20)	12
I- 5- 1- 3- 4	Triterpènes (C30)	12
I- 5- 1- 3- 5	Tétraterpènes (C40)	12
I- 5- 1- 3- 6	Polyterpènes	12
I- 5- 1- 3- 7	Les saponosides	13
I- 5- 1- 3- 8	Les huiles essentielles	14
I- 5- 1- 4	Activité biologique des terpènes	14
I- 5- 2	Les composés phénoliques	15
I- 5- 2- 1	Généralité	15
I- 5- 2- 2	Biosynthèse	15
I- 5- 2- 3	Les principaux groupes des composés phénoliques	16
I- 5- 2- 3- 1	Formes simples	17
I- 5- 2- 3- 1- 1	Les acides phénoliques ...	17
I- 5- 2- 3- 1- 2	Flavonoïde	18
I- 5- 2- 3- 2	Formes condensés	19

	I- 5- 2- 3- 2- 1 Lignine	19
	I- 5- 2- 3- 2- 2 Tanins	20
I- 5- 2- 4	Activités biologiques	21
I- 5- 3	Les alcaloïdes	21
I- 5- 3- 1	Généralité	21
I- 5- 3- 2	Biosynthèse des alcaloïdes	21
I- 5- 3- 3	Principaux classes des alcaloïdes	22
	I- 5- 3- 3- 1 Les pseudo-alcaloïdes	22
	I- 5- 3- 3- 2 Les proto-alcaloïdes	22
	I- 5- 3- 3- 3 Les alcaloïdes vrais	22
I- 5- 3- 4	Activité biologique	23

DEUXIEME PARTIE: PARTIE PRATIQUE

CHAPITRE II : MATERIELS ET METHODES

II- 1	Principe adopté	26
II- 2	Choix du matériel biologique	26
II- 2- 1	Matériel végétal	26
II- 2- 1- 1	Description botanique de la plante <i>Citrullus colocynthis</i>	26
II- 2- 1- 2	Répartition géographique	27
II- 2- 1- 3	La composition chimique de la plante	27
	II- 2- 1- 3- 1 Les métabolites primaires	27
	II- 2- 1- 3- 2 Les métabolites secondaires	28
II- 2- 1- 4	Toxicité de la plante	28
II- 2- 1- 5	Activités biologiques de la plante	28
II- 2- 1- 6	Position systématique	29
II- 2- 1- 7	Intérêt socioéconomique	29
II- 2- 1- 8	Récolte de la plante	30
II- 2- 2	Matériel microbienne	30
II- 2- 2- 1	Bactéries	30
	II- 2- 2- 1- 1 <i>Staphylococcus aureus</i>	30
	II- 2- 2- 1- 1- 1 Définition	30

II- 2- 2- 1- 1- 2	Position systématique	31
II- 2- 2- 1- 1- 3	Habitat et transmission	31
II- 2- 2- 1- 1- 4	Caractéristiques	32
II- 2- 2- 1- 1- 5	Pouvoir pathogène	32
II- 2- 2- 1- 1- 6	Résistance aux antibiotiques	33
II- 2- 2- 1- 1- 7	Toxicité	33
II- 2- 2- 1- 2	<i>Escherichia coli</i>	33
II- 2- 2- 1- 2- 1	Définition	33
II- 2- 2- 1- 2- 2	Position systématique	34
II- 2- 2- 1- 2- 3	Habitat et transmission	34
II- 2- 2- 1- 2- 4	Caractéristiques	34
II- 2- 2- 1- 2- 5	Pouvoir pathogène et toxicité	34
II- 2- 2- 1- 2- 6	Sensibilité aux antibiotiques	35
II- 2- 2- 2	Levure	35
II- 2- 2- 2- 1	<i>Candida albicans</i>	35
II- 2- 2- 2- 1- 1	Définition	35
II- 2- 2- 2- 1- 2	Position systématique	36
II- 2- 2- 2- 1- 3	Habitat et transmission	36
II- 2- 2- 2- 1- 4	Pouvoir pathogène et toxicité	36
II- 3	Méthodes de travail	37
II- 3- 1	Méthode d'extraction des huiles essentielles	37
II- 3- 2	Etude de l'activité anti microbienne de la plante <i>Citrullus colocynthis</i>	38
II- 3- 2- 1	Les souches microbiennes testées	38
II- 3- 2- 2	Les milieux de culture	38
II- 3- 2- 3	Isolement des microorganismes	38
II- 3- 2- 4	Test de sensibilité à l'extrait brut des fruits	39
II- 3- 2- 4- 1	Antibioaromatogramme	39

CHAPITRE III: RESULTATS ET DISCUSSION

III- 1	Le rendement	41
III- 2	Etude d'activité anti microbienne	41
III- 2- 1	<i>Staphylococcus aureus</i>	41

III- 2- 2	<i>Escherichia coli</i>	42
III- 2- 3	<i>Candida albicans</i>	43

CONCLUSION	47
-------------------------	----

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	49
--	----

Résumés

Liste des figures

Figure 01 : Relation entre quelques métabolites primaires et secondaires	5
Figure 02 : Isopentényldiphosphate (IPP)	9
Figure 03 : La biosynthèse des terpènes	11
Figure 04 : Les principaux groupes de terpénoïdes	13
Figure 05 : Structure de la saponine	14
Figure 06: La voie de shikimate et au centre de la synthèse de divers métabolites	16
Figure 07: Les acides phénoliques	18
Figure 08: Structures chimiques des principales classes de composés flavonoïques	19
Figure 09: Principaux monomères constituant la lignine	19
Figure 10: la structure de l'acide gallique et l'acide ellagique	20
Figure 11: La structure de catéchine	20
Figure 12: Quelques exemples des alcaloïdes	23
Figure 13 : Les diamètres d'inhibition des souches microbiennes	44

Liste des photos

Photo 01: <i>Citrullus colocynthis</i>	26
Photo 02: Le fruit de la coloquinte entière et une coupe transversale	27
Photo 03: <i>Citrullus colocynthis</i> (Gara Tin (Berriane) ‘‘Avril 2012’’)	30
Photo 04: <i>Staphylococcus aureus</i> sous un microscope électronique	31
Photo 05: <i>Escherichia coli</i> sous un microscope électronique	33
Photo 06: <i>Candida albicans</i> sous un microscope électronique	35
Photo 07: L'appareil d'hydrodistillation	37
Photo 08: Les antibioarogrammes des souches microbiennes	39
Photo 09: Antibioarogramme de <i>Staphylococcus aureus</i>	42
Photo 10: Antibioaromatogramme d' <i>Escherichia coli</i>	42
Photo 11: Antibioarogramme de la levure <i>Candida albicans</i>	43

Liste des tableaux

Tableau 01 : Quelques exemples de localisation des métabolites secondaires dans les plantes	7
Tableau 02: Les principales classes des composés phénoliques	17
Tableau 03 : La composition phytochimique de la plante entière de <i>Citrullus colocynthis</i> exprimée en mg/100g de poids sec	28
Tableau 04 : Les résultats de l'étude d'activité antimicrobienne d'extrait brut des fruits de la coloquinte (<i>Citrullus colocynthis</i>)	43

INTRODUCTION

Le végétale se développe là où la graine a germée et développe de communiquer avec l'environnement, de se défendre, et de vivre. La cellule végétale est plus ou moins différenciée au niveau structure et elle est immobile (MERGHEM, 2009). Les métabolites secondaires, tel que les composés phénoliques, les alcaloïdes et les terpénoïdes protègent ou augmentent la résistance des plantes. Contrairement aux glucides, aux protéines, aux acides nucléiques et aux lipides, les métabolites secondaires ne sont pas essentiels à la croissance et au développement de base des plantes (NABORS, 2008).

Des recherches menées entre 1968 et 1996, sur une vingtaine des plantes ont montré des propriétés antiseptiques, bactéricides, virucides, antifongiques, antiparasitaires, anti-inflammatoires et antalgiques locales, en rapport avec la présence de groupements alcaloïdes, flavonoïdes, saponosides de tanins et composés terpéniques (MARIE et *al.*, 2006).

Aujourd'hui, les traitements à base de plantes reviennent au premier plan, car l'efficacité des médicaments tels que les antibiotiques (considérés comme la solution quasi universelle aux infections graves) décroît. Les bactéries et les virus se sont peu à peu adaptés aux médicaments et leur résistent de plus en plus. C'est pourquoi on utilise à nouveau l'absinthe chinoise et surtout son principe actif pour soigner la malaria lorsque les protozoaires responsables de la maladie résistent aux médicaments. La phytothérapie, qui propose des remèdes naturels et bien acceptés par l'organisme, est souvent associée aux traitements classiques. Elle connaît de nos jours un renouveau exceptionnel en Occident, spécialement dans le traitement des maladies chroniques, comme l'asthme ou l'arthrite. De plus, les effets secondaires induits par les médicaments inquiètent les utilisateurs, qui se tournent vers des soins moins agressifs pour l'organisme. On estime que 10 à 20% des hospitalisations sont dues aux effets secondaires des médicaments chimiques (VICAN, 2001).

Ce travail vise à étudier l'activité antimicrobienne d'extrait brut des fruits de la plante *Citrullus colocynthis*, qui appartiennent respectivement à la famille des cucurbitacées. La sélection de cette plante s'est fondée sur les critères suivants : est parmi le plus populaire plante aromatique utilisée dans les régions arides de monde entier, leur utilisation fréquente par nos populations dans le domaine de la médecine traditionnelle, d'après (SAHKI et SAHKI, 1993) en médecine traditionnelle, la pulpe du fruit traite les piqûres des scorpions et les morsures de serpents venimeux. Le fruit est également utilisé pour le traitement des furoncles, des hémorroïdes et comme purgatif. Le goudron végétal extrait des graines est utilisé pour le traitement de la gale.

Notre travail sera réparti en trois chapitres:

- Le premier chapitre relatif à l'étude bibliographique des métabolites secondaires des plantes et leurs activités biologiques.
- Le deuxième chapitre réservé à l'étude expérimentale, présente les méthodes et les techniques utilisées pour la réalisation de ce travail.
- Le troisième chapitre consacré à la présentation et la discussion des résultats obtenus.

Et Une conclusion et des perspectives achèvent la présente étude.

**PREMIERE PARTIE:
ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE**

**CHAPITRE I:
GENERALITES SUR LES METABOTES
SECONDAIRES**

I- 1 Le monde végétal et le métabolisme secondaire :

Les métabolites primaires (oses, acides aminés, lipides, acides nucléiques, etc.) sont les molécules du métabolisme de base de l'organisme. Tandis que les métabolites secondaires sont associés à des voies accessoires et jouent des rôles très variées (DANIEL *et al.*, 2010).

Ces composés ne se rencontrent pas chez toutes les espèces montre qu'ils n'entrent pas dans le métabolisme général (métabolisme primaire) : ce sont des métabolites secondaires, qui n'exercent aucune fonction directe aux niveaux des activités fondamentales de l'organisme végétal (croissance, développement, reproduction...) mais peuvent jouer différents rôles pour la survie du végétal lui même, rôle de défense, rôle de résistance (MERGHEM, 2009). (Figure 01)

Les principes actifs d'une plante médicinale sont les métabolites naturellement présents qui lui confèrent son activité thérapeutique. Ces composants sont souvent en quantité extrêmement faible en ce qui concerne les métabolites secondaires. Les plantes sont une source inépuisable de substances pharmacologiques (alcaloïdes, polyphénols, terpènes, polysaccharides, etc.) qui procurent des propriétés curatives appréciables. Ainsi, sur 252 médicaments considérés comme essentiels par l'OMS (Organisation mondiale de la santé), plus de 11 % sont exclusivement produits à partir de plantes médicinales (HAMZA, 2011).

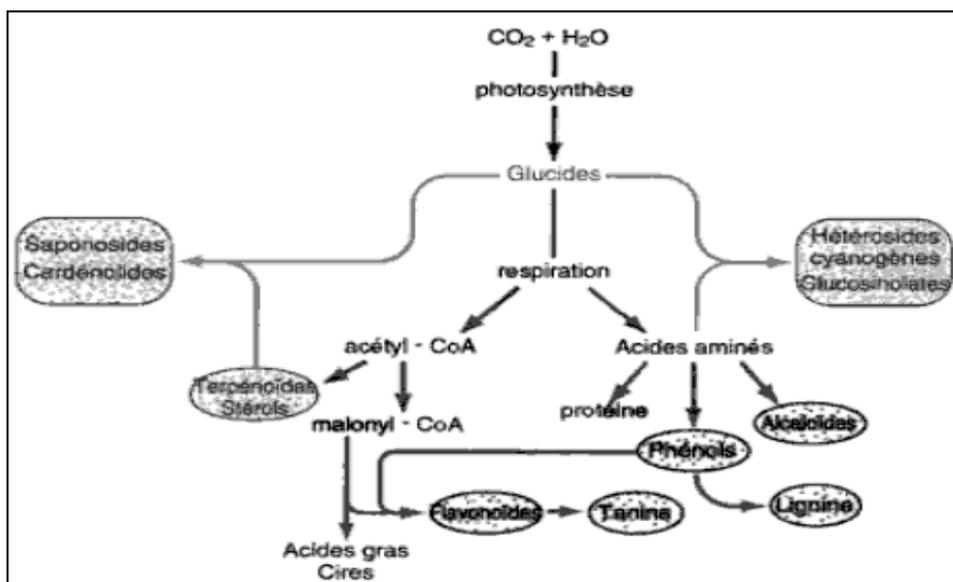


Figure 01 : Relation entre quelques métabolites primaires et secondaires

(SERGE, 2003)

C'est cette richesse en molécules très diversifiées qui permet les tentatives d'une classification chimique des végétaux ou chimiotaxonomie. Cette classification consiste à établir les corrélations entre la présence de certains types de métabolites secondaires et les entités taxonomiques (MERGHEM, 2009).

I- 2 Rôles biologiques :

Les végétaux se caractérisent par un énorme pouvoir de biosynthèse. L'animal lui possède un appareil locomoteur, ce qui permet de fuir devant l'environnement et de se déplacer (froid, soleil, recherche de nourriture) (MERGHEM, 2009).

Les dispositions d'un végétal à élaborer certains principes secondaires dépendent de deux groupes de facteurs : d'une part les facteurs intrinsèques, c'est-à-dire le caractère héréditaire propre à une espèce ou à une lignée ; d'autre part les facteurs extrinsèques, liés au milieu (sol, et surtout climat). La formation des huiles essentielles par certaines plantes semble jouer un rôle dans leur protection contre la sécheresse. Ce serait ainsi un caractère xérophytique. Il semble bien d'ailleurs que les plantes à essence sont plus nombreuses dans les habitats arides que dans les régions humides (CHOPRA *et al.*, 1960).

– Les métabolites intervenant dans la coopération entre organismes :

Certains métabolites participent à l'attraction et la signalisation entre la plante et les animaux lors de la pollinisation et de la dissémination. Les huiles essentielles attractives renferment des terpènes et des dérivés aromatiques tandis que les pétales sont colorés par des flavonoïdes (antho-cyanes) et dérivés azotés (bétalaines).

– Les métabolites intervenant dans la protection contre les herbivores :

De nombreuses substances ont un effet répulsif, comme certains terpènes des huiles essentielles de la Sauge, les glucosinolates de la Moutarde, les coumarines des herbacées, etc. D'autres, comme la lignine et les tanins, rigidifient les organes, diminuant l'attrait pour les herbivores.

– Les métabolites intervenant dans la protection contre les ultraviolets et les agents pathogènes :

Les tissus de surface comme les écorces fabriquent des terpènes antiseptiques et libèrent des tanins qui rendent difficile la pénétration des bactéries et des champignons.

Les dérivés azotés comme les bétalaïnes sont des antiviraux et antifongiques, tandis que les mucilages et le latex ont un effet cicatrisant.

– Les métabolites intervenant dans la télétoxie :

Les métabolites de la télétoxie sont des phytotoxines qui inhibent le développement ou la croissance d'autres végétaux, comme les essences inhibitrices de la germination des graines ou encore la juglone du noyer, ou les tanins des conifères (DANIEL *et al.*, 2010).

I- 3 La distribution dans la plante :

Il n'existe pas une règle générale concernant les lieux d'accumulation des métabolites secondaires dans l'organisme végétal. Suivant les espèces et les diverses catégories de composés, on peut les trouver dans les différents organes ou au contraire, ne les rencontrer que dans les tissus très spécialisés (cas de la menthe : glande au niveau inférieur de la feuille). Leur taux, relevé par l'analyse d'une plante ou d'un fragment, varie grandement durant l'ontogénèse (croissance jusqu'à la floraison) et l'organogénèse (formation du fruit). Par ailleurs, il est certain que la quantité observée de métabolites secondaires, à un moment donné, est la résultante de nombreux mécanismes métaboliques et physiologiques : biosynthèse, dégradation, transport, capacité d'accumulation et de bioconversion (réponse à la pression de l'environnement) (MERGHEM, 2009). (Tableau 01)

Tableau 01 : Quelques exemples de localisation des métabolites secondaires dans les plantes :

(BELLOUM, 2007)

Tissus	Molécules	Plantes
Trichomes	monoterpènes	Lamiacées
Trichomes	sesquiterpènes	Solanacées
Trichomes	flavonoïdes	Solanacées
Cires	triterpènes	Asclépiadacées
Cires	phénols	Rosacées
Epiderme	alcaloïdes	Genista
Parois cellulaires	tannins	Beaucoup d'arbres
Cellules mortes	tannins	Plantes ligneuses
Vacuoles	glycosides cyanogéniques	Beaucoup de plantes
Vacuoles	alcaloïdes	Beaucoup de plantes
Glandes à huile	furanocoumarines	Citrus
Glandes à huile	sesquiterpènes	Gossypium
Latex	di- et triterpènes	Euphorbiacées
Latex	sesquiterpènes	Asteracées
Latex	alcaloïdes	Euphorbiacées
Canaux résinifères	diterpènes	Gymnospermes
Semence	amino-acides non protéiques	Légumes
Paroi des semences	furanocoumarines	Pastinaca
Ecorce	quinine	Cinchona

I- 4 La toxicité des métabolites secondaires :

On citera surtout les alcaloïdes, parmi les toxiques les plus puissants. C'est un groupe hétérogène de substances organiques complexes à réaction alcaline, à importante activité physiologique.

Les hétérosides sont également complexe, mais sans les réactions basiques du groupes précédent. On distingue surtout les sulfurés, cyanogénétiques. Ces derniers présents chez les rosacées, renferment des substances qui sous l'action d'un ferment interne, libèrent de l'acide cyanhydrique fortement toxique.

Les saponosides et les résines sont des substances âcres, souvent émétiques. Les symptômes peuvent être graves. Ils débutent souvent par des troubles digestifs violents, nausées, vomissement, diarrhées. Leurs succèdent selon les substances ingérés des troubles respiratoires peuvent aller jusqu'à l'asphyxie, des troubles nerveux tel des convulsions, délire on des altérations du rythme cardiaque.

De nombreux autres signes peuvent apparaître maux de tête, troubles de la vue, dessèchement des muqueuses ou au contraire hypersécrétions (LEMOINE, 2004).

I- 5 La structure des métabolites secondaires :

I- 5- 1 Terpénoïdes :

I- 5- 1- 1 Généralités :

Les terpénoïdes appelés aussi terpènes, existent chez toutes les plantes et représente de loin la plus vaste catégorie de métabolites secondaires, avec plus de 22.000 composés décrits (RAVEN et *al.*, 2007).

Les terpènes sont des substances généralement lipophiles qui dérivent d'une entité simple à cinq atomes de carbone. Leur grande diversité trouve son origine dans le nombre d'unité de base qui composent la chaîne ainsi que dans les divers mondes d'assemblage. La formation de structures cycliques, l'addition de fonctions comprenant de l'oxygène et la conjugaison avec des sucres ou d'autres molécules peuvent rendre leurs structures complexes (SERGE, 2003).

Les terpènes pouvant être considérés comme étant des dérivés de l'isoprène d'où le nom d'isoprénoïdes sous lequel ils sont parfois désignés (MERGHEM, 2009).

Le terpénoïde le plus simple est un hydrocarbure, isoprène (C_5H_8). On peut classer tous les terpénoïdes en fonction de nombre de leurs unités isoprène. Les monoterpénoïdes, avec deux unités isoprènes, les sesquiterpénoïdes (trois unités) et les diterpénoïdes (quatre unités terpène) sont des catégories usuelles. Une même plante peut synthétiser beaucoup de terpénoïdes différents à différents endroits de l'organisme, dans des butes différents et à des stades différents de son développement (RAVEN *et al.*, 2007).

I- 5- 1- 2 Biosynthèse des terpénoïdes :

Malgré leur diversité, tous les terpènes ainsi que leurs dérivés, possèdent en commun une voie de biosynthèse appelée, de par l'intervention d'un intermédiaire clé, voie de l'acide mévalonique.

En raison de l'importance considérable des composés terpéniques, la voie de l'acide mévalonique est un aspect du métabolisme végétal qui mérite une attention particulière. Les composés et les dérivés terpéniques peuvent être considérés en tant que polymères de 5-carbone 2-méthyl-1,3-butadiène ou isoprène (SERGE, 2003).

Il existe une autre voie de synthèse de l'isoprène en C5, la voie du 2-C-méthyl-D-erythriol-4-phosphate (MEP) (MARC *et al.*, 2009).

En fait, biochimiquement, ils ne dérivent pas de l'isoprène lui-même, qui n'est pas un produit naturel, mais de son isomère phosphorylé, l'isopentényldiphosphate ou IPP, qui est en somme de l'isoprène activé : (Figure 02)

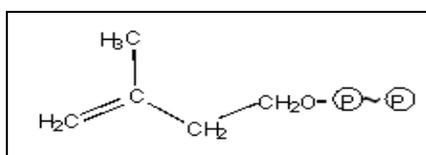


Figure 02 : Isopentényldiphosphate (IPP)

(HELLER *et al.*, 1998).

La synthèse de l'IPP débute dans le cytosol par la condensation de trois molécules d'acétyl-CoA, conduisant à un composé en C₆, le 3-hydroxy-3-méthylgluta-ryl-CoA (HMG-CoA), dans la réduction (par une HMG-CoA réductase) fournit le mévalonate (MVA).

Le mévalonate subit alors deux phosphorylations successives assurées par deux kinases distinctes, d'où la formation d'un mévalonate activé, le mévalonyldiphosphate (MAVPP). Ce

MAVPP, en présence d'ATP, qui lui fournit l'énergie, et d'une MAVPP décarboxylase, se décarboxyle en IPP.

Cet IPP, peu réactif, est isomérisé par une IPP isomérase, en diméthylallyldiphosphate (DMAPP) (HELLER *et al.*, 1998).

Les réactions suivantes correspondent à l'élongation des chaînes isopréniques. Elles font intervenir différentes prényltransférases. Ces enzymes catalysent l'addition successive de molécules d'IPP sur ester allylique diphosphate. En Premier lieu, la condensation d'IPP et du DMAPP conduit à la formation du géranyl-diphosphate (GPP) en C10 ; puis l'addition de nouvelles molécules IPP donne successivement le farnésyl diphosphate (FPP) en C15 et le géranylgéranyl diphosphate (GGPP) en C20 (MARC *et al.*, 2009).

Le GPP, le FPP et GGPP servent ensuite de précurseurs aux différentes classes d'isoprénoïdes. Ils sont des substrats des terpènes synthèses dont certaines sont des cyclases. Condensation et cyclisation sont des réactions successives et non simultanées (MARC *et al.*, 2009) La synthèse des terpènes à lieu au niveau du réticulum endoplasmique (MERGHEM, 2009). (Figure 03)

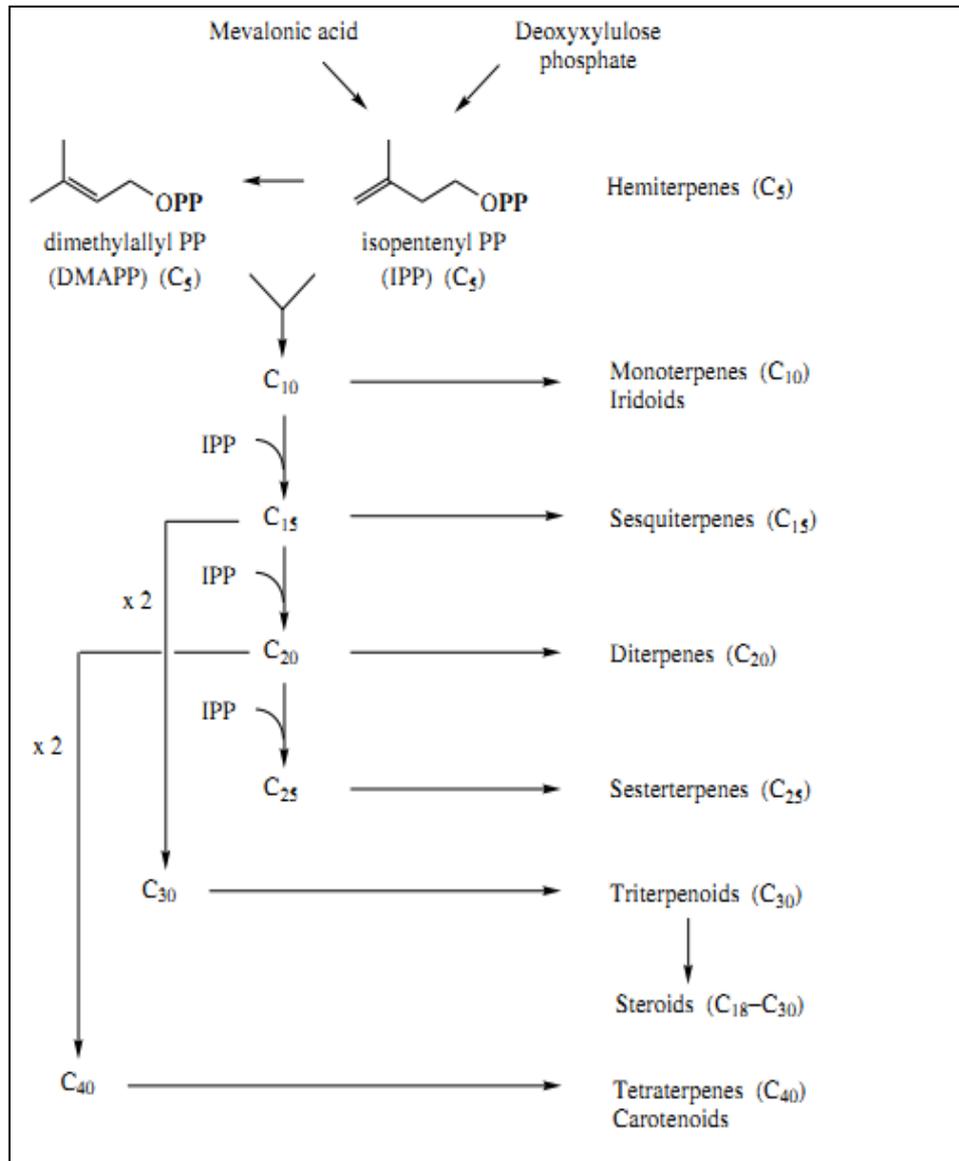


Figure 03 : La biosynthèse des terpènes

(DEWICK, 2002)

I- 5- 1- 3 Les grands groupes des terpénoïdes :

La famille des terpènes (ou terpénoïdes) est complexe et renferme des milliers de composés. Les terpènes sont classés suivant leur degré de polymérisation : (MARC et *al.*, 2009) (Figure 04)

I- 5- 1- 3- 1 Monoterpènes : (C₁₀)

Sont dérivés du géranyl diphosphate. On peut citer le géranol de la Citronnelle (non cyclique), le menthol de la Menthe (cyclique), le limonène des agrumes (cyclique), le pinène

du Pin (bicyclique), etc. On en compte plus d'une centaine présente dans les essences et résines (HELLER et *al.*, 1998).

I- 5- 1- 3- 2 Sesquiterpènes : (C15)

Qui sont des dérivés du farnésyl diphosphate (FPP). Ils sont représentés par le farnésol, l'essence de la camomille et par l'acide abscissique, une phytohormone (dérivé de la dégradation des caroténoïdes, des tétraterpènes) (MARC et *al.*, 2009).

I- 5- 1- 3- 3 Diterpènes : (C20)

Sont notamment représentés par les gibbérellines, le phytol, la vitamine A (RENÉ et *al.*, 1998). Le phytol est également à l'origine de la synthèse des vitamines K et E (MERGHEM, 2009).

I- 5- 1- 3- 4 Triterpènes : (C30)

Sont à l'origine de la β -amyrine et des brassinostéroïdes, autres phytohormones (MARC et *al.*, 2009).

I- 5- 1- 3- 5 Tétraterpènes (C40) :

Les seules représentants de ce groupe sont les caroténoïdes, substances colorées en jaune, orange ou rouge auxquelles de nombreuses fleurs et fruits doivent leurs couleurs. Leur nom dérive du carotène qui a été isolé pour la première fois de la racine de la carotte (*Daucus carota*).

On trouve les caroténoïdes, soit sous forme d'hydroxylés (xanthophylle), ou de dérivés cétoniques (Canthaxantine) (MERGHEM, 2009).

I- 5- 1- 3- 6 Polyterpènes :

Chaînes souvent linéaires qui peuvent compter des centaines de carbones (3000 à 6000 unités isoprènes) ; c'est le cas du latex des Euphorbes et de l'hévéa (*Hevea brasiliensis*) dont on tire un produit très coagulé, élastique, le caoutchouc (MARC et *al.*, 2009).

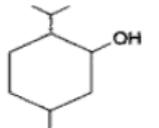
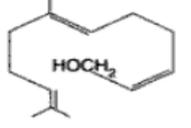
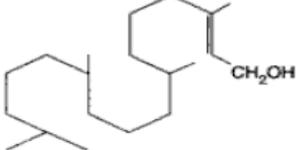
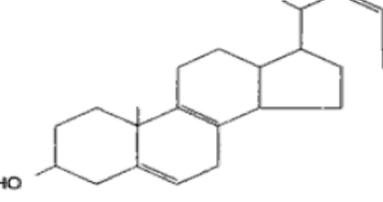
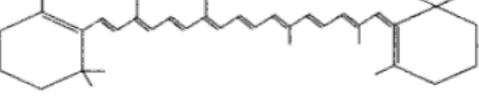
Nombre de Carbones	Classe	Exemple
5	Hémiterpénoïde	$\begin{array}{c} \text{COOH} \\ \\ \text{CH}_3 - \text{C} = \text{CH} - \text{CH}_2 \end{array}$ Acide tiglique (<i>Geranium</i> sp.)
10	Monoterpénoïde	$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \\ \text{CH}_3 - \text{C} = \text{CH} - (\text{CH}_2)_2 - \text{C} = \text{CH} - \text{CH}_2 \text{ OH} \end{array}$ Géranol (<i>Pelargonium</i>)
10	Monoterpénoïde cyclique	 Menthol (essence de menthe)
15	Sesquiterpénoïde	 Farnésol (très répandu)
20	Diterpénoïde	 Phytol (Chlorophylle)
30	Triterpénoïde	 Squalène (précurseur de stéroïde)
30	Triterpénoïde	 Stigmasterol (<i>Glycine max</i>) (Un stérol)
40	Tétraterpénoïde	 β-carotène

Figure 04 : Les principaux groupes de terpénoïdes
(SERGE, 2003)

I- 5- 1- 3- 7 Les saponosides :

Les saponosides (parfois encore appelé saponines) sont des terpènes glycosylés. Ils peuvent être des stéroïdes, alcaloïdes glycosylés ou des hétérosides triterpéniques (Figure 05). Ils peuvent aussi se trouver sous forme d'aglycones (ou génines ; ce sont des composés terpéniques ne possèdent pas de glucide), appelés sapogénines. La combinaison d'un triterpène hydrophobe et d'un glucide hydrophile confère aux saponosides des propriétés tensioactives ou de détergent qui, lorsqu'ils sont agités avec l'eau, produisent une mousse savonneuse. Le terme de saponoside est dérivé de la saponaire (*Saponaria*) qui était jadis utilisée comme substitut de savon (SERGE, 2003).

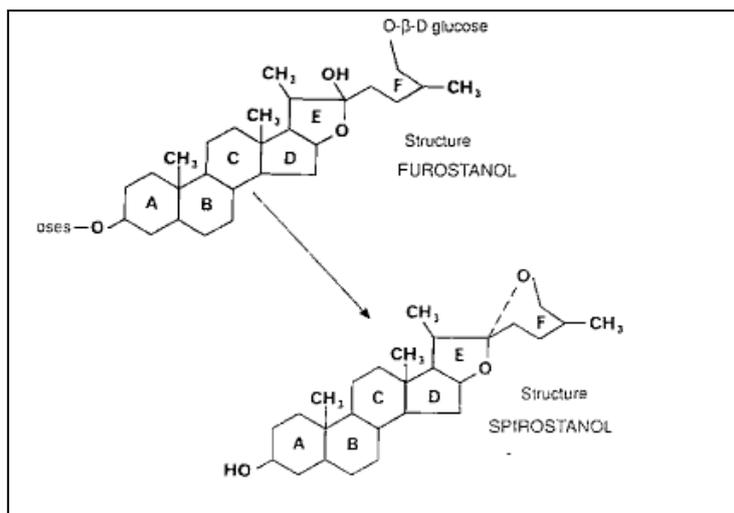


Figure 05 : Structure de la saponine

(MESSIAEN *et al.*, 1993)

I- 5- 1- 3- 8 Les huiles essentielles :

Les huiles essentielles, appelé aussi essences sont des mélanges complexe de substances odorantes et volatiles contenue dans les végétaux. (CATIER et ROUX, 2007) .Elles Présentent sous forme minuscules gouttelettes dans les feuilles, la peau des fruits, la résine, les branches, les bois (BEKHECH et ABDELOUAHID, 2010).

Les huiles essentielles extraites des plantes par distillation comptent parmi les plus importants principes actifs des plantes Elles sont largement employées en parfumerie (VICAN, 2001).

Les principaux constituants des huiles essentielles sont les hydrocarbures ou terpènes (aliphatiques, acycliques, aromatiques) substances grasses intiment associer aux fonctions biologiques des organismes vivants, et plusieurs corps oxygénés aux propriétés chimiques divers (alcools, aldéhydes cétones, phénols, esters, acides organiques, coumarines, etc.) (BARDEAU, 2009).

I- 5- 1- 4 Activité biologique des terpènes :

Le taxol est un diterpène très intéressent en raison de ses propriétés anti cancéreuse (RAVEN *et al.*, 2007).

Les huiles essentielles ont un champ d'action très large, elles inhibent aussi bien la croissance des bactéries que celle des levures et des moisissures. L'effet biologique a souvent été trouvé supérieur à celui de plusieurs fongicides du commerce (BEKHECHI et ABDELOUAHIDE, 2010).

Les effets des saponosides sur les animaux sont très variables. Bien qu'ils ne soient pas particulièrement toxiques pour les mammifères, les saponosides ont un goût amer et acre et provoquent, une fois ingérés, d'importantes irritations gastriques. S'ils sont injectés dans le circuit sanguin, ils provoquent l'hémolyse des globules rouges. C'est là sans doute une conséquence de leurs propriétés de détergents et leur capacité générale à rompre les membranes. Les saponosides qui sont très toxiques pour les poissons ont été utilisés pour la pêche. Ils ont aussi été soupçonnés provoquer des empoisonnements chez le bétail. Par exemple, les saponosides de luzerne, peuvent provoquer des problèmes digestifs et des ballonnements chez les animaux qui sont nourris. Il existe aussi des données selon lesquelles des saponosides des jaunes pousses de la luzerne diminueraient la teneur en cholestérol sanguin (SERGE, 2003).

I- 5- 2 Les composés phénoliques :

I- 5- 2- 1 Généralité :

Les substances phénoliques englobent une vaste gamme de composés possédant tous un groupement hydroxyle (-OH) attaché à un cycle aromatique (un anneau de six carbones avec trois doubles liaisons). Ils sont présents dans presque toutes les plantes et l'on sait qu'ils s'accumulent dans toutes les parties de l'organisme (racines, tiges, feuilles, fleurs et fruits). Bien qu'ils soient le groupe de plus étudiés des métabolites secondaires la fonction de beaucoup de produits phénoliques reste encore inconnue (RAVEN et *al.*, 2007).

I- 5- 2- 2 Biosynthèse :

Les deux acides aminés aromatiques (phénylalanine et tyrosine) sont présents dans les protéines mais sont également à l'origine de la formation de la plupart des molécules phénoliques chez les végétaux. Ils sont formés, à partir de sucres simples issus du métabolisme primaire par la voie bien connue de l'acide shikimique (Figure 06), conduisant à la formation de phénylalanine qui, par désamination, donne le précurseur immédiat des phénols, l'acide cinnamique. La séquence biosynthétique qui suit, dénommée séquences des phénylpropanoïdes, permet la formation des principaux acides hydroxycinnamiques : acides coumariques, caféique, furéliques et sinapique, généralement présents dans le matériel végétal

sous forme d'esters (esters quiniques comme l'acide chlorogénique, esters glucosés...) ou glucoside.

En fait, les formes métaboliquement actives des acides hydroxycinnamiques sont leurs esters avec coenzyme A qui permettent alors d'accéder des principales classes des composés phénoliques (SARNI et CHEYNIER, 2006).

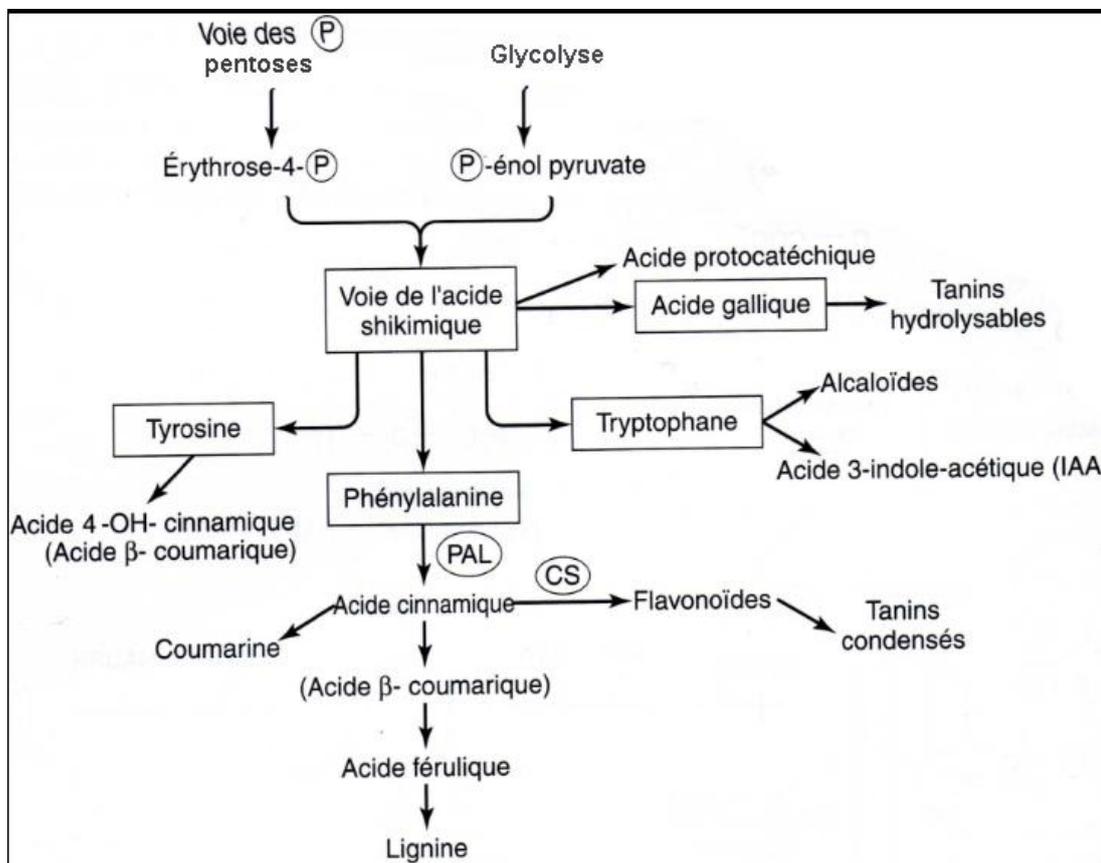


Figure 06: La voie de shikimate et au centre de la synthèse de divers métabolites.

(SERGE, 2003)

I- 5- 2- 3 Les principaux groupes des composés phénoliques :

Les composés phénoliques peuvent être regroupés en de nombreuses classes qui se différencient d'abord par la complexité du squelette de base (allant d'un simple C6 à des formes très polymérisées) (Tableau 02), suite par le degré de modifications de squelette (degré d'oxydation, hydroxylation, de méthylation...) enfin par les liaisons possibles de ces molécules de bases avec d'autres molécules (glucides, lipides, protéines, autres métabolites secondaires peuvent être ou non des composés phénoliques...) (MARCHEIX et al., 2005).

Tableau 02: les principales classes des composés phénoliques : (MACHEIX et *al.*, 2005)

Squelette carboné	Classe	Exemple	Origine (exemple)
C ₆	Phénols simples	Catéchol	
C ₆ -C ₁	Acides hydroxybenzoïques	<i>p</i> -Hydroxybenzoïque	Epices, fraise
C ₆ -C ₃	Acides hydroxycinnamiques	Acides caféique, férulique	Pomme de terre, pomme
	Coumarines	Scopolétine, esculétine	Citrus
C ₆ -C ₄	Naphtoquinones	Juglone	Noix
C ₆ -C ₂ -C ₆	Stilbènes	Resvératrol	Vigne
C ₆ -C ₃ -C ₆	Flavonoïdes		
	• Flavonols	Kaempférol, quercétine	Fruits, légumes, fleurs
	• Anthocyanes	Cyanidine, pélagonidine	Fleurs, fruits rouges
	• Flavanols	Catéchine, épicatechine	Pomme, raisin
	• Flavanones	Naringénine	Citrus
	Isoflavonoïdes	Daidzéine	Soja, pois
(C ₆ -C ₃) ₂	Lignanes	Pinorésinol	Pin
(C ₆ -C ₃) _n	Lignines		Bois, noyau des fruits
(C ₁₅) _n	Tannins		Raisin rouge, kaki

I- 5- 2- 3- 1 Formes simples :

I- 5- 2- 3- 1- 1 Les acides phénoliques :

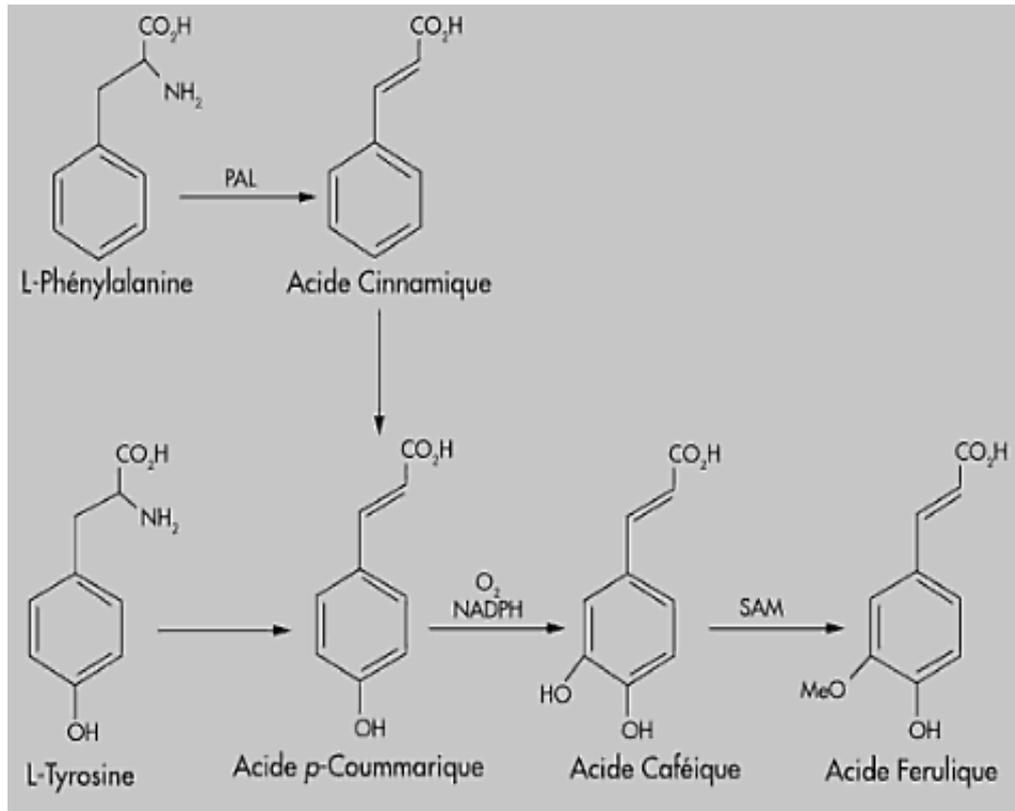
La phénylalanine-ammonia lyase (PAL), après désamination, transforme la phénylalanine en acides trans-cinnamiques. Cette enzyme, située à l'interface entre le métabolisme primaire et métabolisme secondaire, est extrêmement régulée.

De l'acide cinnamique dérivent, par l'hydroxylation, méthylation et réduction, de nombreux composés possédant le noyau phénylpropane : acides ortho- et para- coumariques, acides féruliques, sinapiques et caféiques par exemple.

Ces acides phénoliques peuvent être libres mais sont très souvent sous forme conjuguée, c'est-à-dire liés à des sucres libres ou pariétaux ou estérifiés à d'autres acides.

Ces composés se rencontrent également sous forme de mono ou diphénols, molécules intervenant dans les processus de développement ou dans les interactions plantes /bactéries par exemple.

L'acide cinnamique après clivage de deux carbones de la chaîne latérale conduit à l'acide benzoïque d'où dérivent de nombreux composés dont l'acide salicylique (à l'origine de l'aspirine) impliqué dans de nombreux mécanismes de défense chez les plantes (MARC et *al.*, 2009). (Figure 07)



Figures 07: Les acides phénoliques
(TAPIERO, 2006)

I- 5- 2- 3- 1- 2 Flavonoïde :

De structure générale en C₁₅ (C₆-C₃-C₆), il comprend à lui seul plusieurs milliers de molécules regroupées en plus de dix classe dont certaines ont très grande importance biologique et technologique comme les antocyanes, pigments rouges ou bleus des fleurs et les fruits, les flavonols (par exemple le kaempférol et la quercétine dont la répartition est très large) et les flavanes qui sont à l'origine des tanins condensés (SARNI et CHEYNIER, 2006). (Figure 08)

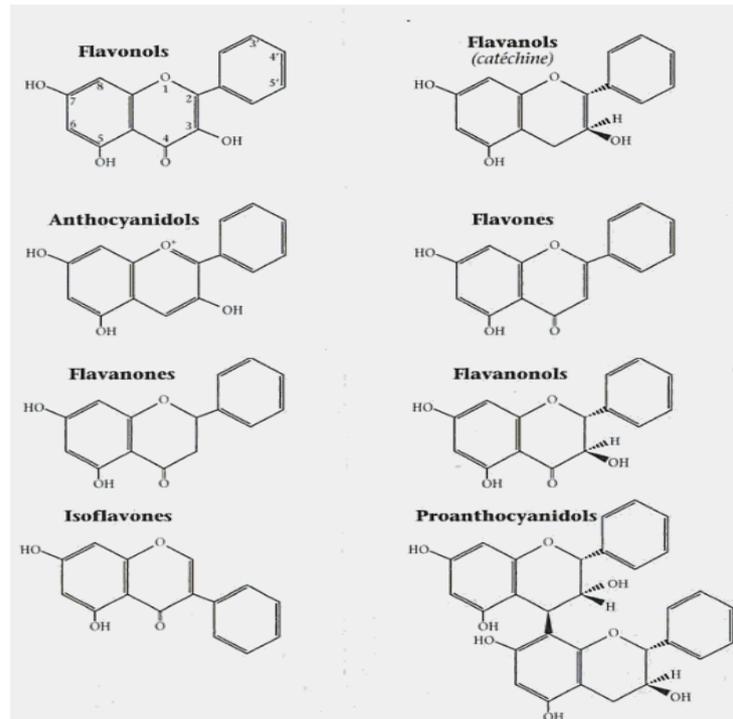


Figure 08: Structures chimiques des principales classes de composés flavonoïques
(BESANÇON et *al.*, 2000)

I- 5- 2- 3- 2 Formes condensés :

I- 5- 2- 3- 2- 1 Lignine :

Polymères tridimensionnels amorphes forme par l'association non répétitive et en proportions variables de trois unités monomères : les alcools coumarylique, coniférylique et sinapylique. La complexité de la lignine vient de la grande diversité de ses liaisons, de son hétérogénéité, et des liaisons contractées avec d'autres polymères tels que les glucides de la paroi végétale (PELMONT, 2005). (Figure 09)

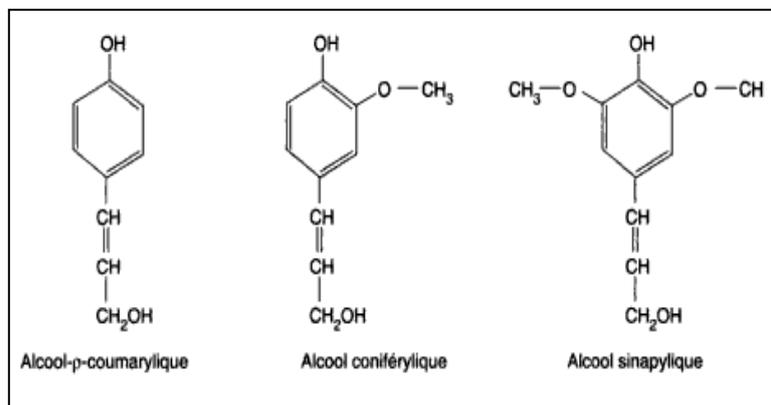


Figure 09: Principaux monomères constituant la lignine
(SERGE, 2003)

I- 5- 2- 3- 2- 2 **Tanins :**

Toutes les plantes contiennent des tanins à un degré plus ou moins élevé. Ceux-ci donnent un goût amer à l'écorce ou aux feuilles et les rendent impropres à la consommation pour les insectes ou le bétail. Les tanins sont des composants polyphénoliques qui contractent les tissus en liant les protéines et en les précipitant, d'où leur emploi pour « tanner » les peaux. Ils permettent de stopper les hémorragies et de lutter contre les infections. Les plantes riches en tanins sont utilisées pour retendre les tissus souples, comme dans le cas des veines variqueuses, pour drainer les sécrétions excessives, comme dans la diarrhée, et pour réparer les tissus endommagés par un eczéma ou une brûlure (VICAN, 2001).

On distingue habituellement, chez les végétaux supérieurs, deux groupes de tanins différents par leur structure aussi bien que par leur origine biogénétique : les tanins hydrolysables et les tanins condensés (BRUNETON, 1999).

Les tanins hydrolysables sont des polyesters de l'acide gallique ou ellagique avec des sucres ou des polyols (Figure 10), alors que les tanins condensés ou proanthocyanidines sont des oligomères ou des polymères des catéchines (Figure 11) (DESCHEEMAEKER, 2004).

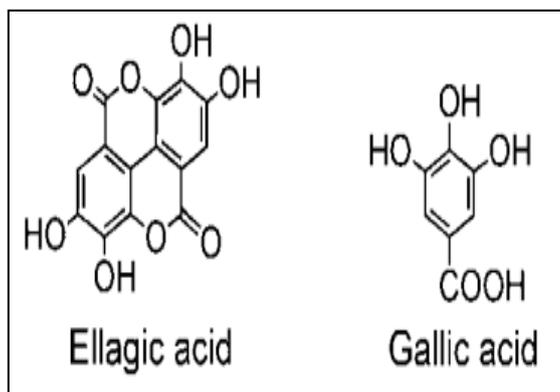


Figure 10: la structure de l'acide gallique et l'acide ellagique (FARAGA, 2010)

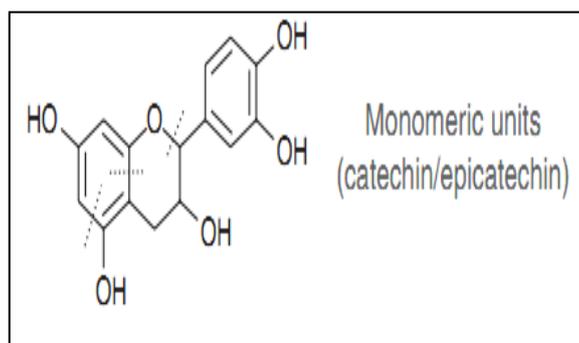


Figure 11: La structure de catéchine (FARAGA, 2010)

I- 5- 2- 4 Activités biologiques :

Les métabolites secondaires font l'objet de nombreuses recherches basées sur les cultures *in vivo* et *in vitro* de tissus végétaux ceci est notamment le cas des polyphénols végétaux qui sont largement utilisés en thérapeutique comme vasculoprotecteurs, anti-inflammatoires, inhibiteurs enzymatiques (BELLOUM, 2007).

Les composés phénoliques sont en effet des éléments importants des qualités sensorielles (couleur, astringence...) et nutritionnelles des végétaux que consomme l'homme et leur intervention dans la santé est maintenant reconnue dans des domaines variés : lutte contre l'athérosclérose, action anti cancérigène pour certains d'entre eux, action antioxydant permettant de lutter contre le vieillissement cellulaire. Par ailleurs leurs implication dans les phénomènes de brunissement la transformation des produits d'origine végétale (SARNI et CHEYNIER, 2006).

I- 5- 3 Les alcaloïdes :

I- 5- 3- 1 Généralité :

Le mot «alcaloïdes » est pratiquement synonyme du mot « drogue » (SERGE, 2003), Les alcaloïdes constituent un autre groupe, plus vaste, de substances dites secondaires. En raison de leurs propriétés toxiques ou médicamenteuses, ils ont toujours présenté, pour les pharmaciens et les industries pharmacologiques un intérêt exceptionnel. On connaît à l'heure actuelle plus de 5500 alcaloïdes et leur liste s'allonge continuellement.

Touts les alcaloïdes contiennent de l'azote 'N', le plus souvent inclus dans un hétérocycle. (Figure 12) La plupart, de ces composés ont une réaction alcaline ; à l'état naturel, ils sont généralement salifiés par des acides organiques (tartrates, malates) ou combinés à des tanins (MARGHEM, 2009).

Comme pour les autres métabolites secondaires, un alcaloïde donné peut être confiné dans des organes particuliers comme par exemple les racines, les feuilles ou les jeunes fruits (SERGE, 2003).

I- 5- 3- 2 Biosynthèse des alcaloïdes :

Cependant malgré leur structure extrêmement variée, les alcaloïdes proviennent d'un petit nombre de précurseurs simples. La plupart des alcaloïdes sont synthétisés à partir d'un petit nombre d'acides aminés ordinaires (tyrosine, tryptophane, arginine et lysine). La nicotine

(Figure 12), l'alcaloïde de tabac, est synthétisée à partir de l'acide nicotinique et la caféine est un dérivé purique (SERGE, 2003).

I- 5- 3- 3 Principaux classes des alcaloïdes :

Les alcaloïdes sont généralement classés en fonction de la nature du cycle qui prédomine dans la molécule : (SERGE, 2003).

I- 5- 3- 3- 1 Les pseudo-alcaloïdes :

Ne possèdent pas d'azote intra cyclique et l'incorporation de l'azote dans la structure se fait en phase finale : exemple la coniine.

I- 5- 3- 3- 2 Les proto-alcaloïdes :

L'azote n'est pas inclus dans le système hétérocyclique. Ils sont élaborés à partir d'acides aminés, exemples : mescaline, hordénine, éphédrine, colchine.

I- 5- 3- 3- 3 Les alcaloïdes vrais :

Que l'on classe suivant la nature de leur cycle. L'atome d'azote est inclus dans un hétérocycle : Biosynthétiquement formés à partir d'acides aminés : possèdent une activité pharmacologique marquée (MERGHEM, 2009).

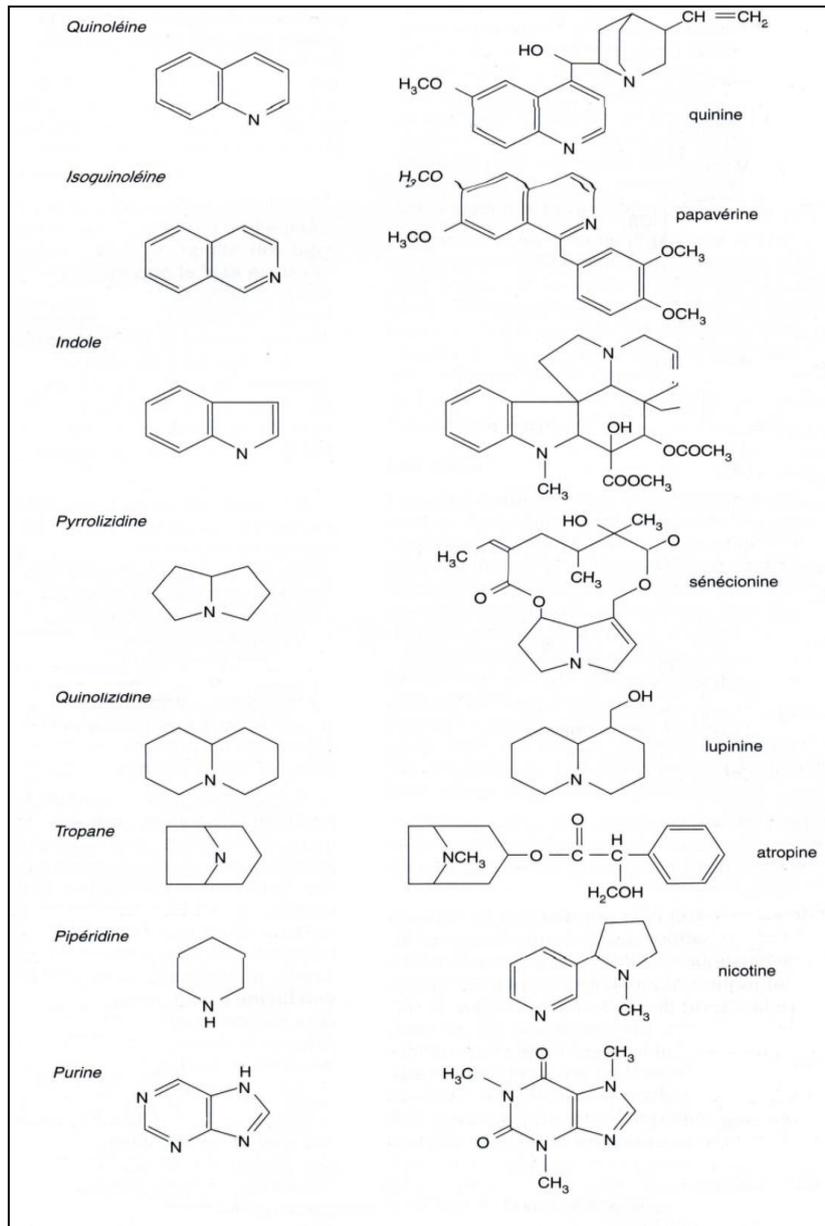


Figure 12: Quelques exemples des alcaloïdes

(SERGE, 2003)

I- 5- 3- 4 Activité biologique :

Certains sont des médicaments connus qui ont des vertus thérapeutiques avérées. C'est le cas d'un dérivé de la pervenche de Madagascar employé pour traiter certains types de cancer.

D'autres alcaloïdes, comme l'atropine, présente dans la belladone ont une action directe sur le corps : activité sédatrice, effets sur les troubles nerveux (maladie de Parkinson) (VICAN, 2001).

DEUXIEME PARTIE: PARTIE PRATIQUE

CHAPIRE II: MATERIELS ET METHODES

II- 1 Principe adopté :

Etude l'activité antimicrobienne de l'extrait brut des fruits de la plante *Citrullus colocynthis*. Donc tester les huiles essentielles extraite de la plante contre les bactéries suivantes: *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli* ; et contre la levure: *Candida albicans*.

II- 2 Choix du matériel biologique :

II- 2- 1 Matériel végétal :

II- 2- 1- 1 Description botanique de la plante *Citrullus colocynthis*:

Plante herbacée vivace à longues tiges rampantes qui s'étalent sur le sol (BENCHALAH et al., 2000) pouvant dépasser 1m de long (CHEHMA, 2006).

Citrullus colocynthis porte des feuilles alternes découpées, vert vif, quand il a plu. Toute la plante est couverte de poils courts et raides (BENCHALAH et al., 2000). (Photo 01)



Photo 01 : *Citrullus colocynthis*

(GUITTONNEAU et al., 2011)

Fleurs monogames, solitaires, axillaires, petites de couleur jaune verdâtre (SAHKI et SAHKI, 1993).

Fruits ovoïdes, lisses, verts, zébrés de rayures à l'état jeune et jaunes à maturité, à pulpe charnue jaunâtre très amère portant de petites graines noirâtres (SAHKI et SAHKI, 1993). La

dispersion des graines s'opère de façon mécanique. Le vent arrache et transporte sur de grandes distances les fruits devenus secs (BENCHALAH *et al.*, 2000). (Photo 02)

Floraison en Avril-Mai (CHEHMA, 2006).



Photo 02: le fruit de la coloquinte entière et une coupe transversale

(ORIGINALE)

II- 2- 1- 2 Répartition géographique :

Cette essence très répandue dans tout le Sahara ainsi que dans les régions méditerranéennes et saharo- sienne (BENCHALAH *et al.*, 2000 ; SAHKI et SAHKI, 1993 ; CHEHMA, 2006). Dans l'Ahaggar, la coloquinte se rencontre principalement dans les lits d'oueds, les cuvettes et plaines inondables, sur sols sablonneux, sablonneux-limoneux ou sablonneux-argileux (SAHKI et SAHKI, 1993). Parfaitement adaptée au climat désertique (BENCHALAH *et al.*, 2000).

II- 2- 1- 3 La composition chimique de la plante:

II- 2- 1- 3- 1 Les métabolites primaires :

L'analyse d'un extrait des grains révèle la présence de différents acides aminés libres qui sont présents à des proportions plus ou moins importantes. On note la présence de deux acides aminés majoritaires, le premier correspond à la citrulline et le deuxième correspond à un acide aminé non conventionnel. Une purification suivie d'études physico- chimiques a permis sa

caractérisation et son identification; il s'agit d'un acide aminé hétérocyclique non protéinique, spécifique de la famille des cucurbitacées : le β -(Pyrazol-1-yl) L-alanine (β PA). Ces deux acides aminés libres majoritaires représentent à eux seuls près de 40% de l'ensemble des acides aminés dosés. On note également la présence d'alanine (5,9%) et d'acide glutamique (5,3%), accompagnés d'asparagine et de sérine (près de 3% chacun) et de GABA (2,3%). D'autres acides aminés sont présents à des proportions moins importantes ou à l'état de traces (NMILA et al., 2002).

II- 2- 1- 3- 2 Les métabolites secondaires :

La coloquinte contient un principe alcaloïdique qui a un effet violemment purgatif, ainsi que de l' α -élatérine mais pas de β -élatérine (isomère actif). La colocynthix ou citrulene, qu'on pense être un glucoside, est composée d'un alcaloïde et d'un alcool cristallisable, le citrullol. Les racines contiennent de l' α -élatérine et les graine une huile jaune brunâtre qui renferme notamment un alcaloïde, un glucoside et de la saponine (CHOPRA et al., 1960).

Tableau 0 3: La composition phytochimique de la plante entière de *Citrullus colocynthis* exprimée en mg/100g de poids sec : (ASYAZ et al., 2010)

Photochimiques	Concentration en mg/100g
Flavonoïdes	1.39 \pm 0.8
Saponines	0.52 \pm 0.2
Alcaloïdes	1.64 \pm 0.02
Composés phénoliques	1.22 \pm 0.12

II- 2- 1- 4 Toxicité de la plante :

La plante est très toxique (BENCHALAH et al., 2000 ; SAHKI et SAHKI, 1993).

II- 2- 1- 5 Activités biologiques de la plante :

Les extraits bruts éthanoliques des fruits, feuilles, tiges et les racines de *Citrullus colocynthis* Schrad ont été examinés pour leurs potentialités antibactériennes contre les bactéries bacilles Gram positif et Gram négative. L'extraits éthanoliques des fruits, feuilles, tiges et les racines ont été jugés active contre les bacilles à Gram positif, à savoir, *Bacillus pumilus* et *Staphylococcus aureus*, tandis que les extraits des fruits et des racines donné des résultats positifs contre les bactéries bacilles Gram positif (*Bacillus subtilis*). Les bacilles à

Gram négatif, *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa* n'ont montré aucune réponse (USMAN et al, 2003).

Les extraits de fruits coloquinte à différentes concentrations ont montré la capacité de réduire ou inhiber la croissance de la *R. solani*, *F. oxysporum*, *A. alternaria* (HADIZADEH et al., 2009).

II- 2- 1- 6 Position systématique :

Division : *Magnoliophyta*

Classe : *Magnolipsida*

Ordre : *Cucurbitales*

Famille : *Cucurbitaceae*

Genre : *Citrullus*

Espèce : *colocynthis* (GURUDEEBAN, 2007).

II- 2- 1- 7 Intérêt socioéconomique :

Elle est utilisée, en infusion, cataplasme, pommade et compresse pour les traitements des piqûres de scorpion, indigestion, dermatose et infections génitales (CHEHMA, 2006). Elle est également utilisée pour soigner les dermatoses des dromadaires (CHEHMA, 2006 ; BENCHALAH et al., 2000).

En médecine traditionnelle, la pulpe du fruit traite les piqûres des scorpions et les morsures de serpents venimeux. Le fruit est également utilisé pour le traitement des furoncles, des hémorroïdes et comme purgatif. Le goudron végétal extrait des graines est utilisé pour le traitement de la gale (SAHKI et SAHKI, 1993). D'autres usages sont connus localement, mais on insiste sur l'extrême virulence du poison, qui réduit considérablement son emploi (BENCHALAH et al., 2000).

La coloquinte est un pâturage apprécié des ânes ; les chèvres, quand à elles, ne broutent que les fleurs. Les autres animaux l'évitent à cause de son amertume prononcée (BENCHALAH et al., 2000). Elle n'est pas broutée par les dromadaires à cause de son goût amer très prononcé (CHEHMA, 2006). Les fruits sont très appréciés des ânes et des gazelles pour leur apport en humidité (SAHKI et SAHKI, 1993).

Pourtant utilisation qu'en font certains nomades, les Toubous en particulier, est d'autant plus surprenante : les graines, appelées taberka (BENCHALAH et *al.*, 2000), plusieurs fois bouillies pour éliminer la toxicité, séchée puis pilées fournissent une farine nourrissante, consommée en bouillies ou galettes (BENCHALAH et *al.*, 2000 ; SAHKI et SAHKI, 1993). Ils fabriquent aussi une boisson nutritive à base de farine de graines mélangées aux dattes pilées (SAHKI et SAHKI, 1993).

Le fruit est utilisé au Maroc pour lutter contre le diabète sucré (NMILA et *al.*, 2002).

II- 2- 1- 8 Récolte de la plante:

La plante a été récoltée au mois d'Avril de l'année 2012, de la région Gara Tin (Berriane) dans la Wilaya de Ghardaïa. (Photo 3)

Les fruits de la plante, récoltés environ 1Kg, sont nettoyés et laissés sécher à l'ombre dans un endroit sec et aéré pendant trois semaines.



Photo 03 : *Citrullus colocynthis* (Gara Tin (Berriane) 'Avril 2012')

(ORIGINALE)

II- 2- 2 Matériel microbienne :

II- 2- 2- 1 Bactéries :

II- 2- 2- 1- 1 *Staphylococcus aureus* :

II- 2- 2- 1- 1- 1 Définition :

L'espèce *Staphylococcus aureus*, est ainsi nommée à cause de la pigmentation jaune des colonies (aureus = dorés) (TORTORA et *al.*, 2003).

Ce sont des cocci à gram positif, isolés ou groupés en diplocoques ou en amas, ayant la forme de grappe de raisin, immobiles, non sporulés mais parfois encapsulés (LOULERGUE et TOURRET, 2003).



Photo 04: *Staphylococcus aureus* sous un microscope électronique

(HARLEY et al., 2010)

II- 2- 2- 1- 1- 2 Position systématique :

Domaine : *Eubacteria*

Phylum : *Firmicutes*

Classe : *Bacilli*

Ordre : *Bacillales*

Famille : *Staphylococcaceae*

Genre : *Staphylococcus*

Espèce : *Staphylococcus aureus* (Rosenbach) (KASMI et BELKASMI, 2010).

II- 2- 2- 1- 1- 3 Habitat et transmission :

L'homme est l'hôte naturel du *S. aureus*. Très rapidement après la naissance, la bactérie colonise la peau, les voies respiratoires supérieures et le tube digestif. La plus grande partie de la population reste porteur de façon permanente ou intermittente, en particulier au niveau des muqueuses de la fosse nasale. La transmission inter humaine se fait par gouttelettes respiratoires, moins fréquemment par la poussière, les squames de la peau par les mains et les

objets. Le personnel hospitalier constitue un vecteur important de staphylocoque (GOUBAU et VAN, 2000).

II- 2- 2- 1- 1- 4 Caractéristiques :

Certaines caractéristiques des staphylocoques sont responsables de leur pathogénicité, qui revêt plusieurs formes.

Les staphylocoques se développent relativement bien dans les conditions de pression osmotique élevée et de faible taux d'humidité (TORTORA *et al.*, 2003).

Comme tous les germes répandus dans la nature, *S.aureus* se cultive facilement sur tous les milieux usuels, à des conditions de pH et de température variable. Il est même capable de pousser dans des conditions hostiles comme par exemple, en présence de 7% de NaCl. Cette capacité est mise à profit dans le milieu de culture sélectif hyper salé de Chapman pour isoler le staphylocoque d'un prélèvement poly microbien.

La température optimale de croissance est 37°C. Mais la culture est possible de 10 à 45°C. *S. aureus* est une bactérie aéro-anaérobie facultative, c'est-à-dire qu'elle est capable de se développer à la surface de la peau, en aérobie et aussi dans les tissus mal oxygénés (LOULERGUE et TOURRET, 2003).

II- 2- 2- 1- 1- 5 Pouvoir pathogène :

S. aureus provoque fréquemment des infections cutanées légères ou graves comme :

- L'acné infecté, le furoncle, l'anthrax, l'impétigo, l'infection des plaies, la dermatite exfoliative, le panaris, la paronychie, l'hydrosadénite, l'orgelet.

Des infections et complications moins fréquentes sont :

- La pneumonie et l'abcès pulmonaire (après une grippe).
- La septicémie et l'abcès métastatiques : ostéomyélite, arthrite, endocardite, méningite.
- L'entérocolite.
- La mastite puerpérale.
- Le syndrome du choc toxique provenant du tampon en période menstruelle.
- Toxi-infections alimentaires (GOUBAU et VAN, 2000).

II- 2- 2- 1- 1- 6 **Résistance aux antibiotiques :**

En 1946, presque toutes les souches de *Staphylococcus* étaient sensibles à la pénicilline G. De nos jours la majorité des souches hospitalières sont résistantes à la méthicilline et/ou à la gentamicine et peuvent être seulement traitées à la vancomycine. Certaines souches d'entérocoque sont devenues résistantes à la plupart des antibiotiques dont la vancomycine. Récemment, quelques cas de *Staphylococcus aureus* résistent à la vancomycine ont été rapportés aux États-Unis et au Japon. Pour le moment. Ces souches n'ont qu'une résistance intermédiaire à la vancomycine, mais si une résistance complète devait apparaître et se répandre. *S. aureus* pourrait devenir impossible à traiter (HARLEY et al., 2010).

II- 2- 2- 1- 1- 7 **Toxicité :**

S. aureus, le danger tient dans la capacité de la bactérie à synthétiser une entérotoxine. Celle-ci est thermostable (un chauffage, même conséquent, ne parvient pas à la détruire). Pour fabriquer l'entérotoxine, les *s. aureus* doivent être présents en nombre élevé. Il est donc important dans ce contexte de veiller au respect de la chaîne du froid pour éviter la multiplication de *Staphylococcus aureus* (HASNA et al., 2007).

II- 2- 2- 1- 2 ***Escherichia coli*:**

II- 2- 2- 1- 2- 1 **Définition :**

Escherichia coli est un type des bactéries organisme unicellulaire qui peut vivre dans de nombreux environnements différents.

E. coli sont des bacilles à Gram négatif, comme un être vu dans microscope électronique graphique (SHANNON et HILARY, 2005). (Photo 05)

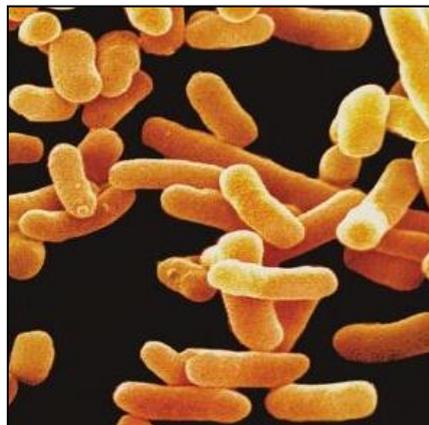


Photo 05 : *Escherichia coli* sous un microscope électronique
(SHANNON et HILARY, 2005)

II- 2- 2- 1- 2- 2 **Position systématique :**

Domaine : *Eubacteria*

Phylum : *Proteobacteria*

Classe : *Gammaproteobacteria*

Ordre : *Enterobacteriales*

Famille : *Enterobacteriaceae*

Genre : *Escherichia*

Espèce : *Escherichia coli* (T.Eschich) (KASMI et BELKASMI, 2010).

II- 2- 2- 1- 2- 3 **Habitat et transmission :**

E. coli est un commensal normal de l'intestin de l'homme et de l'animal. La bactérie se répand dans l'environnement par la voie des excréments. La présence d'*Escherichia coli* dans les eaux et les aliments est le témoin d'une contamination fécale. La transmission à l'homme se fait par voie féco-orale. A partir du tractus intestinal, les bactéries atteignent facilement le vagin et l'urètre chez la femme peuvent mener à des infections uro-génitales récidivantes. Le nouveau-né est inévitablement contaminé à la naissance par des souches maternelles de *E.coli* provenant de la flore du périnée. Une contamination endogène peut être provoquée par des perforations intestinales ou survenir après chirurgie abdominale (GOUBAU et VAN, 2000).

II- 2- 2- 1- 2- 4 **Caractéristiques :**

Escherichia coli est une bactérie anaérobie facultative capable de faire le métabolisme fermentatif et respiratoire. Sa température optimale est de 37 ° C et elle pousse facilement sur un large éventail de milieux de culture simples et sur de simples supports synthétiques. Dans des conditions anaérobies de croissance il y a une exigence absolue pour les glucides fermentés. Le glucose est fermenté en pyruvate, qui est converti en acide lactique, acétique et formique. Une partie de la lettre est convertie en hydrogène et dioxyde de carbone par l'hydrogénase formique, mais certaines souches ne produisent pas de gaz (anaérogènes) (SUSSMAN, 1997).

II- 2- 2- 1- 2- 5 **Pouvoir pathogène et toxicité:**

En médecine humaine, les *Escherichia coli* peuvent être de banaux commensaux ou d'indiscutables agents pathogènes. Ils peuvent donner lieu à divers types d'infections (FLANDROIS, 1997).

Il cause parfois des infections des voies urinaires, certaines souches produisent des entérotoxines responsable de la turista (diarrhée des voyageurs) et provoquent occasionnellement de très graves maladies d'origine alimentaire telle que la maladie du hamburger (TORTORA et *al.*, 2003).

II- 2- 2- 1- 2- 6 Sensibilité aux antibiotiques :

Escherichia coli n'est plus le germe uniformément sensible des débuts de l'antibiothérapie. Les aminopénicillines sont souvent inactives, principalement à l'hôpital. Le phénotype sauvage sensible aux sept groupes de β -lactamines représente 2/3 des souches. Le phénotype pénicillinase de haut niveau (10% des souches) entraîne une résistance aux aminopénicillines et carboxypénicillines ; l'acide clavulanique ne restaure que partiellement l'activité et les autres β -lactamines sont plus ou moins touchées selon leur degré de stabilité aux pénicillinases. *Escherichia coli* synthétise une céphalosporinase thérapeutiquement importante dans 2 à 6 % des cas qui donne une résistance à la céfalotine mais aussi à l'ampicilline, même en présence d'acide clavulanique. La combinaison de la pénicillinase et céphalosporinase fait que le germe ne reste sensible qu'aux céphalosporines de troisième génération (FLANDROIS, 1997).

II- 2- 2- 2 Levure :

II- 2- 2- 2- 1 *Candida albicans* :

II- 2- 2- 2- 1- 1 Définition :

Levure endo-saprophyte, organisme unicellulaire, responsable d'infections cutanéomuqueuses superficielles et/ou profondes (KARILA et KHOSROTEHRANI, 2001).

Levures ovalaires ou rondes au microscope, sur gélose, elles sont blanches, crémeuses, lisses, formant des « pattes », des colonies étoilées (GLOOR, 2009). (Photo 06)



Photo 06 : *Candida albicans* sous un microscope électronique
(HARLEY et *al.*, 2010)

II- 2- 2- 2- 1- 2 Position systématique :

Domaine : *Fangi*

Phylum : *Ascomycota*

Classe : *Saccharomycetes*

Ordre : *Saccharomycetales*

Famille : *Saccharomycetaceae*

Genre : *Candida*

Espèce : *Candida albicans*. (KASMI et BELKASMI, 2010)

II- 2- 2- 2- 1- 3 Habitat et transmission :

Candida albicans est une levure cosmopolite, commensale des muqueuses oropharyngées, gastro-intestinales et génito-urinaires. Elle peut occasionnellement coloniser la peau (GLOOR, 2009).

Sa transmission est endogène à partir d'un foyer digestif le plus souvent. Plus rarement exogène, inter-humaine, vénérienne ou par contamination du nouveau-né par la mère (BAFOUNTA, 2001).

II- 2- 2- 2- 1- 4 Pouvoir pathogène et toxicité:

Ce microorganisme possède divers mécanismes régulateurs et particularités biologiques qui interviennent dans la pathogénèse : capacité d'adhérence aux tissus de hôte liée aux résidus du mannose présents surtout dans la paroi mais pas exclusivement, aptitude à produire des structures filamenteuses (tube germinatif, pseudomycélium) dotées d'un pouvoir de pénétration cellulaire et d'échappement aux phagocytes, sécrétion d'enzymes lytiques dont les aspartyl protéinases sécrétées (ou SAP), qui constituent une famille de 10 gènes, sont maintenant reconnues comme facteur de virulence, mécanismes d'échappement aux défenses immunologiques de hôte grâce au système de régulation de la glycosylation (DENIS, 2002).

Son pouvoir pathogène, cutané ou muqueux, s'exprime sous l'influence de multiples facteurs :

- Locaux : PH acide, humidité, macération, irritation chronique.
- Généraux :
 - o Antibiothérapie à large spectre.
 - o Immunodépression cellulaire (SIDA), éventuellement médicamenteuse (corticothérapie, thérapeutique cytostatique ou immuno-suppressive, psychotropes).
 - o Diabète, hypothyroïdie.

- Modification hormonale (grossesse, contraception par estro-progestatifs) (BAFOUNTA, 2001).

II- 3 Méthodes de travail :

II- 3- 1 Méthode d'extraction des huiles essentielles :

L'extraction des huiles essentielles à été effectuée par hydrodistillation. Cette méthode consiste à immerger directement le matériel végétal à traiter (intact ou éventuellement broyé (turbodistillation) dans un alambic remplie d'eau distillé qui est ensuite porté à ébullition. Les vapeurs hétérogènes sont condensées sur une surface froide et les huiles essentielles se séparent par déférence de densité.

200g des fruits de la plante introduit dans un ballon de 1000ml, imprégné d'eau distillée, l'ensemble est porté à ébullition pendant 2 à 3 heures. Cette hydrodistillation est réalisée trois fois. Les vapeurs chargées des huiles ; en traversant un réfrigérant se condensent de chutent dans une erlenmeyer et après, l'eau et les huile se séparent par différence de densité. (Photo 07)

Les huiles séparées de l'eau aromatique sont déshydratées par le sulfate de sodium (Na_2SO_4), et conservées à $+4,5\text{ }^\circ\text{C}$.



Photo 07 : L'appareil d'hydrodistillation

(Originale)

II- 3- 2 Etude de l'activité anti microbienne de la plante *Citrullus colocynthis* :

II- 3- 2- 1 Les souches microbiennes testées :

Les germes qui ont été testés pour déceler l'activité antimicrobienne des extraits *Citrullus colocynthis* sont les suivants :

- Deux souches bactériennes cliniques isolées de patients hospitalisés (au laboratoire d'analyse médical Ibn Rochd, Ghardaïa): *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*.
- Nous avons utilisé un seul type de levure de référence, à savoir *Candida albicans* isolé de patients hospitalisés (au laboratoire d'analyse médical Ibn Rochd, Ghardaïa).

II- 3- 2- 2 Les milieux de culture :

Les milieux de culture utilisés pour la réalisation des tests antimicrobiens sont les suivants :

Pour l'isolement et l'entretien des souches bactériennes :

- L'Hektoene pour *Escherichia coli*.
- Chapman pour *Staphylococcus aureus*.

Pour l'isolement et l'entretien de la levure :

- La gélose Sabouraud pour *Candida albicans*.

Pour l'étude de sa sensibilité aux extraits :

- La gélose Mueller Hinton pour l'étude de la sensibilité des bactéries et de la levure au l'extrait de la plante.

II- 3- 2- 3 Isolement des microorganismes :

Les souches microbiennes à isoler ont été cultivées dans des boites de pétrie contenant les milieux de culture différents : l' L'Hektoene pour *Escherichia coli*, Chapman pour *Staphylococcus aureus*, La gélose Sabouraud pour *Candida albicans*.

Après 24h d'incubation à 37°C, des suspensions microbiennes ont été préparées, pour chaque microorganisme, dans 10 ml d'eau distillée stérile.

II- 3- 2- 4 Test de sensibilité à l'extrait brut des fruits :

II- 3- 2- 4- 1 Antibioaromatogramme :

Après une extraction des huiles essentielles à partir de la plante par une méthode d'hydrodistillation, on prépare un antibioaromatogramme (Photo 07) : Le milieu de culture Mueller Hinton approprié est coulé dans des boîtes de pétri de 90 mm de diamètre et inoculée avec une suspension microbienne pure. Une boîte est utilisée pour chaque souche. Des disques de papier Whatman stérile de 0,6 mm de diamètre sont imbibés de 30ml d'extrait, puis déposés à la surface des milieuxensemencés, chaque boîte contient 4 disques, l'ensemble est incubé pendant 24 heures à 37°C. Dès l'application des disques imprégnés l'extrait diffuse de manière uniforme et après 24 heures d'incubation, la présence autour des disques d'une zone d'inhibition circulaire dans laquelle il n'y a pas de croissance de micro-organismes dénote la sensibilité de ceux-ci à cet extrait. Plus la zone d'inhibition est grande, plus le germe est sensible.



Photo 08: Les antibioaromatogrammes des souches microbiennes

(Originale)

CHAPIRE III: RESULTATS ET DISCUSSION

III- 1 Le rendement :

Après l'extraction avec l'appareil d'hydrodistillation on a mesurés le poids de l'extrait qui est égal à 10g et cette valeur pour une extraction d'après 600g des fruits de la plante étudiée.

D'après (HELLAL, 2011) le rendement en huiles essentielles est le rapport entre le poids des huiles extraites est le poids de la biomasse végétale à traiter. Le rendement est exprimé en pourcentage (%) et calculé par la formule suivante :

$$R = (P_h / P_v) * 100$$

R : Le rendement en huiles essentielles en %

P_h : Poids des huiles essentielles en gramme (g)

P_v : Poids de la biomasse végétale (g)

Donc le rendement en huiles essentielles de La coloquinte R= 1.67% est appréciable et peut être rentable à l'échelle industrielle.

III- 2 Etude d'activité anti microbienne :

La lecture se fait par la mesure des diamètres d'inhibition à l'aide d'une règle et les résultats de notre l'étude de l'activité antimicrobienne sont résumés dans le tableau 04 et dans La figure 13.

III- 2- 1 *Staphylococcus aureus* :

Il n'y a pas une inhibition de ce microorganisme avec l'extrait des fruits de la *Citrullus colocynthis*, mais il y a une résistance car il y un développement des bactéries autour les quatre disques (Photo 9). Donc le résultat est négatif avec la bactérie *Staphylococcus aureus*. (Tableau 04)

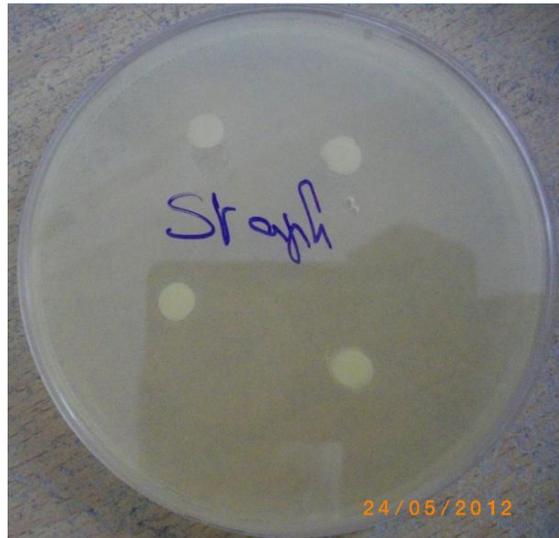


Photo 9 : Antibioaromagramme de *Staphylococcus aureus*

(Originale)

III- 2- 2 *Escherichia coli* :

Les même observations pour ce microorganisme il y a une résistance c'est-à-dire développement autour des disques (Photo 10). Donc le résultat est négatif avec l'*Escherichia coli*. (Tableau 04)



Photo 10 : Antibioaromatogramme d'*Escherichia coli*

(Originale)

III- 2- 3 *Candida albicans* :

Dans ce cas il y a une insensibilité de la levure *Candida albica* avec l'extrait des fruits de la plante car les colonies apparaîtront auteurs des disques. (Photo 11) Donc le résultat est aussi négatif avec la levure *Candida albicans*. (Tableau 04)

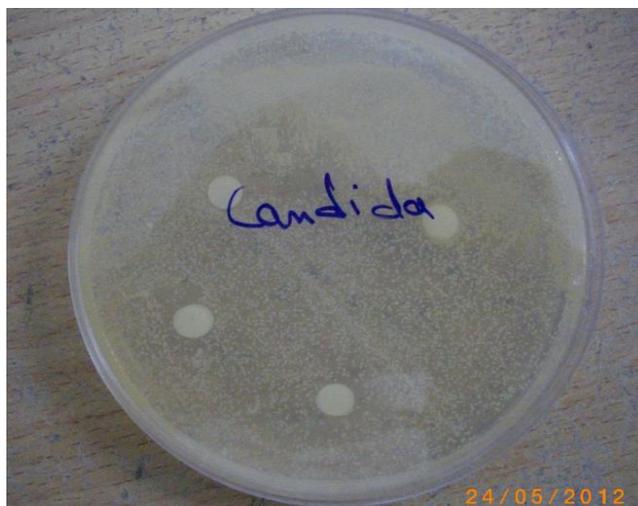


Photo 11 : Antibioaromagramme de la levure *Candida albicans*

(Originale)

Tableau 04: Les résultats de l'étude d'activité antimicrobienne d'extrait brut des fruits de la coloquinte (*Citrullus colocynthis*)

Les souches microbiennes	Diamètre d'inhibition	Sensibilité
<i>Staphylococcus aureus</i>	0	-
<i>Escherichia coli</i>	0	-
<i>Candida albicans</i>	0	-

(-) Absence de sensibilité

(+) Présence de sensibilité

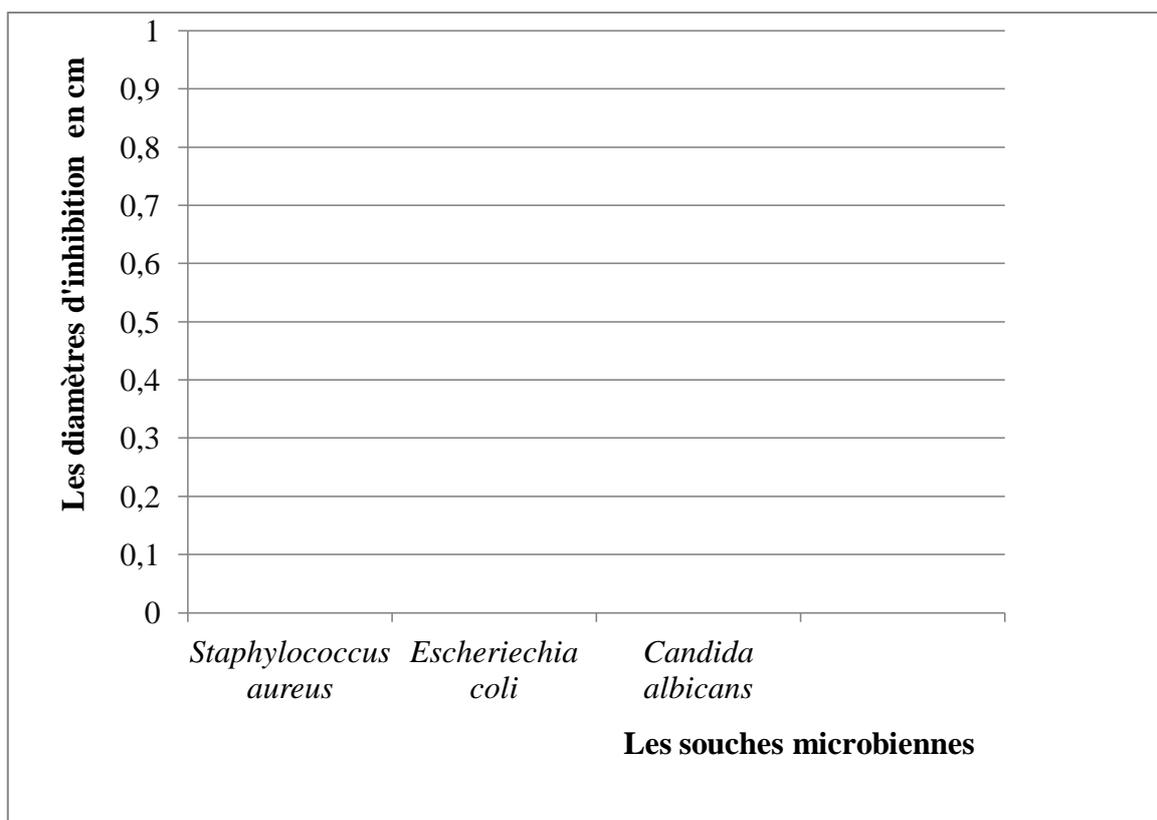


Figure 13: Les diamètres d'inhibition des souches microbiennes

Les résultats ci-dessus concernant l'activité antimicrobienne ((in vitro)) obtenu à l'aide de la méthode de diffusion sur gélose montrent que l'activité antibactérienne et antifongique des huiles essentielles testées est en fonction de la bactérie et la levure cible. Il s'est avéré aucune zone d'inhibition autour des disques n'a été observée vis-à-vis les huiles essentielles des fruits de la plante *Citrullus colocynthis*. Les bactéries *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli* et la levure *Candida albicans* ne possèdent pas une sensibilité avec des huiles essentielles de *C. colocynthis*. (Figure 13)

On comparaison avec les résultats de d'analyse biochimiques de la plante de (ASYAZ et al., 2010), cette plante contient des métabolites secondaires qui posèdent un effe biologique très important (Tableau 03), d'après (BEKHECHI et ABDELOUAHIDE, 2010) les huiles essentielles ont un champ d'action très large, elles inhibent aussi bien la croissance des bactéries que celle des levures et des moisissures. On plus d'après (USMAN et al, 2003) les extraits éthanoliques des fruits, feuilles, tiges et les racines ont été jugés active contre les bacilles à Gram positif, à savoir, *Bacillus pumilus* et *Staphylococcus aureus*, tandis que les extraits des fruits et des racines donnés des résultats positifs contre les bactéries bacilles Gram positif (*Bacillus subtilis*). Les bacilles à Gram négatif, *Escherichia coli* et *Pseudomonas*

aeruginosa n'ont montré aucune réponse. Les résultats de notre étude sont très différents, ce qui peut être expliqué par notre choix de la méthode qu'on a réalisé, -à savoir - la méthode d'extraction ou bien les huiles qui ne sont pas concentré à cause de la période de séchage qui est très faible ou bien la quantité des fruits de la plante qui n'était pas suffisante.

CONCLUSION

Après une extraction par hydrodistillation des huiles essentielles des fruits de la plante *Citrullus colocynthis*, et après une étude d'activité antimicrobienne de ces huiles ; - à savoir- l'activité antibactérienne contre la bactérie Gram + *Staphylococcus aureus* et la bactérie Gram – *Escherichia coli*, et l'activité antifongique contre la levure *Candida albicans* :

On a calculé le rendement d'extraction des huiles essentielles des fruits de *Citrullus colocynthis* qui est égale à (1,67%) est appréciable et peut être rentable à l'échelle industrielle.

Et Pour les activités antibactériennes et antifongiques de cette plante, il y a une insensibilité des souches bactériennes *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus* d'après les mesures des diamètres d'inhibition autour des disques. Et pour La levure *Candida albicans* il y a aussi une insensibilité.

Donc d'après ces résultats, les huiles essentielles de cette plante qui est obtenu par la méthode d'hydrodistillation ne possèdent pas un effet anti microbienne contre les bactéries *S.aureus* et *E.coli* et contre la levure *C.albicans*. Mais en comparaison avec d'autres études qui confirment une activité antimicrobienne on peut mette en cause notre méthode d'extraction ; sinon ça reste à confronter avec d'autres études.

REFERENCES

BIBLIOGRAPHIQUES

-
- **AYAZ S., FARMAN U.K., IQBAL H., MURAD A.K. and IHSAN U.k., 2010** – Evaluation of chemical analysis profile of *Citrullus colocynthis* growing in southern areas of Khyber Pukhtunkhwa, Pakistan. IDOSI Publications World applied Sciences Journal 10 (4), Pakistan: 402-405.
 - **BAFOUNTA M.L., 2001** – Dermatologie. Edition ESTEM, Edition MED-LINE, Paris: 231.
 - **BARDEAU F., 2009** – LES HUILES ESSENTIELLES. ÉDITION LANORE, Paris : 315.
 - **BASANÇON P., DEBOSQUE S., DEXOMPS B., GERBER M., LÉGER C.L., PANDILLA M. ET PUYRENIER M., 2000** – ALIMENTATION MÉDITERANÉENNE ET SANTÉ. JEAN LIBBEY EUROTTEXT, Paris : 175.
 - **BEKHECHI C. et ABDELOUAHID D., 2010** – LES HUILES ESSENTIELLES. OFFICE DE PUBLICATIONS UNIVERSITAIRE, Alger : 55.
 - **BELLOUM Z., 2007** - ETUDE PHYTOCHIMIQUE DES PLANTES MÉDICINALES ALGÉRIENNES, CAS DE L'ESPECE *Inula crithmoides L* . Thèse de magister, CONSTANTINE : 210.
 - **BENCHELAH A.C., BOUZIANE.H., MAKHA M. et OUAHÉS. C., 2000** - FLEURS DU SAHARA VOYAGE ETHNOBOTANIQUE AVEC TOUAREGS DU TASSILI. Ibis Press, Paris (France), P62.
 - **BRUNETON J., 1999** – PHARMACOGNOSIE PHYTOCHIMIE PLANES MEDICINALE. 3^{ème} EDITION THECHNIQUE & DOCUMENTATION, Paris : 1136.
 - **CATIER O. et ROUX D., 2007** – BOTANIQUE PHARMACOGNOSTIQUE PHETOTHERAPIE. 3^{ème} EDITION WALTERS KLIWR, Paris : 141.
 - **CHEHMA A., 2006** - CATALOGUE DES PLANTES SPONTAN2ES DU SAHARA SEPTENTRIONEL ALGERIEN. LABO -ECO-SYS, OUARGLA, P75.
 - **CHOPRA I.C, ABROOL B.K et HANDA K.L., 1960** – PLANTES MEDICINALES DES RÉGIONS ARIDES. ORGANISATION DES NATIONS UNIES POUR L'EDUCATION (UNESCO), Paris : 99.
 - **DANIAL R., NATHALIE G., FABIENNE P., PATRICK C. et THIERRY S., 2010** - BIOLOGI Licence. DUNOD, Paris : 697.
 - **DENIS F., 2002** - BACTERIES, CHAMPIGNONS ET PARASITES TRANSMISSIBLES DE LA MERE A L'ENFANT. John Libbey Eurotext, Paris : 484.

-
- **DESCHEEMAEKER K., 2004** – NUTRI & PHYTOTHÉRAPIE. GARANT, Anvers: 73.
 - **DEWICK P.A., 2002** – MEDICINAL NATUREL PRODUCTS. SECOND EDITION JEHN WILEY & SONS, LTD, England: 507.
 - **FARAGA C.G., 2010** – PLANT PHENOLICS AND HEALTH. JOHN WILEY & SONS, Canada: 593.
 - **FLANDROIS J.P., 1997** - BACTERIOLOGIE MEDICALE. PRESSES UNIVERSITAIRES, LYON : 300.
 - **GLOOR A., 2009** – ANTIFONGIGRAMME. ICHV, laboratoire de bactériologie, Sion : 62.
 - **GOUBAU .P et VAN G.A., 2000** – REPÈRE EN MICROBIOLOGIE. LOUVAIN GRANT, Louvain (Belgique) : 391.
 - **GUITTONNEAU G.G., 2011** – La flore et la végétation de la Tunisie méridionale. SOCIÉTÉ BOTANIQUE DE France, France : 283-359.
 - **GURUDEEBAN S., 2007** - CHEMICAL COMPOSITION AND CHARACTERISTICS OF VOLATILE COMPOUNDS FROM *Citrullus colocynthis* Schrad. CENTRAL FOOD TECHNOLOGICAL RESEARCH INSTITUTCENTRAL MYSORE, India: 21.
 - **HADIZADEH I., PEIVASTEGAN B. AND KOLAH M., 2009** – ANTIFUNGUCAL ACTIVITY OF NETTE (*Urtica dioica. l*), COLOCYNTH (*Citrullus colocynthis L.* Schrad), OLENDER (*Nerium oleander .L*) AND KONAR (*Ziziphus spina-christi.L*) EXTRACTS ON PLANTS PATHOGENIC FUNGI. Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences 12(1), Pakistan: 58-63.
 - **HARLEY JP., KLEIN D.A., PRESCOTT L.M., SHERWOOD L.M., WILLEY J.M. et WOOLVERTON C.J., 2010** – MICROBIOLOGIE. De Boeck Supérieur, Bruxelles : 1216.
 - **HASNA E., VINCENT L. et GÉRARD P., 2007** - LE GUIDE D'ANALYSE DES DANGERS BACTERIOLOGIQUES. CERVIA PARIS Ile-de-France, Paris : 35.
 - **HELLAL Z., 2011** – CONTRIBUTION A L'ETUDE DES PROPRIETES ANTIBACTERIENNES ET ANTIOXYDANTES DES CERTAINES HUILES ESSENTIELLES EXTRAITES DES CITRUS. APPLICATION SUR LA SARDINE (*Sardina pilchardus*). Thèse de magister en biologie, TIZI OUZOU : 78.
 - **HELLER R., ESNAULT et R. et LANCE C., 1998** – PHYSIOLOGIE VÉGÉTALE 1- Nutrition. DUNOD, Paris : 366.

- **HMZA N., 2010** -EFFETS PRÉVENTIF ET CURATIVE DE TROIS PLANTES MÉDICINAES UTILISÉES DANS LE WILAYA DE CONSTANTINE POUR LE TRAITEMENT DE DIABÈTE DE TYPE 2 EXPERIMENTALE INDUIT PAR LA RÉGION << HIGH FAT >> CHEZ LA SOURIS C57BL/6L. Thèse de doctorat, CONSTANTINE : 154.
- **KARILA L. et KHOSROTEHRANI K., 2001** – DERMATOLOGIE. Editions ESTEM, Paris : 100.
- **KASMI N. et BELKASMI E.k., 2010** – Contribution à l'étude de l'activité antimicrobienne de l'extrait foliaire brut de *Capparis spinosa*.L. THESE DE MAGISTER, OUARGLA .
- **LEMOINE C., 2004** – Les plantes toxiques. Edition JEAN-PAUL GISSEROT, France : 31
- **LOULERGUE P. et TOURET S., 2003** - Le staphylocoque doré résistant à la méthicilline d'origine communautaire. DES de Bactériologie, Virologie et Hygiène Hospitalière : 26.
- **MARC J., JEAN.F. M.G., ROGER P., ISABELLE B.C., FRANÇOIS P., CATHERINE P.R., MICHÈLE R. et ARNOULD S., 2009** – BIOLOGIE VÉGÉTALE croissance et développement, EDITION DUNOD, Paris : 596.
- **MARCHEIX J.J., FLEURIER A. et JAY.A. C., 2005** – LESCOMPOSÉS PHÉNOLIQUES DE VÉGÉTAUX. PRESSES POLYTECHNIQUES ET UNIVERSITAIRES ROMANDES, Lausanne : 192.
- **MARIE A., ORFILA J., DOULAYE S. et SCHEMANN J.F., 2006** – LUTTE CONTRE LE TRACHOME EN AFRIQUE SUBSAHARIENNE. EDITION IRD, Paris : 269.
- **MERGHEM R., 2009** -ÉLÉMENTS DE BIOCHIMIE VÉGÉTALE. BAHAEEDDINE EDITIONS, Constantine: 175.
- **MESSIAN G.M., COHAT J., LEROUX J.P., PICHON M. et BEYRIES A., 1993** – LES ALLIUM ALIMENTAIRES. EDITION IRNA, Paris : 228.
- **NABORS M., 2008** – STRUCTURES, FONCTIONENEMNT ECOLOGIQUES ET BIOTECHNOLOGIQUE. PEARSON EDUCATION, Paris : 614.
- **NMILA R., RCHID H., GROSS R., MANTEGHETTI M., RIBES G., PETIT P., TIJANE M. et SAUVAIRE Y., 2002** - MISE EN EVIDENCE D'UN EFFET

- INSULINO-STIMULANT DE FRACTIONS DE GRAINES DE COLOQUINTE (*Citrullus colocynthis* L. Schrader). Biologie & Santé n° 2, Maroc : 88-99.
- **PELMONT J., 2005** – BIODÉGRADATIONS ET MÉTABOLISMES. Édition Diffusion Presse Sciences, France : 798.
 - **RAVEN P.H., EVERTR F., EICHHOEN S.E., 2007** -BIOLOGIE VÉGÉTALE.2^{ème} EDITIONS DE BOECK & Larcier s.a, Paris : 733.
 - **SAHKI A. et SAHKI R., 1993** -LA HOGGAR PROMENADE BOTANIQUE. EDITION ESOPE, France : 312.
 - **SARNI M.P. et CHEYNIER V.,2006** -LES POLYPHENOLES EN AGROALIMENTAIRE. Edition TEC & DOC Lawoisier, Paris : 398.
 - **SERGE R., 2003** –PHYSIOLOGIE VÉGÉTALE. 2^{ème} ÉDITION DE BOECK, Bruxelles : 514.
 - **SHAMONNO D.M., Hilary B., 2005** - *Escherichia coli* infections. Chelsea House Publishers, America: 136.
 - **SUSSMAN M., 1997** – *Escherichia coli* mechanism of virulence. Cambridge University Press, Cambridge: 639.
 - **TAPIERO H., 2006** – STRESS OXYDATIF ET ALICAMENTS. EDK, Paris : 75.
 - **TORTORA G.J., FUNKE B. et CASE C.H., 2003** – INTRODUCTION A LA MICROBIOLOGIE. Edition du renouveau pédagogique Inc, Saint Laurent : 1000.
 - **USMAN M., ABDUL H.B., SYED W.A., IQBAL A. AND HUSAN O., January 2003** - Antibacterial screening of *Citrullus colocynthis*. Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences, Vol. 16, N°.1, Pakistan: 1-6.
 - **VICAN, 2001** - ENCYCLOPEDIE DES PLANTES MEDICINALES : Identification, préparation, soins. LAROUSSE, Paris : 335.

Résumé

Cette thèse concerne l'étude de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles contenue dans l'extrait brut des fruits de la plante *Citrullus colocynthis*. Le rendement d'extraction est égale à 1,67% ; ce qui est appréciable et peut être rentable à l'échelle industrielle. Nos résultats ont montrés l'absence de toute sensibilité ou d'autres effets antimicrobiens des huiles essentielles de *Citrullus colocynthis* Les huiles essentielles extraite de la plante a été testée contre les bactéries suivantes: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*; et contre la levure: *Candida albicans*.

Mots clés : *Citrullus colocynthus*, métabolites secondaires, huiles essentielles, effet biologique.

ملخص

هذه الدراسة تتمحور حول الفعالية ضد الميكروبات للزيوت العطرية المحتواة في المستخلص الخام لنبات الحنظل. المردود المتحصل عليه يعادل 1,67 %، وهي نتيجة مهمة في الربح بالجانب الصناعي. أكدت النتائج عدم وجود أية حساسية أو تأثيرات أخرى ضد الميكروبات للزيوت العطرية لنبات الحنظل. والزيوت المستخلص للفاكهة استخدم ضد البكتيريا *Staphylococcus aureus* و البكتيريا *Escherichia coli*، و ضد الخميرة *Candida albicans*. الكلمات المفتاحية: نبات الحنظل، الأيضات الثانوية، الزيوت العطرية، الفاعلية البيولوجية.

Summary

Our study is about the antimicrobial activity of crude extract of fruits of the plant *Citrullus colocynthis*. Therefore test the essential oil against microorganisms, the yield is equal to 1.67% is significant and can be profitable on industrial scale. Our results showed the absence of antimicrobial properties of the essential oil extracted from the plant *Citrullus colocynthis*, they were tested against the following bacteria: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and against yeast *Candida albicans*.

Keywords: *Citrullus colocynthis*, secondary metabolites, the essential oil, biological effect.