

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur Et de La Recherche Scientifique



Université de Ghardaïa

N° d'ordre :
N° de série :

Faculté des sciences de la nature et de la vie et des sciences de la terre
Département de Biologie

Projet de fin d'étude présenté 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 des huiles
essentielles des fruits de *Citrullus colocynthis***

Par :

BENGHEZAL Sabrine

BENOUDINA Hamida

Jury :

M. HAMID OUDJANA Aicha

Maître Assistant A

Univ. Ghardaïa

Encadreur

M. BELGHIT Saïd

Maître Assistant A

Univ. Ghardaïa

Examineur

Année universitaire 2012/2013

Dédicaces

A l'aide de DIEU, le tout puissant, ce travail est achevé

Je le dédie à toutes les personnes qui me sont chères

À mes parents je leurs exprimes tout le respect et l'amour que j'ai pour leurs témoigner ma reconnaissance pour tous les efforts et sacrifices qui ont entrepris pour me voir ce que je suis

Ma grand-mère maternelle que j'estime beaucoup

Mes chères sœurs : Amel, Yasmine

Mes chers frères : Mouloud, Rachid

Toute la famille Benghezal et Boumendil ; mes oncles, mes tantes, mes cousins et mes cousines

A ma meilleure amie d'enfance Amel et sa famille

Mes spéciales dédicaces pour mon binôme Hamida et toute sa famille

A mes amies: Hadjer, Imén, Marwa, Amel, Amina, faredj, Abdelkader.

Et a toutes la promotion SNV (2012/2013).

Et à tous ceux que j'aime

Benghezal Sabrina

Dédicaces

 Ce travail est

*l'aboutissement de plusieurs mois d'études aux quelles
l'amour et le soutien de mes parents, qui ont permis de me former et
encouragé pendant ma formation. Que le dieu les protèges et les gardent en
bonne santé*

 *A la lumière de ma vie, mes très chers parents :*

*Ma mère a qui je souhaite une longue vie pleine de bonheur et
de santé.*

 *Mon père pour son amour et ces sacrifices sans limites.*

 *A mon très chères sœurs : Salma.*

 *Mes très chers frères qui m'ont toujours encouragé : elhachemi,
Abderrahmane, Abdeljalil, akram.*

 *A ma très chère grand-mère elkhadem, pour la quelle je souhaite une
longue vie.*

 *A la mémoire de mes grands parents.*

 *Toute la famille ben oudina et ben ghenia ; mes oncles, mes tantes, mes
cousins et mes cousines.*

A ma très chère binôme : sabrine et toute sa famille.

 *Tous mes amis : imène. amel. mounissa .warda . mazouza. marwa.
Mariam. Zahra. Linda. soumia .salima. Amina.abdelkader. abdelwahab.*

faradj

 *Et à tous ceux que j'aime*

Ben oudina Hamida

Remerciement

🌸 *Nous remercions « dieu » avoir offert les capacités d'apprendre les sciences qui sont effectivement la lumière de la vie des hommes dans son ensemble.*

🌸 *Que ces quelques lignes soient l'expression de notre profonde reconnaissance aux personnes qui sont Suits :*

🌸 *Nous tenons à présenter nos remerciements les plus sincères à notre promotrice M^{me} Hamid oudjana aicha pour ses orientations, ses conseils précieux et son perpétuel dévouement.*

🌸 *M^r belghite Saïd, d'avoir accepté d'examiner notre travail, et ses aides précieuses dans la réalisation de cette étude et d'avoir accepté d'examiner notre travail.*

🌸 *Enfin, nous témoignons notre reconnaissance à toute personne ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de notre mémoire, surtout M^{elle} talli alia, M^r hadj Saïd Abdelkader. Et chef département M^r ben Brahim fouzi*

ملخص:

الهدف من دراستنا هو تحديد التأثير المضاد للميكروبات للزيوت الأساسية من نبات الحنظل على بعض البكتيريا المسببة للأمراض. اعتمدت الاختبارات على طريقة الانتشار على المدى المتوسط الصلبة (حساسية)، وتبين دراستنا الحد الأقصى لتثبيط في *Staphylococcus aureus* مع منطقة تثبيط تساوي $14 \pm 1,41$ مم والحد الأدنى من تثبيط في *Listeria monocytogenes* مع منطقة تثبيط تساوي $9 \pm 1,41$ مم، و تثبيط متوسط *Pseudomonas aeruginosa* و *Escherichia coli*، و *Proteus vulgaris* يساوي $10 \pm 1,41$ مم، و 12 ± 00 مم و $13 \pm 1,41$ مم، على التوالي، في حين الزيوت العطرية لنبات الحنظل لم يكن لها أي تأثير على *Bacillus subtilis*.

الكلمات المفتاحية: الأيض الثانوي، الزيوت الأساسية، نبات الحنظل، hydrodistillation، سلالات بكتيرية، التأثير البيولوجي.

Résumé :

Le but de notre étude est de déterminer l'effet antimicrobien des huiles essentielles de la plante *Citrullus colocynthis* sur quelques bactéries pathogènes. Le test adopté, est basé sur la méthode de diffusion sur milieu solide (antibiogramme), notre étude montre un maximum d'inhibition chez *Staphylococcus aureus* avec une zone d'inhibition égale à $14 \pm 1,41$ et un minimum d'inhibition chez *Listeria monocytogenes* avec une zone d'inhibition égale à $9 \pm 1,41$ mm, pour *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* et *Proteus vulgaris*, une inhibition moyenne égale à $10 \pm 1,41$ mm, 12 ± 00 mm et $13 \pm 1,41$ mm respectivement, cependant l'huile essentielle de la plante *Citrullus colocynthis* ne présente aucun effet sur la souche de *Bacillus subtilis*.

Mots clés : métabolites secondaires, huile essentielle, *Citrullus colocynthis*, hydrodistillation, souches bactériennes, effet biologique.

Summary:

The aim of our study was to determine effect of antimicrobial of essentials oils of plant *Citrullus colocynthis* on some bacteria Pathology.

The test adopted is based on the diffusion method on solid milieu (sensitivity), our study shows a maximum of inhibition in *Staphylococcus aureus* with an inhibition zone equal to $14 \pm 1,41$ mm and minimum inhibition in *Listeria monocytogenes* with an inhibition equal to $9 \pm 1,41$ mm, for *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* and *Proteus vulgaris*, the average of inhibition equal $10 \pm 1,41$ mm, 12 ± 00 mm and $13 \pm 1,41$ mm, respectively, but the essential oil of the plant *Citrullus colocynthis* has no effect on *Bacillus subtilis*.

Keywords: secondary metabolites, essential oil, *Citrullus colocynthis*, hydrodistillation, bacterial strains, biological effect.

Liste des abréviations

HE : huile essentielle.

Liste de tableaux

Tableau	Titre	Page
1	Principales classes des composés phénoliques.....	4
2	Distribution nutritionnelle de certains flavonoïdes dans quelque aliment.....	7
3	Les différentes classes d'huiles essentielles.....	10
4	Familles botaniques avec les organes sécréteurs des huiles essentielles ainsi que quelques exemples de végétaux.....	15
5	Résultats d'étude d'activité antimicrobienne d'extraits des huiles essentielles de <i>Citrullus colocynthis</i>	40

Liste des Photos

Photos	Titre	Page
1	<i>Citrullus colocynthis</i> L.....	24
2	<i>Proteus vulgaris</i>	32
3	Aspect de <i>Listeria monocytogenas</i>	34
4	<i>Bacillus subtilis</i> observé en microscope électronique à balayage.....	36
5	Montage d'hydrodistillation pour l'extraction des huiles essentielles....	37
6	Etape de préparation de milieu de culture.....	38
7	Etapes de préparation de l'inoculum.....	39
8	Etape d'ensemencement.....	39
9	Etape de dépôt des disques.....	40
10	Aromatogramme <i>Escherichia coli</i>	43
11	Aromatogramme <i>Staphylococcus aureus</i>	43
12	Aromatogramme <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	44
13	Aromatogramme <i>Listeria monocytogenas</i>	44
14	Aromatogramme <i>Proteus vulgaris</i>	45
15	Aromatogramme <i>Bacillus subtilis</i>	45

Liste des Photos

Photos	Titre	Page
1	<i>Citrullus colocynthis</i> L.....	24
2	<i>Proteus vulgaris</i>	32
3	Aspect de <i>Listeria monocytogenas</i>	34
4	<i>Bacillus subtilis</i> observé en microscope électronique à balayage.....	36
5	Montage d'hydrodistillation pour l'extraction des huiles essentielles....	37
6	Etape de préparation de milieu de culture.....	38
7	Etapes de préparation de l'inoculum.....	39
8	Etape d'ensemencement.....	39
9	Etape de dépôt des disques.....	40
10	Aromatogramme <i>Escherichia coli</i>	43
11	Aromatogramme <i>Staphylococcus aureus</i>	43
12	Aromatogramme <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	44
13	Aromatogramme <i>Listeria monocytogenas</i>	44
14	Aromatogramme <i>Proteus vulgaris</i>	45
15	Aromatogramme <i>Bacillus subtilis</i>	45

Liste des Figures

figure	Titre	Page
1	Représentation graphique des diamètres des zones d'inhibition (mm).....	42

SOMMAIRE



Sommaire

Liste des tableaux	
Liste des photos	
Liste des figures	
Résumé	
Introduction	1
Chapitre I : Etude bibliographique	
I.1. Généralités sur La lutte biologique.....	2
I.2. Les métabolites secondaires.....	3
I.2.1. Les terpènes	3
I.2.1.1. les polyphénols.....	3
I.2.1.1.1. Structure des polyphénols.....	4
I.2.1.2. Les Alcaloïdes.....	4
I.2.1.2.1. Définition, Classification et distribution des alcaloïdes.....	5
I.2.1.3. Les flavonoïdes.....	6
I.2.1.3.1. Structure et classification des flavonoïdes.....	6
I.2.1.3.2. Distribution et localisation des flavonoïdes.....	6
I.2.1.3.3. Propriété biologique des flavonoïdes.....	7
I.2.2. Les huiles essentielles.....	7
I.2.2.1. Composition chimique des huiles essentielles.....	8
I.2.2.1.1. Composés terpéniques.....	8
I.2.2.1.2. Composés aromatiques.....	9
I.2.2.1.3. Composés d'origines diverses.....	9
I.2.2.2. Caractéristique physico-chimique des huiles essentielles.....	10
I.2.2.3. Classification des huiles essentielles.....	10
I.2.2.4. Rôle biologique des huiles essentielles.....	13
I.2.2.5. Domaines d'utilisation des huiles essentielles.....	13
I.2.2.5.1. En pharmacie.....	13
I.2.2.5.2. Industrie alimentaire.....	14
I.2.2.5.3. Parfumerie et cosmétologie.....	14
I.2.2.5.4. Aromathérapie.....	14
I.2.2.5.5. Médecine dentaire.....	14
I.2.2.6. Répartition et localisation des huiles essentielles.....	15
I.2.2.7. Mode d'obtention des huiles essentielles.....	15

I.2.2.7.1.	La technique de la pression.....	15
I.2.2.7.2.	Extraction par solvants.....	16
I.2.2.7.2.1.	Extraction par solvants volatils.....	16
I.2.2.7.2.2.	Epuisement par solvants fixes.....	17
I.2.2.7.2.2.1.	Effleurage ou extraction par la graisse froide.....	17
I.2.2.7.2.2.2.	Extraction par macération dans la graisse chaude.....	17
I.2.2.7.3.	Distillation.....	17
I.2.2.7.3.1.	Hydrodistillaiton.....	17
I.2.2.7.3.2.	Entraînement à la vapeur d'eau (ou Vapo-hydrodistillation).....	17
I.2.2.7.4.	Autres procédés d'extraction.....	18
I.2.2.7.4.1.	Hydrodiffusion.....	18
I.2.2.7.4.2.	Extraction assistée par micro-ondes.....	18
I.2.2.7.4.3.	Extraction à l'eau surchauffée.....	18
I.2.2.7.4.4.	Distillation par extraction simultanée (SDE).....	18
I.2.2.8.	Facteurs de variabilité des huiles essentielles.....	19
I.2.2.8.1.	Origine botanique.....	19
I.2.2.8.2.	Cycle végétatif.....	19
I.2.2.8.3.	Les hybridations, Les facteurs de mutation, la polyploïdie et les aberrations chromosomiques.....	19
I.2.2.8.4.	Influence des facteurs extrinsèques.....	19
I.2.2.8.5.	Influence du procédé d'obtention.....	20
I.2.2.9.	Activité biologique des huiles essentielles.....	20
I.2.2.9.1.	Activité anti-microbienne.....	20
I.2.2.9.2.	Activité antioxydante.....	20
I.2.2.9.3.	Activité antibactérienne.....	21
I.2.2.9.3.1.	Bactéricidie et bactériostase.....	21
I.2.2.9.3.2.	Souches microbiennes.....	22
I.2.2.9.3.3.	Les actifs antimicrobiens.....	22
I.2.2.9.4.	Activité antifongique.....	22
I.2.2.10.	Toxicité des huiles essentielles.....	23
Chapitre II : Matériel et méthode		
II.1	Principe adopté.....	24
II.2.	Choix de la matière végétale.....	24
II.2.1.	Noms vernaculaires.....	24
II.2.2.	Position systématique.....	25

II.2.3.	Description botanique.....	25
II.2.4.	Répartition géographique.....	25
II.2.5.	Intérêts socioéconomiques.....	25
II.2.6.	Activités biologique de la plante.....	26
II.3.	Choix de la matière biologique.....	26
II.3.1.	<i>Escherichia coli</i> (colibacille).....	27
II.3.1.1.	Définition.....	27
II.3.1.2.	Position systématique.....	27
II.3.1.3.	Habitat.....	27
II.3.1.4.	Caractéristiques.....	27
II.3.1.5.	Pouvoir pathogène et toxicité.....	28
II.3.1.6.	Sensibilité aux antibiotiques.....	28
II.3.2.	<i>Staphylococcus aureus</i>	28
II.3.2.1.	Définition.....	28
II.3.2.2.	Position systématique.....	28
II.3.2.3.	Habitat.....	29
II.3.2.4.	Caractéristiques.....	29
II.3.2.5.	Pouvoir pathogène et toxicité.....	29
II.3.2.6.	Sensibilité aux antibiotiques.....	29
II.3.3.	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	30
II.3.3.1.	Définition.....	30
II.3.3.2.	Position systématique.....	30
II.3.3.3.	Habitat.....	30
II.3.3.4.	Caractéristiques.....	30
II.3.3.5.	Pouvoir pathogène.....	31
II.3.3.6.	Sensibilité aux antibiotiques.....	31
II.3.4.	<i>Proteus vulgaris</i>	31
II.3.4.1.	Définition.....	31
II.3.4.2.	Position systématique.....	31
II.3.4.3.	Habitat.....	32
II.3.4.4.	Caractéristiques.....	32
II.3.4.5.	Pouvoir pathogène.....	32
II.3.4.6.	Sensibilité aux antibiotiques.....	33
II.3.5.	<i>Listeria monocytogenas</i>	33
II.3.5.1.	Définition.....	33

II.3.5.2	Position systématique.....	33
II.3.5.3.	Habita.....	34
II.3.5.4.	Caractéristiques morphologiques.....	34
II.3.5.5.	Pouvoir pathogène.....	34
II.3.5.6.	Resistance aux antibiotiques.....	35
II.3.1.5.	<i>Bacillus subtilis</i>	35
II.3.1.5.1.	Définition.....	35
II.3.1.5.2.	Position Systématique.....	35
II.3.1.5.3.	Habitat.....	36
II.3.1.5.4.	Caractéristique.....	36
II.3.1.5.5.	Pouvoir pathogène.....	36
II.3.1.5.6.	Resistance aux antibiotiques.....	37
II.4.	Préparation des extraits végétaux.....	37
II.4.1.	Hydrodistillation.....	37
II.5.	Suivie de l'activité antimicrobienne des extraits.....	38
II.5.1.	Préparation du milieu.....	38
II.5.2.	Préparation de l'inoculum.....	38
II.5.3.	Ensemencement.....	39
II.5.4.	Dépôt des disques.....	39
II.5.5.	Analyse d'antibiogramme.....	40

Chapitre III : Résultats et discussion

III.1.	Rendement des huiles essentielles.....	41
III.2.	Activité antimicrobienne des huiles essentielles des fruits de <i>Citrullus colocynthis</i>	41
III.2.1.	<i>Escherichia coli</i>	42
III.2.2.	<i>Staphylococcus aureus</i>	43
III.2.3.	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	43
III.2.4.	<i>Lusteria monocytogenes</i>	44
III.2.5.	<i>Proteus vulgaris</i>	44
III.2.6.	<i>Bacillus subtilis</i>	45
	Conclusions Générale	47
	Référence bibliographique	
	Annexe	

INTRODUCTION

INTRODUCTION

La lutte biologique est une discipline scientifique basée sur les connaissances de la biologie de chacun des organismes impliqués mais aussi sur la prise en compte des relations complexes qui s'instaurent entre ces organismes. Pour mettre en place des programmes de lutte biologique, il est donc nécessaire de comprendre et évaluer les interactions entre organismes vivants ainsi que les interactions environnementales. Il faut aussi améliorer la connaissance de la biodiversité et des spécificités d'hôte et apprendre à gérer les diverses populations en présence (LYDIE, 2010).

Les ravageurs peuvent être des insectes, des arachnides (comme les tétranyques), des micro-organismes causant des maladies mais également des plantes comme certaines mauvaises herbes. Ils sont essentiellement des ravageurs de cultures (agricole, sylvicole ou horticole) en champ et post-récolte mais n'y sont pas restreint. L'utilisation de la lutte biologique peut aussi viser d'autres ravageurs, comme par exemple les insectes piqueurs afin de limiter la propagation de maladies (ex : virus du Nil occidental ou malaria ou les plantes invasives pouvant menacer la biodiversité (ex : salicaire pourpre, *Lythrum salicaria* Linnaeus) (NOEMIE, 2010).

Le développement de nouveaux agents thérapeutiques s'avère indispensable pour lutter contre les phénomènes de la résistance bactérienne et de l'oxydation des aliments. Dans ce but, l'investigation des plantes représente un potentiel inestimable pour la découverte de nouvelles substances à pouvoir antimicrobien et antioxydant. Ainsi les huiles essentielles commencent à avoir beaucoup d'intérêt comme source potentielle de molécules naturelles bioactives. Elles possèdent de nombreuses activités biologiques. Selon les travaux d'OCHOA (2005); FREEMAN et CAREL (2006), ces activités sont liées essentiellement à la composition chimique, aux groupes fonctionnels des composés majoritaires de ces extraits et à leurs effets synergiques (BRUNETON, 1999).

Par ailleurs et dans le but de promouvoir la valeur commerciale de plante *Citrullus colocynthis* et l'étude de l'activité antimicrobienne de huile essentielle permettre de mettre en évidence la qualité de cette huile.

La présente étude comporte trois parties. La première partie est consacrée aux études bibliographiques incluant : des généralités sur les métabolites secondaires exactement les huiles essentielles. Dans la seconde partie de notre étude, la méthodologie est représentée par les techniques utilisées pour la réalisation de ce travail suivie des principaux résultats et leurs discussions. L'étude est achevée par une conclusion générale et des perspectives.

CHAPITRE I:

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE
CHAPITRE I:

I.-Etude bibliographique :

I.1.-Généralités sur La lutte biologique :

En agronomie on appelle la lutte biologique l'utilisation d'organismes vivants ayant pour but de limiter la pullulation et ou la nocivité des divers ennemis des cultures (JOURDHEUIL et *al.*, 1991). Le but de la lutte biologique est de proposer des méthodes utilisant l'introduction volontaire par l'homme de prédateurs, de parasites ou de microorganismes pour réduire ou supprimer des espèces considérées comme nuisibles. En effet, en milieu naturel, chaque espèce vivante a un ou plusieurs ennemis ou compétiteurs naturels qui contribuent à maintenir cette espèce à des niveaux de population en équilibre relativement stable. Toute modification du milieu, naturelle ou provoquée, peut avoir des conséquences sur ces populations (LYDIE, 2010). La lutte biologique peut se pratiquer de plusieurs façons :

-La lutte passive reconnaît les alliés de culture et évite de les déduire par les produits chimiques elle donne une chance à l'équilibre naturel en choisissant des traitements sélectifs n'agissant que sur les parasites et inoffensifs pour les auxiliaires.

-La lutte active apporte les ennemis naturels sur le terrain lorsqu'ils n'existent pas ou lorsqu'ils sont en quantité insuffisante. Cette forme de lutte demande un état d'esprit soutenu par une excellente technicité. Elle demande des connaissances solides en biologie, physiologie végétale et une excellente maîtrise des conduites culturales.

L'organisme vivant utilisé comme agent de lutte est appelé (auxiliaire) de l'homme. On distingue, en fonction de leur mode d'action, d'une part les parasites qui vivent aux dépens de leur proies et peuvent provoquer leur mort (parasitoïdes) et d'autre part les prédateurs qui tuent leur proies et les ingèrent plus ou moins complètement (JOURDHEUIL et *al.*, 1991). Toute introduction d'un auxiliaire de lutte biologique devrait se faire après une évaluation préalable des répercussions potentielles de cette introduction sur le milieu. La lutte biologique nécessite donc une approche pluridisciplinaire qui va mêler la biologie (microbiologie, biologie végétale, biologie animale), la génétique, la dynamique des populations, l'écologie et la pathologie, en particulier la phytopathologie (LYDIE, 2010).

I.2.-Les métabolites secondaires :

Une singularité des végétaux est de former de nombreux dont le rôle au niveau de la plante est ma connu. Le fait que ces composés ne se par chez toutes les espèces indique qu'ils n'entrent pas le métabolisme général et qu'ils n'exercent pas de fonction directe au niveau des activités fondamentales de l'organisme végétale ce sont métabolites secondaire. En fait les métabolite secondaire sont des éléments essentiels de coévolution des plantes avec les organismes vivants tels que parasites, pathogènes et prédateurs, mais aussi pollinisateurs et dissémination (JUDD et *al.*,2002) (CROTEAU et *al.*, 2000).ces différentes relation ont donné lieu à une extrême diversification de ces composes (GUIGNARD, 2000). Parmi ceux les composés phénoliques, les terpènes et les composes azotés dont les alcaloïdes (RAMDANE, 2008).

I.2.1.-Les terpènes :

Les terpènes formant un groupe de produits largement représenté et d'un intérêt chimique considérable, bien que de structures très diverses (TEISSIER, 1991). Les dérivés terpéniques peuvent être considérer en tant que polymères du 5-carbone 2methyl-1, 3butadiène ou isoprène (HOPKINGS, 2003). Selon le nombre d'unités isopréniques qui les constituent on distingue : les monoterpènes en C₁₀ les sesquiterpènes en C₁₅ les diterpènes en C₂₀ les triterpènes C₃₀ les tetraterpenes en C₄₀ et les polyterpenes (≈4000) (GUIGNARD, 2000). Les monoterpènes et les sesquiterpène volatils sont le principal composant des huiles essentielles (JUDD et *al.*, 2002). Les monoterpènes peuvent être classés en acyclique monocycliques et bicyclique, dans chaque série on rencontre les produits oxygénés tels que alcools, aldéhydes, cétones, esters connus depuis un siècle environ (TEISSIER, 1991).

I.2.1.1.- les polyphénols :

L'appellation « poly phénols » ou « composés phénolique » regroupe une vaste ensemble d'environ 8000 composés (H) depuis les simples acides phénoliques jusqu' aux grands polymères complexes que sont par exemple les tannins et la lignine en font également partie les flavonoïdes (HOPKINGS, 2003) (JURISIC et *al.*, 2005). Les différentes classes principales de ces composés phénoliques sont montrées dans le tableau 1. Ils dérivent de l'acide shikimique, ils ont tous en commun la présence d'un ou de plusieurs cycles benzéniques portant un ou plusieurs fonctions hydroxyles (MANCHADOE et CHEYNIER, 2006).

Tableau 1 : Principales classes des composés phénoliques (MANCHADOE et CHEYNIER, 2006).

Nombre d'atome de carbone	Classe	Structure
6	Phénols simples Benzoquinones	C ₆
7	Acides hydrabenzoiques	C ₆ C ₁
8	Acétophénones, acides phénylacétiques	C ₆ C ₂
9	Acides hydroxicinamiques phenylpropanoïdes (coumarines, isocoumarines, chromones)	C ₆ C ₃
10	Naphtoquinones	C ₆ C ₄
13	Xanthonnes	C ₆ C ₁ C ₆
15	Stilbenes Anthraquinones	C ₆ C ₂ C ₆
18	Flavonoïdes iso flavonoïdes	C ₆ C ₃ C ₆
18	Lignanes Neolignanes	(C ₆ C ₃) ₂
30	bi flavonoïdes	(C ₆ C ₃ C ₆) ₂
N	Lignines Tannins condensés	(C ₆ C ₃) _n (C ₆ C ₃ C ₆) _n

I.2.1.1.1.- Structure des polyphénols :

Pour pouvoir étudier les interactions moléculaires, et les propriétés physiologiques qui en découlent, nous avons besoin de connaître avec précision leur structure. Or, la chimie structurale rencontre dans le cas des polyphénols, des problèmes particulièrement délicats. Le nombre de structures polyphénoliques résultant d'une analyse radio cristallographique aux rayons X, qui servent de modèles intangibles pour établir la structure des autres molécules d'une même catégorie de substances naturelles, est si faible que c'est une caractéristique propre à cette famille de composés. En effet, il n'existe qu'une seule structure de dimère (le 6-bromo-B1), qui a pu jusqu'ici être cristallisée et nous livrer les secrets d'une telle étude (VERGE et al., 1999).

I.2.1.2.-Les Alcaloïdes :

Les alcaloïdes représentent un groupe de métabolites secondaires très diversifiés retrouvés chez les organismes vivants, ils ont un large rang de types structuraux, de voies de biosynthèse et d'activités pharmacologiques. En 1803, DEROSNE a isolé le premier alcaloïde semi-pur du latex sec de l'opium (*Papaver somniferum*), une drogue utilisée depuis des siècles pour des propriétés analgésiques et narcotiques. En 1805, SERTÜRNER a caractérisé cet alcaloïde et la nommée

morphine, et puis, entre 1817 et 1820 plusieurs alcaloïdes comme la strychnine, brucine, et quinine ont été isolés sous forme cristalline au laboratoire de PELLETIER et CAVENTOU en France (WALTON et BROWN, 1999).

I.2.1.2.1.-Définition, Classification et distribution des alcaloïdes :

Selon PELLETIER en 1983, les alcaloïdes sont des composés cycliques contenant un ou plusieurs atomes d'azote (ROBERTS et WINK, 1998). Typiquement comme les amines primaires, secondaires, ou tertiaires et cela confère la basicité à l'alcaloïde, en facilitant leur isolement et purification comme sels solubles dans l'eau formés en présence des acides minéraux. Pourtant, le degré de basicité varie beaucoup, selon la structure de la molécule d'alcaloïde et la présence et l'endroit des autres groupes fonctionnels.

Cette définition inclue les alcaloïdes avec un azote inclue dans l'hétérocycle et aussi les alcaloïdes avec un nitrogène extra cyclique comme la colchicine, les alcaloïdes peuvent être de nature terpénique, stéroïdique ou aromatique.

L'activité biologique de beaucoup d'alcaloïdes dépend souvent de la fonction amine étant transformée en système quaternaire par ionisation aux pHs physiologiques (DEWICK, 2002). Alors quatre groupes de composés azotés sont définis :

- Amines secondaires ou tertiaires qui sont hydrophiles à $\text{pH} < 7.0$ ou plus généralement lipophiles à $\text{pH} > 8.0$, se sont les alcaloïdes classiques.
- Amines quaternaires, sont très polaires et chargés à n'importe quel pH, et sont isolés sous forme de sels, ex : berbérine et sanguinarine.
- Composés aminés neutres, incluent les amides-type alcaloïdes comme la colchicine, capsaïcine et la majorité des lactames comme la ricinine.
- N-oxides, sont généralement très soluble dans l'eau, retrouvés dans plusieurs classes d'alcaloïdes, tel le groupe des pyrrolizidines.

Depuis leur découverte et jusqu'à maintenant plus de 10.000 alcaloïdes ont été isolés ou détectés chez les plantes, les champignons et même les animaux, pour cela et à cause de la grande diversité de ce groupe de métabolites, leur classification est basée sur plusieurs critères : l'origine biologique, la voie de biosynthèse, la structure et les propriétés spectroscopiques/spectrométriques (chromophores dans la spectroscopie UV) (HESSE, 2002).

La classification la plus adaptée est basée sur l'origine biogénétique, par exemple, les indoles dérivent du tryptophane, sous le même groupe on peut trouver les indoles non terpéniques et

terpéniques (irridoïdes). Le groupe est après divisé en plusieurs sous groupes dépendant ainsi sur le mode de cyclisation de la partie non glucidique de l'alcaloïde.

Les alcaloïdes ne sont pas tous dérivés des acides aminés, et ainsi quatre groupes sont reconnus :

1. Les alcaloïdes dérivés des acides aminés comme l'ornithine/arginine, lysine, histidine, phénylalanine/tyrosine, tryptophane, l'acide anthranilique ou nicotinique.
2. Alcaloïdes purines, comme la xanthine caféine.
3. Terpènes aminés, ex : di terpène aconitine ou tri terpène solanine.
4. Alcaloïdes poly-cétoniques où l'azote est inclus dans le squelette poly-cétonique comme la coniine et la coccinelline (ATTOU, 2010).

I.2.1.3.-Les flavonoïdes :

Constituent un grand groupe de composés naturels qui sont quasiment universels chez les plantes supérieures (BALLESTER et al., 2006). Ils constituent des pigments responsables des colorations des fleurs des fruits et parfois des feuilles (CROTEAU et al., 2000), (HADI., 2004) leur découverte date de 1936 d'après les travaux de professeur Szent Gyorgyi (YANEZ et al., 2007).

I.2.1.3.1.-Structure et classification des flavonoïdes :

Les flavonoïdes sont des dérivés du phényle propane (JUDD et al., 2000). Représentent plus de 4000 composés (YANEZ et al., 2007), (RIJKE et al., 2006). ont une composition de base à 15 atomes de carbones, constitué de deux unités aromatiques deux cycle en C₆ (A et B) reliés par une chaîne en C₃ (C₆-C₃-C₆) (TASAO et DANG, 2004), (REPPLES et al., 2007). Ils peuvent être regroupés en une douzaine sous classes selon le degré d'oxydation du noyau puranique (BRUNET, 1999) la composition du noyau benzénique(B) ou encore la nature de la substitution par des groupements hydroxyle, méthyle, glycosyl et autre enrichissent la molécule du point de vue diversité structurale (STOBIECKI et al., 2006) une ou plusieurs de leurs fonctions hydroxyles sont alors glucosylés par de nombreux sucres tels que L-rhamnose. D glucose. Glucorhamanose galactose et arabinose) (BALLESTER et al., 2006), (NARAYANA et al., 2001).

I.2.1.3.2.-Distribution et localisation des flavonoïdes :

Les flavonoïdes sont largement rencontrés dans le règne végétal (STOBIECKI et al., 2006) (ALEMAN, 2000). Ils sont cependant rares chez les végétaux inférieure par contre on les trouve en abondance dans les familles suivantes : polygonacées, rutacées, légumineuses, apiacées (ombellifères) astéracées es (composés) (HADI, 2004).les flavonoïdes sont largement présentes

dans les fruits et les légumes (POUGET *et al.*, 2001) (PINCEMAIL *et al.*, 2007). Ils constituent un apport de micronutriments intéressant pour la Santé de l'homme (KHAN *et al.*, 2004). Le tableau 2 regroupe la constitution de certains aliments en flavonoïdes. Les formes hétérosidiques des flavonoïdes sont hydrosolubles et s'accumulent dans les vacuoles, lorsqu'ils sont présents au niveau de la cuticule foliaire il s'agit presque des aglycosides (BRUNETON, 1999).

Tableau 2 : Distribution nutritionnelle de certains flavonoïdes dans quelques aliments

Aliments	Flavonoïdes	Références
Thé vert	Catéchine, quercétine Kaempferol	(KHAN <i>et al.</i> , 2007).
Tomate	Nitringénine Nitringénine, Kaempferol di glycoside	(RIJKE <i>et al.</i> , 2006) (Hartonen <i>et al.</i> , 2007).
Mangue	Kaempferol, quercétine, Mangépine	(SHEIBER <i>et al.</i> , 2000).
Orange	Nitringénine, hespérine Nitringénine, ériodictyole, hespérine	(REPPLES <i>et al.</i> , 2007) (KLIMEZAK <i>et al.</i> , 2007).
Apple	Catéchine, rutine	(RIJKE <i>et al.</i> , 2006).

I.2.1.3.3.-Propriété biologique des flavonoïdes :

Les flavonoïdes contribuent à la couleur des plantes et notamment à celle des fleurs, or c'est par la couleur de ses fleurs que la plante exerce un effet attracteur sur les insectes pollinisateurs (CROTEAU *et al.*, 2000). Les flavonoïdes peuvent assurer des plantes contre le rayonnement UVB (RIJKE *et al.*, 2006) (DAHOU *et al.*, 2004) (RADU *et al.*, 2006) certaines flavonoïdes jouent le rôle de phytoalexines (HOPKINGS, 2003), (STOBIECKI *et al.*, 2006). De nos jours plusieurs activités sont attribuées aux flavonoïdes dans le domaine thérapeutique. Dont on peut trouver des activités anti oxydantes, anti-inflammatoires antiallergiques, et anticancéreuses (ALEMAN, 2000), (CALABRO *et al.*, 2004).

I.2.2.-Les huiles essentielles :

La norme AFNOR (association Française de Normalisation, Norme) NF T 75-006 définit l'huile essentielle Et appelée aussi essences, comme « un produit obtenu à partir d'une matière première végétale, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par Hydro distillation » (ADOLPHE, 2012). Sont des mélanges de substances aromatiques produites par de nombreuses plantes (BEKECHI et ABDELOUAHIDI, 2010). Le terme « Huiles essentielles » est un terme générique qui désigne les composants liquides et hautement volatiles des plantes, marqués par une

forte et caractéristique odeur (FANNY, 2008). L'huile essentielle est séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques, par exemple la décantation, par l'utilisation d'un solvant plus volatil que l'eau (éther di éthylique, pentane, etc.) (ADOLPHE ,2012).

Les huiles essentielles sont par définition des métabolites secondaires produits par les plantes Comme moyen de défense contre les ravageurs phytophages. Ces extraits contiennent en moyenne 20 à 60 composés qui sont pour la plupart des molécules peu complexes (mono terpènes, sesquiterpènes,...). Il est admis que l'effet de ces composés purs peut être différent de celui obtenu par des extraits de plantes (BEKECHI et ABDELOUAHIDI, 2010). Environ cinquante familles végétales, soit 10 % des végétaux supérieurs, contiennent des principes aromatiques ou essences. Dans la plante, les huiles essentielles peuvent être stockées dans divers organes : fleurs (origan), feuilles (citronnelle, eucalyptus), écorces (cannelier), bois (bois de rose, de santal), racines (vétiver), rhizomes (acore), fruits (badiane) ou graines (carvi) (ADOLPHE ,2012). il est important distinguer entre les huiles essentielles, les huiles fixes (huile d'olive...) et les graisses contenues dans les végétaux. En effet :

- Seules les huiles essentielles sont volatiles.
- Elles se distinguent des huiles fixes par leur composition chimique et leur caractéristique physique.
- Elles sont fréquemment associées à d'autres substances comme les gommes et les résines (BEKECHI ET ABDELOUAHIDI, 2010).

I.2.2.1.-Composition chimique des huiles essentielles :

La composition chimique d'une huile essentielle est assez complexe, on y trouve généralement de nombreux constituants appartenant principalement à deux grandes familles chimiques: les composés terpéniques et les composés aromatiques, dérivés du phénylpropane (CHAMI, 2005).

I.2.2.1.1.-Composés terpéniques :

Les composés terpéniques sont constitués par :

- Les monoterpènes ($C_{10}H_{16}$)
- Les sesquiterpènes ($C_{15}H_{24}$)
- Les diterpènes ($C_{20}H_{32}$)
- Les polyterpènes ($(C_5H_8)_n$) (BOUGURRA et ZEGHOU, 2008).

Dans le cas des huiles essentielles, seuls seront rencontrés les terpènes les plus Volatils, c'est-à-dire ceux dont la masse moléculaire n'est pas trop élevée : mono- et Sesquiterpènes(6). Même les diterpènes ont un point d'ébullition peu élevé qui détermine leur caractère volatil, ainsi les monoterpènes constituent, souvent avec les sesquiterpènes et les diterpènes, la plus grande partie des huiles essentielles (BELYAGOUBI, 2012).

I.2.2.1.2.-Composés aromatiques :

Les composés aromatiques dérivés du phénylpropane ont une biogénèse différente de celle des terpènes. Les dérivés du phénylpropane (C₆-C₃) sont beaucoup moins fréquents que les précédents, très souvent des allyl- et propénylphénols, parfois des aldéhydes.

On peut également rencontrer dans les huiles essentielles des composés C₆-C₁ comme la vanilline (assez fréquente) ou comme l'antranilate de méthyle (BEKECHI et ABDELOUAHIDI, 2010). Certaines huiles essentielles. Parmi les composés aromatiques, ces dérivés du phénylpropane sont présents dans les huiles essentielles, on peut citer :

- Acide cinnamique (dans l'essence de cannelle)
- Eugénol (chez le girofle)
- Anéthol et aldéhyde anisique (chez l'anis)
- Esters et les produits soufrés (dans les essences de la lavande) (BOUGURRA et ZEGHOU, 2008).

Les lactones dérivées des Acides cinnamiques (*i.e.* les coumarines) étant, au moins pour les plus simples d'entre elles, entraînaient par la vapeur d'eau, elles seront également présentes dans certaines huiles essentielles (BELYAGOUBI, 2012).

I.2.2.1.3.-Composés d'origines diverses :

Il s'agit là de produits résultant de la transformation de molécules non volatiles (composés issus de la dégradation d'acides gras ou de terpènes, autres composés). Ces composés contribuent souvent aux arômes de fruits. Compte tenu de leur mode de préparation, les concrètes et les absolues peuvent en renfermer. Il en est de même pour les huiles essentielles lorsqu'ils sont entraînaient par la vapeur d'eau.

La composition chimique des huiles essentielles varie avec le milieu et l'époque de la végétation. Elle peut aussi se modifier au cours de l'extraction et durant la conservation.

I.2.2.2.-Caractéristique physico-chimique des huiles essentielles :

-Les huiles essentielles sont liquides à température ambiante et très rarement colorées. Leur densité est en général inférieure à celle de l'eau ; elles sont entraînaibles à la vapeur d'eau. Elles ont un indice de réfraction élevé et la plupart dévient la lumière polarisée.

-Les huiles essentielles sont volatiles, ce qui les différencie des huiles alimentaires. Elles sont solubles dans l'alcool et dans l'huile, mais pas dans l'eau. Ce sont des substances odorantes. Une huile essentielle n'a rien à voir avec une huile végétale obtenue par pression.

-Elle ne contient en effet pas de corps gras.

-Leur point d'ébullition varie de 160° à 240°C.

-Ce sont parfums, et sont de conservation limitée.

-Elle dissolvant les graisses, l'iode, le soufre, le phosphore et réduisent certains sels.

-Elles sont très altérables et sensible à l'oxydation (mais ne rancissent pas).

-Ce sont des substances de consistance huileuse, plus ou moins fluides, voire rétinolides.

-A température ambiante, elles sont généralement liquides.

-Elles sont des produits stimulants, employés à l'intérieur, comme du extérieur des corps, quelque purs, généralement en dissolution dans l'alcool ou solvant adapté (BOUGURRA et ZEGHOU, 2008).

I.2.2.3.-Classification des huiles essentielles:

Tableau3 : Les différentes classes d'huiles essentielles (PRABUSEENIVASAN et al.,2006)(SHIGE HARU et al.,2001) (CHASSAING,2006) (KEVILLE et GREE,1995) (CLARKE,2008) (HIGLEY,2005).

Groupe	Exemples	Propriétés
<i>Les hydrocarbures mono terpéniques</i>	Noms des composants dont le suffixe est en ène : thuyène, Camphène, Cyrène et ses isomères, Limonène, Ocimène, Pinène et ses isomères, Terpinène et ses isomères, Terpinolène.	-A utiliser avec précaution car elles peuvent devenir Dermocaustiques. -Antalgique en usage percutané. -Antiseptique atmosphérique : à utiliser en diffusion et relativement agressives pour les muqueuses. -Microbicide par contact.

<i>Les hydrocarbures sesquiterpéniques</i>	Aromadendrène, Bisabolène, Cadinène et ses isomères, Calamène, Cédrene et ses isomères, Chamazulène, Curcumène, Zingibérène	-Généralement ces huiles sont colorées, elles donnent une couleur vert sombre ou bleue -Anti inflammatoire -Calmant -Légèrement hypotenseurs.
<i>Les alcools mono terpéniques</i>	Australol, Carvacrol, Chavicol, Eugenol, Gaiacol, Thymol.	-Déséquilibrant à haute dose. -Leur emploi exige une association d'une huile végétale (pour éviter leur toxicité et faciliter leur digestion). -L'usage d'huile essentielle à phénol doit être associé à
	Bornéo, Carvéol, Citronellol, Géraniol, Lavandulol, Linalol, Menthol, Myrténol, Nérol, Pinacarvéol, Sabinol, Terpinéol et ses isomères, Thuyanol.	-Anti infectieux (bactéricide, virucide, fongicides). -Excellent immunostimulant. -Faiblement hypothermisant et hypertenseur. -Neurotoxique (dose élevée). -Tonique général. -Hémolytiques à fortes doses.
<i>Les alcools sesquiterpéniques</i>	Bisabolol et ses isomères, Cadinol et ses isomères, Carotol, Cédrol, Daucol Farnésol, Santalol.	-Faiblement anti infectieux. -Immunostimulants. -Non toxiques. -Stimulants généraux. -Toniques.
<i>Les alcools di terpéniques</i>	Diol, Manool, Salviol, Scalérol.	-Régulatrices hormonales. -Faiblement volatiles.
<i>Les aldéhydes</i>	Chémotypes dont les noms se terminent par al : Citral et ses isomères, Citronellal, Farsénal, Myrténal, Aphélandra.	-Agissent favorablement sur le système nerveux. -Anti inflammatoires. -Hypotenseur. -Hypothermisant.
<i>Les cétones</i>	Artémisia cétone, Atlantone, Borné one = camphre, Carbone, Cryptone Menthonone, Pinocamphone, Pinocarvone, Pulégone, Thuyone, Verbénone, Vétivone, Vulgarone et ses dérivés.	-Leurs ventes sont réservées aux pharmaciens. -Faible dose : calmante, sédative, hypothermisant. -Forte dose : neurotoxique, stupéfiante, épileptisantes, abortive (les thuyones : sauge...) -Mucolytiques; Lipolytique. -Anticoagulant tout en activant le processus de cicatrisation. -Vermifuge ; Antimycosique.

<i>Les diones</i>	Dicétone, Diméthyle, Méthyle, Tetraméthyl, Triméthyl et leurs dérivés.	-Antispasmodiques. -Anticoagulants.
<i>Les Acides</i>	Acides : Angélique, Anisique, Campholénique, Cinnamique, Citronnelle Gêranique, Myrténique, Phtalique, Pinonique, Rosmarinique, Salicylique.	-Anti inflammatoire puissant. -Diurétique. -Hypotenseur. -Hypothermisant.
<i>Les esters</i>	Différents acétates, benzoates, salicylates des Chémotypes des huiles essentielles	-Antispasmodique. -Calmant. -Tonique. -Rééquilibrant nerveux. -Décongestionnant cutané en cas de manifestations inflammatoires.
<i>Les éthers</i>	Apiol, Asarone, Elémicine, Les différents méthyls et trans des chémotypes des huiles essentielles, Myristicine, Safrol.	-Spasmolytique puissant. -Calmant : Sédatif (puissant), Décontractant. -Antidépresseurs psychique (excellent rééquilibrant nerveux). -L'apiol et la Myristicine :
<i>Les oxydes</i>	1.4 Cinéol, 1.8 cinéol = eucalyptol, Ascaridol, Différents oxydes des chémotypes des huiles essentielles.	-Décongestionnant à tropisme broncho pulmonaire. -Mucolytique. -Expectorant. -Action hormonale (oxyde de sesquiterpénols et diterpénols).
<i>Les coumarines</i>	Angélicine, Auraptène, Bergamottine, Bergaptène, Bergaptol, Byakangélicine Célérine, Citroptène, Umbelliférone.	-Sédatif nerveux, Anticonvulsif ; Hypothermisant ; Hypotensif ; -Excellent anticoagulant ; -Les furocoumarines ne doivent pas être
<i>Les lactones</i>	Différents lactones des chémotypes des huiles essentielles, Héléline ou isoalantolactone, Santonine ou santolactone.	-Les lactones agissent en profondeur du terrain du patient et certaines sont allergènes par voie cutanée.
<i>Les phthalides (ou phthalides)</i>	Sédanolide, Ligustilide sédanénolide	-Draineur des émonctoires : foie, rein, intestins ; Détoxiquant
<i>Les composés à nombre de carbone inférieur à 10</i>	Alcool benzylique, Haxanol, Isoamylol, Octanone, Nonanone, Angélate d'isobutyle, Vanilline, Octanal, Haxanal, Nonanal, Aldéhyde isovalérianique.	-Se trouvent dans les hydrolats et en faible quantité dans les huiles essentielles (sauf les hydrocarbures) ; -Leurs propriétés respectives sont celles dues à leurs fonctions biochimiques ci – haut indiquées.

<i>Les composés soufrés</i>	diallyl disulfide, diallyl trisulfide, allylpropyl disulfide, méthylpropyl trisulfide, thiobenzoate de s-méthyle	-Odeur très forte, pour cela leur prescription est délaissée ; -Dermocaustiques (usage externe) -Révulsives (en usage externe) -Irritant (en usage externe ; -Antibactériens ; -Anti parasitaires ; -Usage dans les affections respiratoires
<i>Les composés azotés</i>	anthranilate de méthyle et ses dérivés, cyanide et ses dérivés, indole.	-Calmente sur le système nerveux
<i>Le composé bi fonctionnel (soufre + azote)</i>	isothiocyanate d'allyle isothiocyanate d'éthyle	-Toxique -Neurotoxiques -Dermocaustiques

I.2.2.4.-Rôle biologique des huiles essentielles :

La fonction biologique des terpénoïdes des huiles essentielles demeure le plus souvent obscure (BRUNETON, 1999). Les fonctions possibles des huiles essentielles sont multiples (protection contre les prédateurs de la plante, attraction des insectes pollinisateurs, inhibition de la germination et de la croissance, inhibition de la multiplication des bactéries et des champignons). Il est souvent difficile de les préciser pour chaque cas particulier (RICHTER, 1993). Le rôle des huiles essentielles n'a pas pu être clairement démontré. En effet, on considère qu'il s'agit de produits de déchets du métabolisme. Toutefois, certains auteurs pensent que la plante utilise son huile essentielle pour repousser les insectes, ou au contraire pour les attirer et favoriser la pollinisation (BLEAÏCHE, 1979).

I.2.2.5.-Domaines d'utilisation des huiles essentielles :

I.2.2.5.1.-En pharmacie :

L'importance des plantes aromatiques est indiscutable. Leur contenu en essence et la nature chimique des constituants de celle-ci leur confèrent de grandes perspectives d'applications. Ces substances sont d'un grand intérêt pour le domaine médical et pharmaceutique (BEKHECHI et ABDELOUAHID, 2010). Les spécialités pharmaceutiques à base d'huiles essentielles répondent à la définition du médicament à base de plantes : « Les médicaments à base de plantes sont des médicaments dont les principes actifs sont exclusivement des drogues végétales et/ou des préparations à base de drogue(s) végétale(s) » (CATHERINE, 2008).

I.2.2.5.2.-Industrie alimentaire :

Les huiles essentielles sont utilisés dans la conservation des denrées alimentaires, elles y sont rajoutées pour rehausser le goût et pour empêcher le développement des contaminants alimentaires (CHAMI, 2005). Le thym peut être utilisé dans diverses préparations alimentaires comme le smen par exemple. En effet, tous les secteurs alimentaires sont consommateurs : alcools, boissons non alcoolisées, confiserie, produits laitiers, produits carnés, sauces, soupes, produits de boulangerie, sans oublier la nutrition animale (BEKHECHI et ABDELOUAHID, 2010).

I.2.2.5.3.-Parfumerie et cosmétologie :

Un grand nombre d'huiles essentielles (400 à 500) est utilisé dans l'élaboration de la majorité des parfums et produits de toilette (CHAMI, 2005). Puisque la majorité des cosmétiques contiennent une certaine quantité d'huiles essentielle comme élément parfumant, il serait probable que ces essences servent aussi à préserver ces cosmétiques tout en leur assurant une odeur agréable (BEKHECHI et ABDELOUAHID, 2010). De même, certains constituants chimiques isolés à partir d'HE peuvent faire l'objet de transformations chimiques donnant naissance à de nouvelles odeurs; ainsi, à partir de l'eugénol tiré de l'essence de girofle, on aboutira à l'isogénol qui a une odeur d'œillet (CHAMI, 2005).

I.2.2.5.4.-Aromathérapie :

L'aromathérapie est une branche de la phytothérapie qui utilise les huiles essentielles pour traiter un certain nombre de maladies. Beaucoup d'ouvrages décrivent des préparations à base d'huiles essentielles diverses prescrites pour le traitement de plusieurs maladies. Cependant, ces prescriptions ne possèdent pas de bases scientifiques rigoureuses car elles sont souvent tirées de pratiques empiriques (CHAMI, 2005).

I.2.2.5.5.-Médecine dentaire :

En médecine dentaire, l'exemple le plus couramment utilisé est la listerine: solution constituée d'huiles essentielles de thymol et d'eucalyptol utilisée pour le lavage de la cavité orale et des dents et qui possède une activité bactéricide sur les microorganismes de la salive et de la plaque dentaire. Plusieurs huiles essentielles ont donné des résultats cliniques très satisfaisants dans la désinfection de la pulpe dentaire et dans le traitement et la prévention des caries (CHAMI; 2005).

I.2.2.6.-Répartition et localisation des huiles essentielles :

Les huiles essentielles n'existent quasiment que chez les végétaux supérieurs : il y aurait, 17 500 espèces aromatiques. Les genres capables d'élaborer les constituants qui composent les huiles essentielles sont répartis dans un nombre limité de familles, ex: Myrtaceae, Rutaceae, Lamiaceae, Asteraceae, Apiaceae, Cupressaceae, Poaceae, Zingiberaceae, Piperaceae, (BRUNETON, 1999). Environ cinquante familles végétales, soit 10 % des végétaux supérieurs, contiennent des principes aromatiques ou essences. Dans la plante, les huiles essentielles peuvent être stockées dans divers organes : fleurs (origan), feuilles (citronnelle, eucalyptus), écorces (cannelier), bois (bois de rose, de santal), racines (vétiver), rhizomes (acore), fruits (badiane) ou graines (carvi) (ADOLPHE, 2012). La synthèse et l'accumulation des huiles essentielles sont généralement associées à la présence de structures histologiques spécialisées, souvent localisées sur ou à proximité de la surface (BRUNETON, 1993). Le tableau 3 montre les organes responsables de la sécrétion d'huile essentielle chez certaines familles de végétaux.

Tableau 4: Familles botaniques avec les organes sécréteurs des huiles essentielles ainsi que quelques exemples de végétaux (HAZZIT, 2002).

Familles	Organes sécréteurs ou Excréteurs	Plantes correspondantes
Labiacées	Poils sécréteurs	Lavande, thym, sauge, menthe, romarin, etc.
Ombellifères	Canaux excréteurs	Cumin, anis, fenouil, coriandre, etc.
Lauracées	Cellules excrétrices	Cannelle, camphrier, etc.
Myrtacées	Poches excrétrices	Eucalyptus, girofle, etc.
Conifères	Canaux excréteurs	Pin sylvestre et maritime, cyprès, genévrier, etc.
Rutacées	Poches excrétrices	Citron, orange, mandarine, etc.

I.2.2.7.-Mode d'obtention des huiles essentielles :

Il existe plusieurs méthodes d'extraction des huiles essentielles mais la plus utilisée est l'entraînement à la vapeur ou l'hydrodistillation à partir de la plante fraîche ou sèche (BRUNETON, 1993).

I.2.2.7.1.-La technique de la pression :

Peut être est-ce la plus ancienne : les Egyptiens utilisaient la pression à l'aide d'un sac pour extraire l'essence des pétales de fleurs. Cette méthode consistait à écraser les parties odorantes d'une plante fraîchement coupée puis à les enfermer dans un sac en lin que l'on tordait à l'aide de

deux bâtons enfilés dans deux anneaux placés à l'extrémité du sac. L'essence filtrait à travers la toile et était recueillie dans un récipient placé en dessous (PADIRINI et LUCHERONI, 1996).

Les huiles essentielles de fruits d'hespéridés ou encore d'agrumes tels que le citron, la bergamote, l'organe, etc..., ont une très grande importance dans l'industrie des parfums, des cosmétiques, et également en aromathérapie. L'huile essentielle est contenue dans les sacs oléifères de l'écorce du fruit (péricarpe ou flavedo du fruit) que l'on désigne encore sous le terme de zeste. Ces essences sont des produits très fragiles en raison de leur composition terpénique et aldéhydique. Aussi tous les procédés mis en œuvre pour les obtenir sont-ils des procédés à froid que l'on englobe sous le terme générique de « procédés d'expression à froid ». Pour ce faire, on emploie des machines qui extraient l'huile essentielle en créant dans les écorces des zones de compression et de dépression suffisantes pour que l'huile végétale puisse être libérée (GARNERO, 1991).

I.2.2.7.2.-Extraction par solvants :

I.2.2.7.2.1.-Extraction par solvants volatils :

Quant à l'extraction par solvants volatils, elle a l'inconvénient d'entraîner une récupération plus difficile des huiles essentielles, mais par ailleurs, elle a l'avantage de pouvoir traiter des végétaux présentant un pourcentage infime de principes odorants (CHIEJ, 1982).

Cette technique est elle aussi utilisée avec des fleurs ne supportant pas la chaleur, la distillation ne convient que pour les végétaux dont le rendement en huile essentielle est suffisamment important, les solvants très volatils par exemple l'éther et l'hexane qui s'évaporent rapidement sont employés. Le solvant lave la matière première qui subira après décantation et concentration une distillation partielle. Ce solvant volatil est alors séparé de la "concrète" par filtrage, puis glaçage de -12°C à -15°C . La précieuse substance ainsi obtenue est à nouveau filtrée et concentrée à faible pression (MOHAMMEDI, 2006). Le matériel végétal dont on veut extraire une huile est placé sur des grilles puis dans des cuves appelées extracteurs. On les remplit de solvant et on effectue ainsi plusieurs lavages successifs. Le mélange est ensuite envoyé dans un décanteur où on le laisse reposer : cette phase de repos va permettre d'obtenir deux phases. Celle au fond contiendra l'eau contenue dans les plantes, l'eau étant plus lourde que le solvant celui-ci sera à la surface. Les huiles essentielles étant très solubles dans le solvant, elles se retrouvent dans la même phase. Il suffit donc d'éliminer l'eau. Ensuite on fait s'évaporer le solvant afin d'obtenir un composé pur (WERNER, 2002).

I.2.2.7.2.2.-Epuisement par solvants fixes :**I.2.2.7.2.2.1.-Effleurage ou extraction par la graisse froide :**

Cette méthode se rapproche quelque peu de l'extraction par solvants volatils mais dans ce cas on utilise des graisses comme solvant, ces dernières ayant elles aussi une forte affinité avec les composés odorants, cette méthode peut être réalisée à froid ou à chaud, et on obtient ainsi des absolues de pommade (LARDRY et HABERKORN, 2007).

Actuellement, cette technique n'est que rarement utilisée du fait de son coût élevé et on la réserve à certaines fleurs extrêmement délicates, comme le jasmin, la tubéreuse, les fleurs d'oranger. La substance ainsi obtenue à une concentration très élevée et elle est ensuite diluée et traitée avec d'autres solvants qui dissolvent la matière grasse (PADRINI et LUCHERONI, 1996).

I.2.2.7.2.2.2.-Extraction par macération dans la graisse chaude :

La technique dite de la « digestion » se pratique à chaud, par immersion des organes végétaux dans le corps gras fondu. Le produit obtenu est une pommade florale. Le lavage de la pommade par un alcool fort aboutit à un extrait alcoolique. L'élimination de l'alcool se fait, comme dans le cas d'enfleurage par concentration sous vide à basse température. On obtient ainsi un « absolu de macération » (BRUNETON, 1993).

I.2.2.7.3.-Distillation :

La distillation convient aux huiles ayant une forte composante volatile et elle se fonde sur la caractéristique que possèdent ces composants qui peuvent être facilement transportées par des particules de vapeur d'eau en mouvement (PADRINI et LUCHERONI, 1996).

I.2.2.7.3.1.-Hydrodistillation :

L'hydrodistillation simple consiste à immerger directement le matériel végétal à traiter dans un alambic rempli d'eau qui est ensuite portée à ébullition. Les vapeurs hétérogènes sont condensées sur une surface froide et l'huile essentielle se sépare par différence de densité (BRUNETON, 1999).

I.2.2.7.3.2.-Entraînement à la vapeur d'eau (ou Vapo-hydrodistillation) :

La distillation par l'entraînement à la vapeur est largement connue comme technique d'extraction des composés aromatiques du matériel végétal. Très simplement, on pourrait supposer que la vapeur d'eau pénètre dans les tissus de la plante et vaporise toutes les substances volatiles

(BELLEAU, 1990). La distillation exerce une action non négligeable sur les caractéristiques des huiles essentielles, et les réactions d'hydrolyse sont parmi les plus importantes. C'est ainsi que qualitativement et quantitativement les huiles extraites par petites quantités au laboratoire sont différents de celles obtenues industriellement (BELAÏCHE, 1979).

I.2.2.7.4.-Autres procédés d'extraction :

I.2.2.7.4.1.-hydrodiffusion :

Consiste à pulser de la vapeur d'eau à très faible pression (0,02-0,15 bar) à travers la masse végétale, du haut vers le bas. La composition des produits obtenus est qualitativement sensiblement différente de celle des produits obtenus par les méthodes classiques. Le procédé permet un gain de temps et d'énergie (BRUNETON, 1999).

I.2.2.7.4.2.-Extraction assistée par micro-ondes :

Dans ce procédé récemment développé, la plante est chauffée sélectivement par un rayonnement micro-ondes dans une enceinte dont la pression est réduite de façon séquentielle. Très rapide et peu consommateur d'énergie, le procédé livre un produit qui, le plus souvent, est de qualité supérieure à celle du produit d'hydrodistillation, traditionnelle (temps dix fois plus rapide et température plus basse) (BELYAGOUBI, 2006).

I.2.2.7.4.3.-Extraction à l'eau surchauffée :

Ce mode d'extraction utilise l'eau surchauffée à une température entre 125 et 175°C sous pression. Il utilise de l'eau désoxygénée qui traverse une cellule où se trouve la matière végétale. Cette cellule est maintenue à une pression d'environ 20 bars et à température constante dans une étuve. Ce procédé utilisé avec du romarin donne un rendement plus élevé en composés oxygénés que l'entraînement à la vapeur (BASIL et al., 1998).

I.2.2.7.4.4.-Distillation par extraction simultanée (SDE) :

L'extraction par distillation simultanée ou SDE (Simultaneous Distillation Extraction) est une extraction liquide-liquide qui est menée dans un appareil de Likens et Nikerson modifié. Son principe est le suivant : les composés volatils entraînés à la vapeur d'eau sont extraits par des vapeurs de solvant que l'on condense ensuite dans un réfrigérant puis on recycle en continu le solvant. Cet appareillage, initialement conçu pour l'étude de la bière par la suite été étendu à un grand nombre d'arômes (VERNIN, 1982).

I.2.2.8.-Facteurs de variabilité des huiles essentielles :

Plusieurs paramètres interviennent dans la diversification des huiles essentielles dont le plus fréquent est le nom donné à une huile essentielle, il faut préciser le nom latin de la plante d'où elle est tirée, parce que seul le langage scientifique international peut bien définir leur nom et leur usage. Pour une même variété botanique, il existe plusieurs plantes qui fournissent des huiles essentielles de composition différente (BARRY, 2001).

La composition chimique et le rendement en huiles essentielles varient suivant diverses conditions : l'environnement, le génotype, origine géographique, la période de récolte, le séchage, sa température et sa durée (SMALLFIELD, 2001).

I.2.2.8.1.-Origine botanique :

La composition d'une huile essentielle varie selon l'espèce productrice (PADRINI et LUCHERONI, 1996). Ainsi, il semble utile de souligner l'importance qu'il convient d'accorder à la nomenclature (BRUNETON, 1999).

I.2.2.8.2.-Cycle végétatif :

Une essence reste modulable en fonction des besoins particuliers de la plante. Sa composition n'est pas statique (BRUNETON, 1987 ; PERRY et *al.*, 1999). Des variations importantes peuvent se produire au cours du cycle végétal autant en ce qui concerne le rendement et la composition chimique en huile essentielle (GARNERO, 1991).

I.2.2.8.3.-Les hybridations ; Les facteurs de mutation, la polypléidie et les aberrations chromosomiques :

Les hybridations introduisent l'hétérogénéité dans un peuplement végétal (GARNERO, 1991). Une race chimique peut apparaître par mutation. Ce cas a «été signalé avec l'exemple pour le Houblon (*Humulus lupulus L.*). Dans la plupart des cas, la polypléidie augmente les rendements en huile essentielle (Carvi, Menthe, Camomille) (GARNERO, 1991).

I.2.2.8.4.- Influence des facteurs extrinsèques :

Il s'agit là de l'incidence des facteurs de l'environnement et des pratiques culturales (l'apport d'engrais et l'influence des variations N, P, K, régime hydrique), la température, l'humidité relative, la durée totale d'insolation et le régime de vents exercent une influence directe

(BRUNETON, 1999). Ainsi les facteurs géographiques et édaphiques influence (GARNERO, 1991).

I.2.2.8.5.-Influence du procédé d'obtention :

La labilité des constituants des huiles essentielles explique que la composition du produit obtenu par 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 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 (BRUNETON, 1999).

I.2.2.9.-Activité biologique des huiles essentielles :

L'activité biologique d'une huile essentielle est à mettre en relation avec sa composition chimique et les possibles effets synergiques entre ses composants. Sa valeur tient à son «totum» ; c'est-à-dire, l'intégralité de ses constituants et non seulement à ses composés majoritaires (LAHLOU, 2004). Les composés majoritaires des huiles essentielles présentent plusieurs activités biologiques intéressantes. Cependant, les activités biologiques d'une huile essentielle ne sont pas seulement dues aux composés majoritaires mais à l'ensemble des composées contenant dans cette huile (AKROUT, 1999).

I.2.2.9.1.-Activité anti-microbienne :

L'objectif principal de cette partie est la présentation de l'action antimicrobienne des huiles essentielles, des mécanismes d'action de ces composés sur les microorganismes et de certains facteurs déterminant cette activité. Les huiles essentielles ou les volatiles, sont des liquides aromatiques obtenus a partir de différentes parties de plantes (fleurs, bourgeons, graines, feuilles, brindilles, écorce, fruits, herbes et bois) le plus souvent par la méthode de distillation à la vapeur d'eau. Les terpénoïdes et les phénylpropanoïdes constituent les composants actifs les plus importants des huiles essentielles, dont les mono- et sesquiterpénoïdes forment la majeure partie (CALSAMIGLIA et al., 2007).

I.2.2.9.2.-Activité antioxydante :

Le pouvoir antioxydant de ces huiles est développé comme substitut dans la conservation alimentaire. Ce sont surtout les phénols et les polyphénols qui sont responsables de ce pouvoir

(RICHARD, 1992). Lorsque l'on parle d'activité antioxydante, on distingue deux sortes selon le niveau de leur action : une activité primaire et une activité préventive (indirecte). Les composés qui ont une activité primaire sont interrompus dans la chaîne auto catalytique de l'oxydation (MULTON, 1982). En revanche, les composés qui ont une activité préventive sont capables de retarder l'oxydation par des mécanismes indirects tels que la complexation des ions métalliques ou la réduction d'oxygène... etc. (MADHAVI et al., 1996). Des études de l'équipe constituant le Laboratoire de Recherche en Sciences Appliquées à l'Alimentation (RESALA), ont montré que l'incorporation des huiles essentielles directement dans les aliments (viandes hachées, légumes hachés, purées de fruit, yaourts...) où l'application par vaporisation en surface de l'aliment (pièce de viande, charcuterie, poulet, fruits et légumes entiers...) contribuent à préserver l'aliment des phénomènes d'oxydation (CAILLET et LACROIX, 2007).

I.2.2.9.3.-Activité antibactérienne :

Dans de nombreux pays, les huiles essentielles sont actuellement étudiées pour mieux cerner leur efficacité comme agents de conservation naturels pour les aliments. Une large gamme d'huiles a été testée contre des dizaines de microorganismes (CAILLET et LACROIX, 2007). Une étude a investigué l'activité de 52 huiles essentielles et extraits de plantes sur un large éventail de bactéries à Gram + et - ainsi que sur des levures et, entre autres, sur *Candida albicans*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella enterica* et *Serratia marcescens*. Les résultats ont été positifs et ont mis en évidence, pour la plupart d'entre elles, un pouvoir inhibiteur. En particulier, les huiles essentielles de lemon-grass, d'origan et de laurier ont exercé un effet inhibiteur sur tous les organismes (HAMMER et al, 1999).

I.2.2.9.3.1.-Bactéricidie et bactériostase :

Lorsque l'on parle d'activité antimicrobienne, on distingue deux sortes d'effets : une activité létale ou bactéricide et une inhibition de la croissance ou activité bactériostatique. Le plus souvent l'action des huiles essentielles est assimilée à un effet bactériostatique. Cependant, certains de leurs constituants chimiques semblent avoir des propriétés bactéricides (ABDESSELAM, 2006). Selon (GUESMI et BOUDABOUS, 2006), l'huile essentielle exercera son pouvoir antimicrobien par :

- Son interférence avec la bicouche lipidique de la cellule grâce à sa propriété hydrophobe, ce qui entraîne une perturbation de la perméabilité et perte des constituants de la cellule ;
- Destruction de certains systèmes enzymatiques incluant ceux qui participent dans la production d'énergie cellulaire et la production des composés structuraux.

-Inactivation et destruction du matériel génétique.

I.2.2.9.3.2.-Souches microbiennes :

La sensibilité des microorganismes peut varier selon le germe testé car une huile essentielle peut être biocide vis-à-vis de certaines souches, bio statique vis-à-vis d'autres ou n'avoir aucun effet. C'est pour cela qu'il est important de mentionner la dénomination complète ainsi que le Gram des microorganismes, l'espèce botanique et le chémotype de l'huile essentielle (PIBIRI, 2005).

I.2.2.9.3.3.- Les actifs antimicrobiens :

L'activité antimicrobienne d'une huile essentielle est liée à sa composition chimique, aux groupes fonctionnels des composés majoritaires (alcools, phénols, composés terpéniques et cétoniques) et à leurs effets synergiques (ABDESSELAM, 2006). Les composés avec la plus grande efficacité antimicrobienne et le plus large spectre sont :

- ❖ Les **phénols** entraînent notamment des lésions irréversibles sur les membranes et sont utiles dans les infections bactériennes, virales et parasitaires, quelle que soit leur localisation. Le thymol et l'eugénol sont responsables des activités fongicides et bactéricides des huiles essentielles qui en contiennent. Ceci a été confirmé par un certain nombre de travaux, par exemple ont montré l'apparition de fuites d'ions potassium dans des cellules microbiennes (*Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*) en contact avec de l'huile essentielle d'arbre à thé (tea tree). Cette fuite de potassium est la toute première preuve de l'existence de lésions irréversibles au niveau de la membrane de la bactérie (BOUGUERRA et ZEGHOU, 2008).
- ❖ Les **alcools** Avec 10 atomes de carbone (ou monoterpénols) viennent immédiatement après les phénols, en terme d'activité, avec géraniol, linalool, thujanol, myrcénol, terpinéol, menthol et pipéritol pour les plus connus. Molécules à large spectre, elles sont utiles dans de nombreuses infections bactériennes (BOUGUERRA et ZEGHOU, 2008).
- ❖ Les **aldéhydes** sont également quelque peu bactéricides. Les plus couramment utilisés sont le néral et le géraniol (des citrals), le citronnellal et le cuminal (BOUGUERRA et ZEGHOU, 2008).

I.2.2.9.4.-Activité antifongique :

Dans le domaine phytosanitaire et agro alimentaire, les huiles essentielles ou leurs composés actifs pourraient également être employés comme agents de protection contre les champignons phytopathogènes et les microorganismes envahissant la denrée alimentaire.

Les huiles essentielles les plus étudiées dans la littérature pour leurs propriétés antifongiques appartiennent à la famille des Labiatae : thym, origan, lavande, menthe, romarin, sauge, etc... Etant donnée la grande complexité de la composition chémotypique des huiles essentielles, malgré de possibles synergies certains auteurs préfèrent étudier l'effet d'un composé isolé pour pouvoir ensuite le comparer à l'activité globale de l'huile. Ainsi l'activité fongistatique des composés aromatiques semble être liée à la présence de certaines fonctions chimiques (VOUKOU *et al.*, 1988).

I.2.2.10.-Toxicité des huiles essentielles :

Toutes les huiles essentielles devraient être employées avec prudence. Des effets secondaires sont provoqués principalement par le surdosage ou l'administration incorrecte. La plupart des huiles essentielles ne devraient pas être utilisées sur la peau, elles peuvent causer l'irritation. Des huiles essentielles contenant des phénols, tels que celle du thym, de la cannelle et du clou de girofle devraient être employées avec soin, la toxicité du foie peut se produire si les huiles essentielles sont utilisées à des fortes doses pendant un temps prolongé. Un autre groupe chimique qui cause des problèmes est les cétones contenues dans les huiles essentielles de l'armoise, la sauge et celles d'hysope (BRUNETON, 1993).

CHAPITRE II:
MATERIELS ET METHODES
MATERIELS ET METHODES
CHAPITRE II:

II.-Matériel et Méthode :

II.1.-Principe adopté :

Notre étude porte sur l'effet biologique des huiles essentielles des fruits de *Citrullus colocynthis* sur quelques souches bactériennes.

II.2.-Choix de la matière végétale :

Nous avons effectué nos études sur *Citrullus colocynthis* L prise de la région de Oued n'saa wilaya de Ghardaïa, le 12/04/2013 (photo 1).

La coloquinte (*Citrullus colocynthis* L. Schard) vraie est une plante herbacée vivace de la famille *Cucurbitacée*. Elle est cultivée dans les pays tropicaux comme plante médicinale pour la pulpe de ses fruits, qui est amère et toxique (SINCICH, 2002).

II. 2.1.- Noms vernaculaires :

Arabe: Handal, Hadag, Handhal, Hantal, Hadjj. **Berber** : Taberka, Tefersite, Tadjellet. **Français** : coloquinte, chicotin. **Anglais** : Colocynth, bitter apple, bitter gourd. **Allemand** : Bitterzitrulle, Bitterapfel. **Inde** : Tumba ou Gartoomba. **Italien** : coloquintida, popone amaro coloquinte (SINCICH, 2002).



Photo1: *Citrullus colocynthis* L.
(Oued N'saa, originale, avril, 2013).

II.2.2.-Position systématique:

Embranchement	: <i>Spermaphyte</i>
Sous embranchement	: <i>Angiosperme</i>
Classe	: <i>Dicotylédones</i>
Sous classe	: <i>Dilleniidae</i>
Ordre	: <i>Violales</i>
Famille	: <i>Cucurbitaceae</i>
Genre	: <i>Colocynthis</i>
Espèce	: <i>Citrullus Colocynthis</i> Schard. (OZENDA, 1991).

II.2.3.-Description botanique:

Colocynthis vulgaris ou bien *Citrullus colocynthis* est une plante vivace à longues tiges rampantes qui s'étalant sur le sol et pouvant dépasser 1 m de long (CHEHMA, 2006). C'est une plante hispide mais à poiles non piquantes. Les feuilles sont profondément découpées dont les marges sont souvent enroulées au début de dessiccation. Pendant la période de floraison, vers le mois d'avril-mai, il apparaît des fleurs composées de cinq pétales jaune claire (OZENDA, 1991). Les fruits sphériques de 7 à 10 cm de diamètre, ressemblant à une petite pastèque, de couleur verte panachée de jaune clair, devient complètement jaune à maturité. La chair légère, spongieuse, de couleur jaune orangé. Une plante produit 15 à 30 fruits. Les graines de petite taille (6mm de longueur), ovoïdes et aplaties, lisse, de couleur variant de l'orange au brun noirâtre et ont une saveur amère (DUKE, 1983).

II.2.4.-Répartition géographique :

Cette espèce se trouve en Arabie, en Syrie et en Egypte, ainsi que dans les étendues arides et sablonneuses du Nord-Ouest, du centre et du Sud de l'Inde. Elle est aussi cultivée dans certaines régions de l'Espagne et du Chypre (CHOPRA et al., 1960). La coloquinte est très fréquente dans les régions tropicales humides ou modérément sèches, elle est peu présente dans les zones tempérées (BRUNETON, 1996). La coloquinte est commune dans tout le Sahara, au niveau des terrains sablonneux et sablo-argileux des lits d'oued et des dépressions (OZENDA, 1991), (CHEHMA, 2006).

II.2.5.-Intérêts socioéconomiques :

Les feuilles et les fruits sont utilisés en infusion, en cataplasme, en pommade et en compresse pour les traitements des piqueurs de scorpion, des indigestions, des dermatoses et des

infections génitales. Elle est également utilisée par les populations locales pour soigner les dermatoses des dromadaires. 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 colocynthine ou la citrulène, qui est un glucoside, se compose d'un alcaloïde et d'un alcool cristallisable, le citrullol. Les racines contiennent de l' α élatérine et les graines une huile jaune brunâtre qui renferme notamment un alcaloïde, un glucoside et de la saponine. Signalent l'existence d'un composé triterpène tétracyclique appelé cucurbitacine isolé des feuilles et des fruits de coloquinte et qui présente des effets anti-appétants. C'est un antagoniste des hormones stéroïdiennes des insectes (KEMASSI, 2008).

II.2.6.-Activités biologique de la plante :

Les extraits bruts éthanoliques des fruits, feuilles, tiges et les racines de *Citrullus colocynthis* Schard 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 jugée 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 Gram positif (*Bacillus subtilis*). Les bacilles à Gram négatif, *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa* n'ont montré aucune réponse (USMAN et al., 2003).

II.3.-Choix de la matière biologique:

Notre étude porte sur quelques espèces bactériennes fréquentes en pathologie humaine. Ces souches des microorganismes fournis du laboratoire de l'université de Ghardaïa, nous avons retenu les espèces suivantes :

Escherichia coli

Pseudomonas aeruginosa

Staphylococcus aureus

Lusteria monocytogenas

Bacillus subtilis

Proteus vulgaris

II.3.1.-*Escherichia coli* (colibacille) :**II.3.1.1.-Définition :**

Escherichia coli est l'espèce bactérienne qui a été la plus étudiée par les fundamentalistes pour des travaux de physiologie et de génétique. Cette bactérie est connue depuis longtemps comme commensale du tube digestif et pathogène pour l'appareil urinaire. Au cours des dernières décennies, le rôle de certaines catégories de *E. coli* dans les syndromes diarrhéiques a été précisé et les mécanismes de ce pouvoir pathogène ont été analysés, est un type des bactéries organisme unicellulaire qui peut vivre dans de nombreux environnements différents (AVRIL et al., 1992).

II.3.1.2.-Position systématique :

Domaine: *Eubacteria*

Phylum: *Proteobacteria*

Classe: *Gammaproteobacteria*

Order: *Enterobacteriaceae*

Genre: *Escherichia*

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

II.3.1.3-Habitat :

Escherichia coli est une espèce commensale du tube digestif de l'homme et des animaux. Dans l'intestin, *E. coli* est l'espèce aérobie quantitativement la plus importante, présente à raison de 10^7 10^9 corps bactériens par gramme de selles. Cette population bactérienne ne représente qu'environ 1 % de celle des anaérobies. La recherche d'*E. Coli* dans l'eau d'alimentation (colimétrie) est fait pour apprécier sa potabilité. La présence d'*E. coli* dans l'eau est le témoin d'une contamination fécale récente et la rend impropre à la consommation (AVRIL et al., 1992).

II.3.1.4.-Caractéristiques :

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

II.3.1.5.-Pouvoir pathogène et toxicité :

En médecine humaine, les *Escherichia coli* peuvent être de banals 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, certains 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.3.1.6.-Sensibilité aux antibiotiques :

La bactérie était initialement sensible à beaucoup d'antibiotiques, mais l'acquisition de résistance est fréquente, surtout en milieu hospitalier. Cependant la résistance aux carboxipénicillines par production de pénicillinase défasse 40 des souches, une partie de ces souches résistent à l'association amoxicilline-acide clavulainique pour les autres antibiotiques, les fréquences de résistance, sont faible à l'exception des sulfa-mides (50%), et tétracyclines (40%) et du chloromphimcol (25%) (FAUCHERE et AVRIL, 2002).

II.3.2.-*Staphylococcus aureus* :

II.3.2.1-Définition :

L'espèce *Staphylococcus aureus*, est ainsi nommée à cause de la pigmentation jaune des colonies (aureus=dorés) (TORTORA et al., 2003). La bactérie cultive facilement sur les milieux usuels et aussi sur des milieux riches en NaCl. Elle doit son nom d'espèce à l'aspect pigmenté de ses colonies. Elle possède une coagulase (enzyme provoquant la coagulation du plasma). Ce qui la distingue de la plupart des autres espèces de staphylocoques, et peut produire de nombreuses toxines (NAUCIEL et VILDE, 2005).

II.3.2.2.-Position systématique :

Domaine : *Eubacteria*

Phylum : *Firmicutes*

Classe : *Bacilli*

Ordre : *Bacillales*

Famille : *Staphylococcaceae*

Genre : *Staphylococcus*

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

II.3.2.3.-Habitat :

C'est un germe ubiquitaire, retrouvé dans le sol, l'air. C'est un commensal de la peau et des muqueuses de l'homme. On le trouve à l'état normal dans l'oropharynx, les fosses nasales, dans les selles au niveau du périnée ou des aisselles (FAUCHERE et AVRIL, 2002).

II.3.2.4.-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). Cocci à gram positif, immobile, pigmenté à jaune, non sporulé en amas (grappes de raisin), température optimal à 37°C, PH optimal : 7.2-7.4, Na Cl : 7.5%, anaérobie facultatif, oxydase+, catalase+ (FAUCHERE et AVRIL, 2002 ; NUCIEL et VILDE, 2005).

II.3.2.5.-Pouvoir pathogène et toxicité :

Les manifestations pathogènes dues à *Staphylococcus aureus* sont très nombreuses, elles sont suppurations, nécrotiques ou entériques :

- Les suppurations localisées.
- Les septicémies et les endocardites.
- Les manifestations digestives.
- Le syndrome de choc toxique (FAUCHERE et AVRIL, 2002).

Staphylococcus aureus, le danger tient dans la capacité de la bactérie à synthétiser une entérotoxines. Celle-ci est thermostable (un chauffage, même conséquent pas à la détruire). Pour fabriquer l'entérotoxines, les s. aureus doivent être présents en nombre élevé (HASNA et *al.*, 2007).

II.3.2.6.- Sensibilité aux antibiotiques :

Les souches communautaires sont généralement résistantes aux pénicillines G et A, mais sensibles aux pénicillines M. Elles sont souvent sensible aux macrolides, aux synergistines, aux fluoroquinolones (FAUCHERE et AVRIL, 2002).

II.3.3.-*Pseudomonas aeruginosa* :**II.3.3.1.-Définition :**

Le genre *Pseudomonas* est fait de bacilles (à ciliature polaire), aérobies stricts, cultivant facilement sur les milieux usuels. *Pseudomonas aeruginosa* (ou bacille pyocyanique) se caractérise par la pigmentation bleu-vert de ses colonies. En fonction de la nature des antigènes O (porté par le lipopolysaccharide) on distingue différents sérotypes (NAUCIEL et VILDE, 2005). C'est l'espèce la plus connue et la plus répandue du genre *Pseudomonas*. La plus pathogène, elle constitue l'espèce-type du genre (AVRIL et *al.*, 1992).

II.3.3.2- Position systématique :

Domaine : *Eubacteria*

Phylum : *Proteobactéria*

Classe : *Grammaproteobacteria*

Ordre : *Pseudomonadales*

Famille : *Pseudomonadaceae*

Genre : *Pseudomonas*

Espèce : *Pseudomonas aeruginosa* (BELKASMI et KASMI, 2010).

II.3.3.3-Habitat :

C'est une bactérie qui vit normalement à l'état de saprophyte dans l'eau et le sol humide ou sur les végétaux. Elle résiste mal à la dessiccation. Cette bactérie peut vivre en commensale dans le tube digestif de l'homme et de divers animaux. Le B.pyocyanique peut survivre et se multiplier dans une infinie variété de liquides et de milieux, sur des supports et des matériels surtout s'ils sont humides. Considéré comme une bactérie pathogène opportuniste c'est le germe-type des infections hospitalières ou nosocomiales (AVRIL et *al.*, 1992).*Pseudomonas aeruginosa* se trouve dans le tube digestif et plus rarement dans la saline (FAUCHERE et AVRIL, 2002).

II.3.3.4.- Caractéristiques :

Bacille gram négatif, mobile à ciliature polaire monotriche, caractérisé par la pigmentation bleu, vert, sporule, température optimale : 30 à 43°C, pH optimal 6,5-8, aérobie strict, chimio-organotrophe, oxydas+, catalase+, gaz-, LDC-, AHD+, géatuié+, psychrotrophe (FAUCHERE et AVRIL, 2002).

II.3.3.5.- Pouvoir pathogène :

La bactérie peut provoquer des infections parfois sévères chez les sujets dont les défenses sont amoindries. Elle peut provoquer des infections urinaires, bronchiques (AUCIEL et VILDE, 2005). Responsable d'infection cutanée, d'infection de la sphère ORL et d'infection divers (BELKASMI et KASMI, 2010).

II.3.3.6.- Sensibilité aux antibiotiques :

Pseudomonas aeruginosa est une bactérie généralement multi résistante, les antibiotiques pouvant avoir une bonne activité sont : la pipéracilline, l'azolocilline, la ceftazidime, la cefuslodime, le céfépime, l'imipénème et les aminosides. Les souches résistantes à la colistine sont très rares. La ciprofloxacine est la plus active des quinolones. L'activité de tous ces antibiotiques n'est pas régulière et doit toujours être précisée par antibiogramme (FAUCHERE et AVRIL, 2002). *Pseudomonas aeruginosa* n'est sensible qu'à quelques antibiotiques et le choix d'un traitement est donc important. Malgré l'efficacité de certains, le succès n'est souvent que relatif et l'effort de lutte contre les infections à *B. pyocyane* doit passer avant tout par la prévention : mesures d'hygiène voire la vaccination (AVRIL et *al.*, 1992).

II.3.4.- *Proteus vulgaris*:

II.3.4.1.-Définition :

Ce groupe *d'Enterobacteriaceae* rassemble des espèces qui ont en commun de posséder des enzymes permettant la désamination oxydative des acides aminés en corps cétoniques. Ceux-ci forment des complexes colorés avec les ions

Deux de ces enzymes sont recherchées en pratique courante. Ce sont :

- la tryptophane-désaminase ou TDA,
- la phénylalanine-désaminase ou PDA.

Dans la suite de ce chapitre, ce groupe de bactéries sera désigné comme « Entérobactéries TDA+ ». C'est un groupe très hétérogène. Ces bactéries sont en général mobiles, donnent des colonies lactose négatif et sont ONPG négatif (Photo 2).

II.3.4.2.- Position systématique :

Domaine : *bacteria*

Phylum: *proteobacteria*

Classe : *Gamma proteobacteria*

Ordre : *Enterobacteriales*

Famille : *Enterobacteriaceae*

Espèce : *Proteus vulgaris* (HAUSER, 1885).

II.3.4.3.-Habitat :

Les Entérobactéries TDA+ sont extrêmement répandues dans l'environnement. On les trouve partout, sur le sol, dans les eaux de surface, dans les eaux d'égout etc. Ce sont des hôtes habituels du tube digestif de l'homme et des animaux (AVRIL et *al.*, 1992).

II.3.4.4.-Caractéristiques :

Proteus vulgaris sont des bacilles très polymorphes. Dans une culture jeune, il peut exister des formes courtes et des formes longues. Les souches très mobiles sont pourvues de longs flagelles (AVRIL et *al.*, 1992).

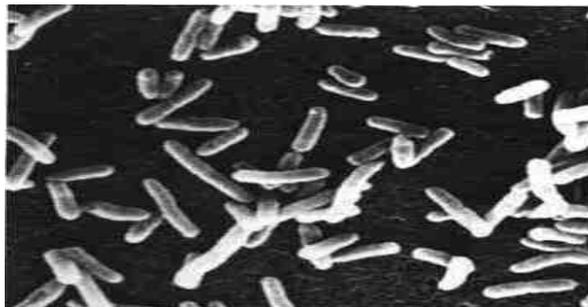


Photo 2 : *Proteus vulgaris* (AVRIL et *al.*, 1992).

II.3.4.5.- Pouvoir pathogène :

Ces bactéries sont avant tout responsables d'infections urinaires. *P. mirabilis* est de loin l'espèce la plus fréquente. Les espèces rencontrées ensuite sont *M. morganii* et les *Providencia*. Une anomalie de l'appareil urinaire ou un diabète sont des circonstances favorisant la survenue de ces infections qui peuvent être à l'origine de septicémies. Ces bactéries sont aussi isolées de produits pathologiques variés : sécrétions trachéo-bronchiques, brûlures, pus divers. Des méningites à *Proteus* ont été décrites chez le nourrisson. Le pouvoir entéropathogène des *Proteus* et des *Providencia* est très discutable. Ces espèces sont souvent présentes en grande quantité dans les selles lors des diarrhées par dysmicrobisme intestinal. En raison de la grande fréquence des Entérobactéries TDA+ dans l'environnement, il y a toujours lieu de s'interroger sur la qualité des prélèvements avant d'attribuer un rôle pathogène aux souches isolées (AVRIL et *al.*, 1992).

II.3.4.6.- Sensibilité aux antibiotiques :

Les Entérobactéries TDA+ ont une résistance naturelle à la colistine et à la tétracycline. Il est classique d'opposer les « *Proteus indole (-)* » (généralement plus sensibles aux antibiotiques, notamment les bêta-lactamines) aux « *Proteus indole (+)* » souvent multi résistants. *P. stuartii* et *M. morgani* peuvent poser des problèmes difficiles d'antibiothérapie. Ils restent néanmoins généralement sensibles à l'amikacine et aux céphalosporines de 3e génération. A l'exception des souches de *Providencia*, les Entérobactéries TDA+ sont habituellement sensibles aux nouvelles fluoroquinolones (AVRIL et al., 1992).

II.3.5.-*Listeria monocytogenes* :

II.3.5.1.-Définition :

Listeria est un petit bacille (0,5 - 2 µm x 0,5 µm), Gram positif, isolé ou en chaînettes, mobile à 20-25 °C, non sporulé. Aéro-anaérobie facultatif, catalase positive sauf de rares souches, hydrolysant l'esculine, oxydase négative, *Listeria* fermente de nombreux glucides sans production de gaz (CATHERINE D., 2008 ., 2005). La bactérie a été isolée lors d'une épizootie atteignant des lapins et des cobayes qui présentaient une forte augmentation des monocytes circulants et des lésions de nécrose hépatique. Cette bactérie a été isolée ensuite chez différentes espèces animales domestiques et sauvages. Chez l'homme, elle a été initialement isolée lors d'une méningite chez un adulte ainsi que dans différentes circonstances pathologiques jusqu'à ce qu'en 1933 BURN montre son rôle dans l'infection en période néo-natale. Les travaux ont par la suite souligné la place importante de *L. monocytogenes* en pathologie humaine (AVRIL et al ., 1992) (Photo3).

II.3.5.2.-position systématique :

Domaine: *Bacteria*

Phylum: *Firmicutes*

Classe : *Bacilli*

Ordre : *Bacillales*

Famille: *listeriaceae*

Genre : *Listeria*

Espèce : *listeria monocytogenes* (MURRY et al., 1926).

II.3.5.3.-Habita :

L. monocytogenes est une bactérie saprophyte et ubiquitaire. Largement répandue dans la nature, elle a été isolée dans le sol, l'eau, les végétaux (ensilage) mais aussi dans le lait, la viande de poulet, les légumes (choux) et dans les matières fécales de sujets sains (homme et nombreuses espèces animales). La bactérie survit dans l'environnement naturel, résiste à des conditions hostiles et peut s'y multiplier même à basse température (propriété utilisée comme méthode d'enrichissement) (AVRIL *et al.*, 1992).

II.3.5.4.-Caractéristiques morphologiques :

Les *Listeria*. se présentent sous la forme de petits bacilles droits, de 0,4 à 0,5 µm de diamètre sur 0,5 à 2,5 µm de longueur, aux extrémités arrondies, se présentant de manière isolée ou groupés en V ou en L ou en palissades ou, parfois, en courtes chaînes ou petits amas. Ce sont des bactéries à Gram positif, non acido-résistantes, non capsulées, non sporulées, aéro-anaérobies facultatives mais cultivant mieux en aérobiose et mobiles lorsqu'elles sont cultivées à 20 °C (ciliature périt riche), immobile 37° C, non capsulé, non sporulé (KAISMOUNE, 2009).



Photo 3 : Aspect de *Listeria monocytogenes* (KAISMOUNE N., 2009).

II.3.5.5.-Pouvoir pathogène :

L. monocytogenes est une bactérie opportuniste responsable par diffusion hématogène de trois types d'infections chez l'homme :

- *Listériose de l'adulte et de l'enfant* : méningites, méningo-encéphalites, encéphalites, septicémie.

La grande majorité de ces infections se produisent chez des malades porteurs de tares viscérales (cirrhose, cancers, etc...). La listériose de l'adulte atteint essentiellement les personnes âgées et immunodéprimées.

-*Listériose de la femme enceinte* : infection bénigne pour la femme, se traduisant souvent par une simple fièvre mais grave pour le fœtus, pouvant provoquer un avortement, la mort in utero ou l'accouchement prématuré.

- *Listériose néonatale* : septicémie, méningite secondaires à la contamination dans les jours qui précèdent l'accouchement ou au moment de l'accouchement (AVRIL et al., 1992).

II.3.5.6.-Résistance aux antibiotiques :

Sensibilité de *L. monocytogenes* à pénicilline G, amoxicilline et aminosides, mais résistance aux céphalosporines et aux fluoroquinolones. Le traitement de base des infections à *L. monocytogenes* repose sur l'association amoxicilline-gentamicine (AVRIL et al., 1992).

II.3.6.-*Bacillus subtilis* :

II.3.6.1.-Définition :

Bacillus subtilis (Figure 1) est une bactérie vivant dans le sol à des températures modérées (5°C-65°C). Dans sa niche écologique, elle doit souvent faire face à des stress et des carences en nutriments, ce qui l'a conduite à développer diverses stratégies afin de survivre en conditions défavorables. Elle est notamment capable de former des spores, qui lui permettent de survivre longtemps dans des conditions extrêmes telles que la dessiccation, la chaleur ou les radiations. Au cours de l'évolution, sa compétence naturelle lui a également conféré une capacité d'adaptation par recombinaison. A court terme, la bactérie est aussi capable d'affronter des situations telles que les stress osmotiques, oxydatifs, acides ou les chocs thermiques, en particulier grâce à des régulateurs globaux de réponse au stress, les facteurs *sigma* (ELODIE., 2009) (Photo 4).

II.3.6.2.- Position Systématique :

Domaine : *bacterias*

Phylum : *firmicutes*

Classe : *bacilli*

Ordre : *bacillales*

Famille : *bacillacées*

Genre : *Bacillus*

Espèce : *subtilis* (COHN., 1872).

II.3.6.3.-Habitat :

C'est une bactérie du sol, facilement isolable de la rhizosphère de nombreuses plantes (VULLO *et al.*, 1991). Cet habitat naturel contient une grande variété de carbohydrates incluant de nombreux polysaccharides issus des plantes, des animaux et des microorganismes. *B. subtilis* est particulièrement active dans les couches supérieures du sol (1- 3 cm) où l'oxygène est encore facilement accessible. Une des caractéristiques principales de la vie dans le sol et ayant eu un impact important sur la physiologie de *B. subtilis* est l'oscillation permanente d'une vie se déroulant entre jeûne et abondance (AVRIL *et al.*, 1992).

II. 3.6.4.- Caractéristique :

B. subtilis est capable d'autolyse car elle produit des enzymes capables de dégrader ses propres peptidoglycanes. Elle a la capacité remarquable de former des spores afin de se protéger de contraintes environnementales défavorables. La faible taille de son génome (4,2 Mb) alliée à des conditions de culture simples et des possibilités de manipulations génétiques en fait un organisme idéal à étudier en laboratoire (AVRIL *et al.*, 1992).

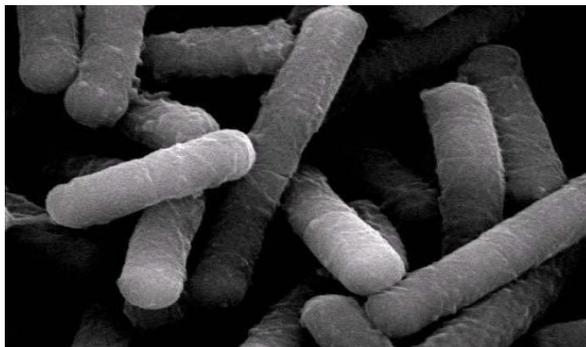


Photo 4 : *Bacillus subtilis* observé en microscopie électronique à balayage (ELODIE, 2009).

II.3.6.5.-Pouvoir pathogène :

Bacillus subtilis a été isolé, chez l'homme, lors d'endocardites, de pneumonies, de bactériémies, de septicémies, d'infections oculaires... Il est responsable de quelques cas de toxoinfections alimentaires où il a pu être isolé en grand nombre (plus de un million par gramme) à partir des aliments suspects (viandes froides, pâtés, farces, pizza, pains complets...). Les symptômes, vomissements parfois sévères et diarrhées, apparaissent entre 15 minutes et 10 heures après l'ingestion (moyenne 2 à 5 heures) et persistent 2 à 8 heures. Ce germe a été impliqué dans des avortements chez les ovins et, chez les bovins, il est l'agent de mammites aiguës, récidivantes malgré un traitement antibiotique (pénicilline par exemple) qui, au vu des résultats obtenus *in vitro*, aurait dû être efficace (TEYSSOU *et al.*, 1992).

II.3.1.5.6.-Resistance aux antibiotiques :

Les *Bacillus subtilis*. Sont généralement sensibles à l'amoxicilline-acide clavulanique, à la gentamicine, à l'amikacine, à la kanamycine, aux fluoroquinolones, à la tétracycline, au chloramphénicol, à la rifampicine et à la vancomycine. Ils sont souvent résistants à la lincomycine, à la colistine et fréquemment à la fosfomycine. La production de bêta-lactamases par de nombreuses souches limite l'intérêt de la pénicilline (sauf pour *Bacillus anthracis* dont le nombre de souches résistantes est faible) et des céphalosporines (TEYSSOU et al ., 1992).

II.4.-Préparation des extraits végétaux :

Pour la présente étude, il est adopté une méthode d'extraction de hydrodistillation pour extraire les huiles essentielles.

II.4.1.-Hydrodistillation :

Elle est indiquée particulièrement dans l'extraction des huiles essentielle légères. Dans un ballon de 1 litre, mettre 300g des fruits avec 400ml d'eau distillée. L'eau est portée à ébullition à l'aide d'un chauffe ballon, en prenant garde de ne pas chauffer jusqu'à sec. La vapeur d'eau entraîne les produits organiques volatils qui se condensent à l'aide de réfrigérant. Après décantation les huiles essentielles sont récupérées (photo 5).

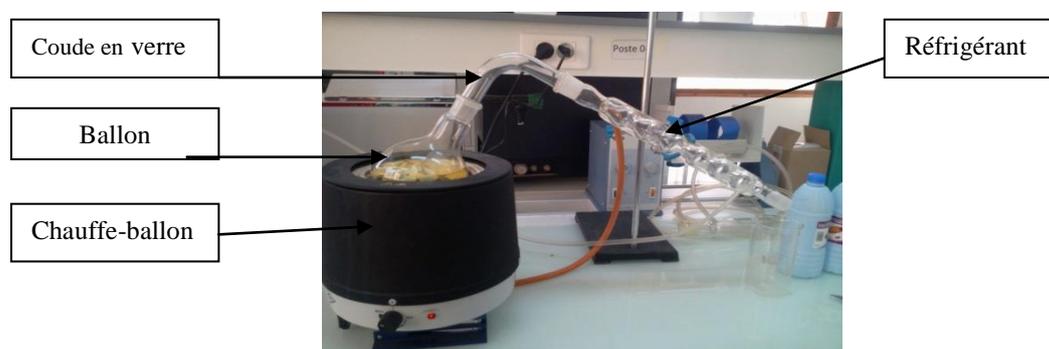


Photo 5 : Montage d'hydrodistillation pour l'extraction des huiles essentielles
(Originale, avril, 2013).

II.5.- Suivre de l'activité antimicrobienne des extraits :

II.5.1.-Préparation du milieu :

Les milieux de culture de type Muller Hinton sont préparés au laboratoire (Annexe 1), ainsi sont fondu au bain-marie à 80°C, ensuite coulés aseptiquement dans les boîtes de Pétri pour formé 6mm de diamètre puis, refroidis progressivement (Photo 6).



A- Fondre les milieux au bain-marie B - Refroidissement de milieu de culture



C- Remplissage des boîtes Piétri

Photo 6: Etape de préparation de milieu de culture.

II.5.2.-Préparation de l'inoculum :

A partir d'une culture jeune, on prélève à l'aide d'une anse de platine deux à trois colonies pures et isolées qu'on décharge dans un tube contenant 10ml d'eau physiologique stérile (BELKASMI et KASMI ,2010) (Photo 7).

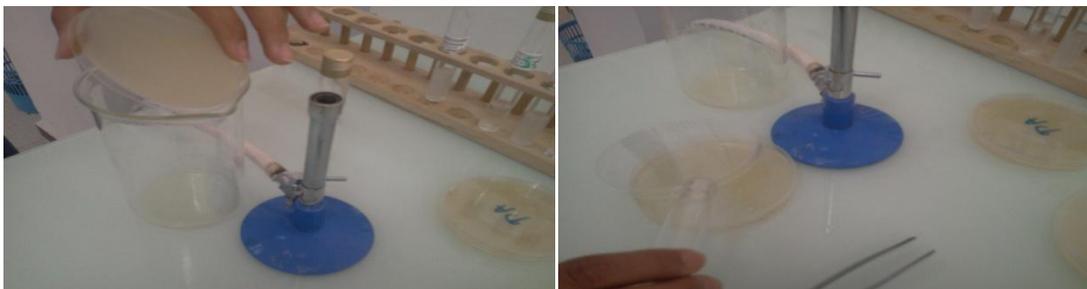


A- Tube d'enrichissement

B- Boites a testés

Photo 7: Etapes de préparation de l'inoculum.**II.5.3.-Ensemencement :**

Sur des boites contenant le milieu gélosé Muller Hinton d'une épaisseur de 4mm bien séchées, on introduit 3 à 5 ml de l'inoculum. On obtient ainsi, un étalement uniforme en nappe. L'excès du liquide est aspiré à l'aide d'une pipette pasteur et rejeté dans un bac d'eau de javel et les boites sont mises à sécher pendant 15 minutes (BELKASMI et KASMI ,2010). (Photo 8).



A- Rejeter l'inoculum

B- Versé l'inoculum

Photo 8: Etape d'ensemencement.**II.5.4.-Dépôt des disques :**

Les disques d'un diamètre de 6mm, sont prélevés à l'aide d'une pince stérile, puis imbibés avec les huiles essentielles de *Citrullus Colocynthis* jusqu'à imprégnation total du disque. Les disques ainsi traités sont déposés sur la surface de la gélose inoculée et laissés diffusés, puis incubés à 37°C à l'étuve pendant 24 heure pour les bactéries (Photo 9).



Photo 9: Etape de dépôt des disques.

II.5.5.-Analyse d'antibiogramme :

Elle consiste à mesurer avec précision les diamètres des zones d'inhibition à l'aide d'une règle à l'extérieure de la boîte :

- Diamètre <5 mm : absence d'activité.
- Diamètre entre 5 et 10 : activité faible.
- Diamètre entre 10 et 16 : activité moyenne.
- Diamètre > 16 mm : activité très forte.

CHAPITRE III:
RESULTATS ET DISCUSSION

RESULTATS ET DISCUSSION

CHAPITRE III:

III.-Résultats et Discussions :

III.1.-Rendement des huiles essentielles :

L'hydrodistillation est réalisée sur les fruits de *Citrullus colocynthis*. Placées dans un hydrodistillateur avec un rapport d'eau/matière végétale.

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

$$R = (P_h / P_v) \times 100$$

R = Rendement en huile essentielle en %.

P_h = Poids de l'huile essentielle en gramme.

P_v = Poids de la biomasse végétale en gramme.

Les résultats relatifs au rendement de l'extraction des fruits de *Citrullus colocynthis* est de 0,67 %.

Le rendement obtenu à l'aide d'une extraction par hydrodistillation à l'échelle du laboratoire est faible, cette faible teneur serait probablement due à l'âge de la plante, à la période et à l'endroit de récolte sans négliger la nature même de ces plantes aromatiques ainsi que la méthode d'extraction. Le rendement en huile essentielle de la plantes étudiée n'est pas fortement acceptable à l'échelle industrielle.

L'hydrodistillation reste la méthode d'extraction des huiles essentielles la plus convoitée par l'industrie. Cependant, l'extraction par le gaz carbonique(CO₂) supercritique sous haute pression engendre des rendements supérieurs et des huiles essentielles caractérisées par un profil organoleptique naturel, néanmoins l'utilisation de cette méthode reste limitée dans la pratique industrielle pour des raisons de rentabilité économique (HALLAL, 2011).

III.2.- Activité antimicrobienne des huiles essentielles des fruits de *Citrullus colocynthis* :

L'évaluation de l'activité antimicrobienne de ces huiles essentielles de *Citrullus colocynthis* en été effectuées via l'estimation de la surface de zone d'inhibition, cette dernière est réalisée par la méthode de diffusion sur la gélose (MH) sur des microorganismes pathogènes. Il s'agit de déterminer le diamètre d'inhibition à l'aide d'une règle et les résultats de notre étude sont résumés dans le tableau 5 et dans la (figure1). Les résultats sur 6 souches bactériennes dont : *Escherichia*

coli, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, *Listeria monocytogenes*, *Proteus vulgaris*, montrent un maximum d'inhibition par l'extrait des huiles essentielles de *Citrullus colocynthis* chez l'espèce *Staphylococcus aureus* et un minimum d'inhibition chez l'espèce *Listeria monocytogenes*, alors que l'extrait des huiles essentielles de *Citrullus colocynthis* ne présente aucun effet sur l'espèce *Bacillus*.

Tableau 5: Résultats d'étude d'activité antimicrobienne d'extraits des huiles essentielles de *Citrullus colocynthis*.

Les souches microbiennes	Diamètre d'inhibition (mm)	L'effet dans les boîtes (sensibilité)
<i>Escherichia coli</i>	12±00 mm	+
<i>Staphylococcus aureus</i>	14±1,41 mm	+
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	10±1,41 mm	+
<i>Listeria monocytogenes</i>	9±1,41 mm	+
<i>Proteus vulgaris</i>	13±1,41 mm	+
<i>Bacillus subtilis</i>	0mm	-

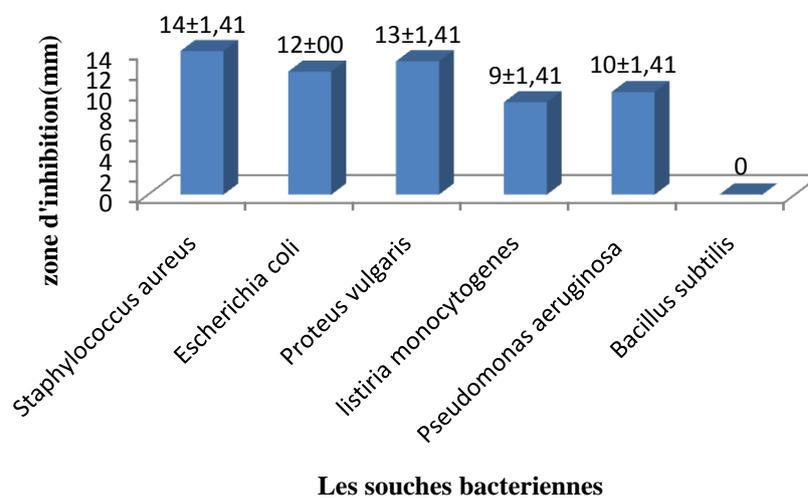


Figure 1: Représentation graphique des diamètres des zones d'inhibition (mm).

III.2.1.- *Escherichia coli* :

Cette souche bactérienne montre qu'il y a une zone d'inhibition de 12±1,41 mm observée autour d'un disque imbibé de huile essentielle (photo 10), donc l'extrait des huiles essentielles des fruits de *Citrullus colocynthis* présente une activité moyenne contre cette espèce par rapport aux

autres espèces, ce qui explique que cette espèce est sensible à ce huile essentielle, le résultat est positif.

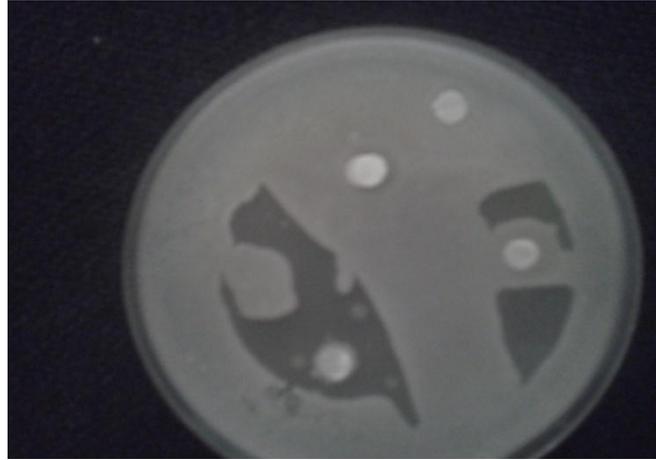


Photo 10 : Aromatogramme *Escherichia coli*.

III.2.2.-*Staphylococcus aureus*:

De même l'extrait des fruits de *citrullus colocynthis* présent une activité maximale contre *Staphylococcus aureus* avec une zone d'inhibition de $14 \pm 1,41$ mm (photo 11), le résultat est aussi positif.

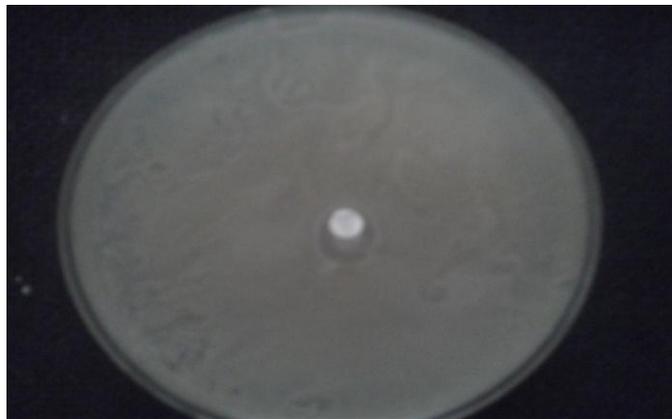


Photo 11: Aromatogramme *Staphylococcus aureus*.

III.2.3.- *Pseudomonas aeruginosa* :

Concernant cette souche bactérienne il ya une trace d'inhibition de $10 \pm 1,41$ mm autour de disque (photo 12), de ce fait l'extrait des huiles essentielles testé exerce une activité antibactérienne sur *Pseudomonas aeruginosa* cette activité est proche que l'activité contre *Lusteria monocytogenas*, c'est -à-dire il ya une sensibilité donc le résultat est positif.

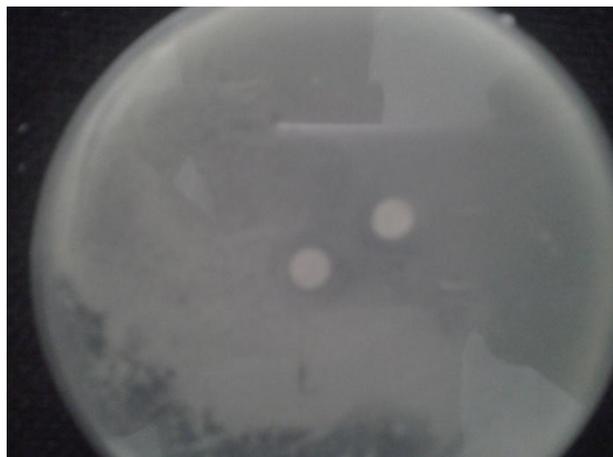


Photo 12: Aromatogramme *Pseudomonas aeruginosa*

III.2.4.-*Listeria monocytogenes*:

Les mêmes observations pour ce microorganisme il ya une zone d'inhibition de $10 \pm 1,41$ mm (photo 13), l'extraits des huiles essentielles des fruits de *citrullus colocynthis* présente une activité minimale contre cette souche, donc le résultat est positif.



Photo 13: Aromatogramme *Listeria monocytogenes*.

III.2.5.-*Proteus vulgaris*:

D'après la photo 14 on remarque que l'extrait des huiles essentielles de *citrullus colocynthis* représente une activité contre la souche *Proteus vulgaris* avec une zone d'inhibition de $13 \pm 1,41$ mm, cette activité aussi plus proche que l'effet des huiles essentielles sur *Staphylococcus aureus*, le résultat est positif.

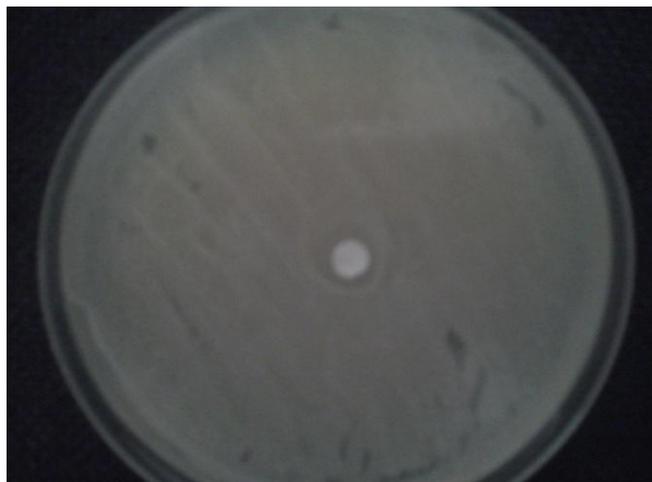


Photo 14 : Aromatogramme *Proteus vulgaris*.

III.2.6.- *Bacillus subtilis* :

Aucune activité antibactérienne n'est constatée pour l'effet des huiles essentielles des fruits de *citrullus colocynthis* sur cette souche bactérienne (photo 15), le résultat est négatif.



Photo 15: Aromatogramme *Bacillus subtilis*.

Les résultats expérimentaux présentés, montrent que l'huile essentielle du *citrullus colocynthis* est active sur toutes les souches à l'exception de *Bacillus subtilis*. La souche de *Bacillus subtilis* possède une résistance contre l'action antibactérienne des huiles essentielles de *citrullus colocynthis*. Les autres souches se comportent différemment avec des diamètres compris entre $9 \pm 1,41$ mm et $14 \pm 1,41$ mm.

Staphylococcus aureus et *Proteus vulgaris* Gram(+) sont donc plus sensible à l'effet de l'extrait des huiles essentielle, L'activité de l'huile est importante sur cette espèce par rapport aux autres bactéries. Il est bien connu que les bactéries à Gram (+) sont plus sensible aux huiles essentielles que les bactéries à Gram (-) (BEKHECHI et al., 2008). Des résultats similaires ont été

enregistrés avec d'autres types d'huiles essentielles AKIN et AKTUMSEK (2009). En testant l'huile essentielle d'*Eucalyptus camaldulensis* contre *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli*, ces auteurs ont indiqué que *Staphylococcus aureus* était plus sensible à l'huile essentielle. D'après KALEMBA et KUNICKA (2003), la sensibilité d'un microorganisme aux huiles essentielle dépend des propriétés de l'huile essentielle et le microorganisme lui même.

Le Pouvoir antimicrobien bactéricide est plus important contre *Listeria monocytogenes* Gram(+), ZAIKA (1988) montre qu'il est communément reconnu que les bactéries à Gram négatif sont plus résistantes aux huiles essentielles.

An outre *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa* gram(-) présente une sensibilité moyenne à l'effet de l'extrait des huiles essentiel, plusieurs auteur ont démontré que les bactéries à gram(-) peuvent être sensibles à l'action des huiles essentielle.

Cependant CELIKEL et KAVAS (2008) ont souligné, que l'action des huiles essentielles volatiles a peu d'influence sur l'inhibition de la croissance des bactéries à gram (-) et gram (+).

L'absence d'une zone d'inhibition chez *Bacillus subtilis* Gram(+) est due préalablement à la résistance de cette souche ou à la dégradation des huiles essentielles qui semble être due a l'effet de la température ou à nos conditions expérimentales telles que la faible concentration utilisée.

CONCLUSION GENERALE

Au cours de ce travail, on a étudié l'activité biologique de *Citrullus colocynthis* sur quelques souches bactériennes à savoir : *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Listeria monocytogenes*, *Proteus vulgaris*, *Bacillus subtilis*.

Le rendement des huiles essentielles de *Citrullus colocynthis* est de 0,67%.

L'activité antimicrobienne est importante chez la majorité des souches étudiées, avec un diamètre d'inhibition égal à $12 \pm 0,00$ mm pour *Escherichia coli*, $14 \pm 1,41$ mm pour *Staphylococcus aureus*, $10 \pm 1,41$ mm pour *Pseudomonas aeruginosa*, $9 \pm 1,41$ mm chez *Listeria monocytogenes* et $13 \pm 1,41$ mm pour *Proteus vulgaris* par contre la souche *Bacillus subtilis* ne présente aucune sensibilité vis-à-vis à l'extrait biologique. Il semble que l'espèce *Staphylococcus aureus* présente le minimum de résistance à l'effet d'extrait des huiles essentielles de *Citrullus colocynthis*, et l'espèce *Bacillus subtilis* présente le maximum de résistance à l'effet toxique de l'extrait biologique.

Donc d'après ces résultats, l'huile essentielle de cette plante qui est obtenu par la méthode d'hydrodistillation possède un effet biologique sur la majorité des souches bactériennes étudiées, pour mieux étudier l'activité biologique des huiles essentielles de cette plante il faut augmenter le rendement d'extraction des huiles essentielles par l'utilisation d'autres techniques d'extraction comme l'entraînement à la vapeur d'eau et il faut élargir le nombre des souches testées.

REFERENCES

BIBLIOGRAPHIQUES

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЕ

REFERENZES

1. **ABDESSELAM Z., 2006-** Les huiles essentielles, un pouvoir antimicrobien avéré. Nutra news. **Ed.** Fondation pour le libre choix- France : pp 6 - 16.
2. **ADOLPHE C., 2012-** Etude de synergie des effets chimiques et biologiques des lipides de réserves et des huiles essentielles des fruits et graines saisonniers de la sous-région Afrique Centrale. Thèse de doctorat, université de Toulouse. Paris : 169 p.
3. **AKIN M. , AKTUMSEK A., 2009-** Antibacterial activity and composition of the essential oils of eucalyptus camaldulensis dehn, and myrtus communes L. growing in northern Cyprus. African Journal of biotechnology-Turkey: pp 9,531-535.
4. **AKROUT A., 1999-** Etude des huiles essentielles de quelques plantes pastorales de la région de Matmata (Tunisie). Thèse, Institut des Régions Arides, Tunisie : 293 p.
5. **ALEMAN C., 2000-** Acide /base proprettes of flavonoïdes hydroxyl anted at position 2ou 3 : a nevel quantum mechanical study in gasóphase and solution. Journal of molecular structure requirements for antiproliferative activity on breast cancer cells. Bioorganic & medicinal chemistry lettres. France: pp30, 95-3097.
6. **AVRIL J.L., DABRNAT H., DENIS F., MONTEIL H., 1992-** Bacteriologies Clinique, **Ed** marketing, France: 522 p.
7. **BALASUNDRAM N., SUNDRAM K., SAMMAN S., 2006 -** Phenolic compounds in plants and agro- industial by 6products: antioxidants activity, occurrence and potential uses. Food chemistry. 99 – Australie : pp 191- 203.
8. **BALASUNDRAM N., SUNDRAM K., SAMMAN S., 2006-**Phenolic compounds in plants and agirindustial by- products: antioxidants activity, occurrence and potential uses. Food chemistry. Paris: p 191_203.
9. **BARRY N., 2001 -**Art d'extraire les huiles essentielles. De parfum à faire soi même, Paris : 125 p.
10. **BASIL A, JIMENEZ-CARMONA M.M, CLIFFORD A.A, 1998.** Extraction of rosemary by super heated water. Journal of Food chemistry, Vol.46, N°12, Pakistan, pp 5205-5209.
11. **BEKHECHI C., ABDELOUAHID D., 2010-** Les huiles essentielles. **Ed** office des publications universitaires. Alger : pp 35.
12. **BELAÏCHE P. , 1979-** Traité de phytothérapie et d'aromathérapie. Tome l'aromatogramme. **Ed** Maloine S.A. Paris : pp 204.
13. **BELKASMI E., et KASMI N., 2010 –**Contribution à l'étude de l'activité antimicrobienne de l'extrait foliaire brut de *Capparis spinosa* L. Thèse de magistère, Ouargla : pp 350.

14. **BELLEAU F., 1990-** Analyses des huiles essentielles du *Ledum groenlandicum*. Thèse, Université du Québec : pp 13 - 16.
15. **BELYAGOUBI L., 2006-** Effet de quelques essences végétales sur la croissance des moisissures de détérioration des céréales. Thèse magistère, Université Abou Bekr Belkaïd Tlemcen : pp 76- 110.
16. **BENDIMERAD N., TALEB S.A., BENDIAB A., BENBADJI B., FERNANDEZ X., VALETTE L., LIZZANI-CUVELIER L., 2005** Composition and antibacterial activity of pseudocytisus integrifolius Salisb essential oil from Algeria. Journal of agricultural and food chemistry- Tlemcen, 53: pp 2947-2952.
17. **BENKHCHI C, ATIK-BEKKARA F. & ABDEL D.E; 2008.** Composition et activité antibactérienne des huiles essentielles D'origanum glandulosum D'Algérie. Phytotherapy, 6, Alger : pp 153-159.
18. **BLLESTER I., CAMUESCO D., GALVEZ J., SANCHEZ DE MEDI F., ZAZOUE A. 2006-** Flavonoïde and inflammatory bowel disease .ars pharm., Granada.47 (1) : p 5-21.5.
19. **BOUGUERRA A, ZEGHOU K, 2009-** Etude des activités antioxydante et antibactérienne de l'huile essentielle des fleurs de *Lavandula stoechas* L, mémoire d'ingénieur, université mentouri. Constantine : pp 45- 74.
20. **BRUNETON J., 1999-** Pharmacognosie, Phytochimie. Plantes médicinales. Ed Technique et Documentation, 3ème Ed Lavoisier, Paris. 1120pages.
21. **BRUNETON J., 1987-** Mono et sesquiterpènes In éléments de Phytochimie et de pharmacognosie. Ed : Tec & Doc., Lavoisier, Paris : pp 223-234.
22. **BRUNETON J., 1993-** Pharmacognosie, Phytochimie, plantes médicinales. Tec et doc. Lavoisier 2^{ème} édition- Paris : pp 915.
23. **BRUNETON J., 1999-** Pharmacognosic-Phytochimie- Plante médicinales 3^{ème} ED. Techenogique et Documentation Lavoisier, Paris : pp 310-506.
24. **CAILLET S, LACROIX M, 2007.** Les huiles essentielles : leurs propriétés antimicrobiennes et leurs applications potentielles en alimentaire. INRS-Institut Armand-Frappie, (RESALA). Paris: pp 1- 8.
25. **CALABRO M.L., GALTIER V., GUTRONEO P., TOMMASINI S.,FICCARA P., FICCARA R., 2004-** Study of the extraction procedure by experimental design and validation of a lc method for determination of flavonoïdes in citrus bergamia juice. Journal of Pharmaceutial and biochemical analysis. Paris: p 349-364.
26. **CALSAMIGLIA S. M., BUSQUET P. V., CARDOZO L., CASTILLEJOS. , AND A. FERRET., 2007-** Essential Oils as Modifiers of Rumen Microbial Fermentation. Journal of Dairy Science 90- Berlin: p 2580-2595.

27. **CATHERINE D., 2008-** Recommandations relatives aux critères de qualité des huiles essentielles. **Ed** afssaps- France: pp17.
28. **CELIKEL N., KANAS G., 2008-** Antimicrobial Properties of some essential oils against some pathogenic microorganisms. Czech journal of Food science, 26, Pakistan : pp174-181.
29. **CHAMI F., 2005-** Evaluation in vitro de l'Action Antifongique des Huiles Essentielles d'Origan et de Girofle et de leurs Composés Majoritaires in vivo, Application dans la Prophylaxie et le Traitement de la Candidose Vaginale sur des Modèles de Rat et de Souris Immunodéprimés, Thèse de Doctorat. Université Sidi Mohamed Ben Abdallah -Maghreb : pp 126- 129.
30. **CHASSAING V., 2006-** L'aromathérapie: les huiles essentielles au service du cheval; **Ed**: Violaine chassaing : pp 4- 8.
31. **CHIEJ R., 1982-** Les plantes médicinales, Guide vert, **Ed** Solar- Indian : pp446.
32. **CLARKE S., 2008-** Essential oils; **Ed**. 2: Churchill Livingstone, Elsevier; London: pp42-77.
33. **CORNU M., 2005-** Avis n°2003-SA-0362 sur la révision de l'avis 2000-SA- 0094 sur la classification des aliments au regard du risque représenté par *Listeria monocytogenes* et les protocoles de tests de croissance. France: pp4.
34. **CROTEAU R., KUTCHAN.T.M., NORMANG .L., 2000-**Natural products in biochemistry & molecular biology of plants .American society of plant physiologiste, American. : P1250-1308.
35. **DAHOU N ., YAMNI K., GMIRA N ., IDRISI HASSANI M., 2004-** Etude des polyphenol des feuilles d'une endémique ibéro marocaine, thymelies lythroïdes. Acta Botanica Malacitana. Alger : pp 233-239
36. **DENIS H., GERMAIN E.2009-** Les nouvelles influences dans les métiers de l'alimentation ou comment les apports scientifiques donnent aux métiers de l'alimentation de nouvelles opportunités en matière de formation et de professionnalisation .**Ed**, document en cours de construction, Germain : pp110-123.
37. **DEWICK P.M. 2002-** Medicinal Natural Product: A Biosynthetic Approach; **Ed** 2: JOHN WILEY & SONS, Paris :pp 291- 398.

38. **ELODIE M., 2009-** Etude fonctionnelle d'un centre d'interactions protéiques chez *Bacillus subtilis* par une approche intégrée. université paris xi UFR scientifique d'Orsay., thèse de doctorat. Paris : p 332.
39. **FAUCHERE J.L. et AVRIL J.L., 2002-** Bactériologie générale et médicale. Elleipsesdition Marketing, ISBN – Ouargla : pp 2-7289-0747-0.
40. **FLANDROIS J.P., 1997** –Bactériologie médicale. Presses universitaires, Lyon, pp 300.
41. **GARNERO J, 1991-** Les huiles essentielles, leur obtention, leur composition, leur analyse et leur normalisation. **Ed techniques-** Encyclopédie des médecines naturelles. (Paris, France), phytothérapie, Aromathérapie- Paris : pp 2-20.
42. **GOUBAU P et VAN G.A., 2000-** repère en microbiologie. Louvain Grant, Louvain, Belgique : 391 p.
43. **GUESMI A., BOUDABOUS A., 2006-** Activité antimicrobienne de cinq huiles essentielles associées dans les produits de thalassothérapie. Thèse de Magistère, Université Tunis – El Mannar, Tunis : pp 224 – 231.
44. **GUIGNARD J.L., 2000-** Biochimie végétale .2^{EME} **Ed.** Dunod, Paris : pp 177-185.
45. **HADI M., 2004-** Laquercetine et ses dérivés : molécule a caractère pro-oxydant ou capteurs de radicaux libre études et application thérapeutiques .Thèse doctorat. Université louis pasteur .Strasbourg : pp 22-44.
46. **HAMMER K.A, CARSON C.F., RILEY T.V., 1999-** Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts, Journal of Applied Microbiology-France: p 985 –990.
47. **HAPKINGS W.G., 2003-**Physiologie vegetale.2^{EME} **Ed.** de boeck, Espagne: p139-276
48. **HARTONEN K., PARSHINTSEV J., SANDBERG K., BERGELIN E., NISULA L., RIEKOLA M L., 2007-** Isolation of flavonoids form aspen knotowood by pressurised hot water extraction and comparison with other extraction techniques .Talanta, Paris: pp 32-38-74.
49. **HASNA E., VINCENT L. et GERARD P., 2007-** Le guide d'analyse des dangers bactériologiques. Cervia paris Ile-de-France, Paris : pp 35.
50. **HAZZIT M., 2002-** Arômes alimentaires. Thèse magister, USTHB, Alger : p 96.
51. **HELLAL Z., 2011-**Contribution a l'étude des propriétés antibactériennes et antioxydante des certaines huiles essentielles extraites des citrus. Thèse de magister en biologie, Tizi-ouzou : pp78.
52. **HESSE M., 2002-** Alkaloids: Natures Cures of Blessing. **Ed:** WILEY-VCH, Egypt: pp 1-1 .2.

53. **HIGLEY C. ET HIGLEY A., 2005**- Reference guide for essential oils; **Ed.** 9: abundant health - Amirica: pp 6-10.
54. **JOURDHEUIL P., GRISON P., FARVAL A ., 1991**- La lutte biologique : un aperçu historique. Le courrier de l'environnement de L'INRA. France : pp38.
55. **JUDD W.S., CAMBELL C.S., KELLOGG E.A., STEVENS P., 2002**- Botanique systématique-une perspective phylogénétique. **Ed.** boeck. Espagne: pp 84-84.
56. **JURISIC-GRUBESIE R., VIKOVIE J., KREMER D., VLADIMIR-KNEEZEVIE S. 2005**- Spectrophotometric method for polyphenol analysis per validation and application on plantage 1 species .journal of Pharmaceutial and biochemical analysis. Newyork : pp 837-842.
57. **KAISMOUNE N., 2009**- *Listeria monocytogenes* et les produits alimentaires. Diplôme de POST-GRADUATION SPECIALISEE Filière Sciences Alimentaires et Nutrition., Constantine. pp 92.
58. **KALEMBA D., KUNICKA A., 2003**- Antibacterial and Antifungal properties of essential oils. Current Medicinal Chemistry10 - Poland: pp 813-829.
59. **KEVILLE K. ET GREEN M., 1995**- Aromatherapy: a complete guide to healing art, **Ed** 1: the crossing press: pp 120-140.
60. **KHAN N., MUKHAR H.2007**-Tea polyphenol for health promotion .life science, Alger: pp 519-533
61. **KLIMEZAK I., MALECKA M., SZALACHTA M., SWIGLO A.G. 2007**- Effect of storage on the content of polyphenols vitamin c and the antioxidant activity of orange juices .journal of food composition and analysis .20- Poland: pp 313-322.
62. **LAHLOU M., 2004**- Methods to study photochemistry and bioactivity of essential oils. Phytotherapy Research, 18, Maroc : pp 435-448.
63. **LAMAMRA M., 2009** - Contribution à l'étude de la composition chimique et de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Tinguarra sicula* (L.) Parl. Et de *Filipendula hexapetala* Gibb. Mémoire Magister Université Ferhat Abbas-Sétif : pp 75.
64. **LARDRY J.M et HABERKORN V., 2007**- Les Huiles Essentielles : principes d'utilisation ; Kinésithérapie, **Ed** la Revue 61- Paris : pp 18-23.
65. **LYDIE S., 2010**- La lutte biologique vers de nouveaux équilibres écologique. **Ed.** Quae, Paris: pp 44.

66. **MADHAVI D. L., DESHPANDE S. S., SALUNKHE D. K., 1996-** Food Antioxidants. Technological, Toxicological, and Health Perspectives. Marcel Dekker, Inc , New York : pp 65.
67. **MOHAMMEDI Z., 2006-** Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et des flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen. Thèse magistère, Université Abou Bakr Belkaïd, Tlemcen : pp78.
68. **MULTON J.L., 1982-** Conservation et stockage des grains et graines et produits dérivés: Céréales, oléagineux, aliments pour animaux. Lavoisier Technique & Documentation, Paris. Volume 1, Paris : pp 576.
69. **NARAYANA K .R., REDDY M.S., CHALUVADI M.R., 2001-** Bioflavonoids classification pharmacological biomedical effects and therapeutic potential .Indian journal of pharmacology, Paris .33: pp 2-16
70. **NAUCIEL C.et VILDE J.L., 2005-** Bactériologie médicale. Ed : Masson, Paris.21-248.
71. **OZENDA P., 2004-**flore et végétation du Sahara. Ed .Baranéoud, France : pp 88-89/247-248.
72. **NOEMIE L., 2010-** Lutte biologique aux ravageurs : applicabilité au Québec. Sherbrooke, Québec, Canada : pp 3.
73. **PDRINI F., LUCHERONI M ., 1996 -**le grand livre des huiles essentielles. Ed. de Vecchi, Paris: pp 212.
74. **PERRY N.B., ANDERSON R.E., BRENNAN N.J., 1999-** Essential oils from Dalmatian sage (*Salvia officinalis*): variation among individuals, plant parts, seasons and sites. J. Agric. Chem. Paris : pp 48-54.
75. **PIBIRI M. C., 2005-** Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles. Thèse de doctorat. École polytechnique fédérale de Lausanne : pp27 - 50.
76. **PINCEMAIL J ., DEGRUNE F.,VOUSSURE S ., MALHERBE C.,PAQUOT N ., DEFRAIGNE J.O ., 2007-** Effet d'une alimentation riche en fruits et légumes sur les taux plasmatiques en antioxydants et des marqueurs des dommages oxydatifs. nutrition clinique et métabolisme. France : pp 66-75.
77. **PRABUSEENIVASAN S., JAYAKUMAR M., ET IGNACIMUTHU S., 2006-** In vitro antibacterial activity of some plant essential oil., *bmc complement., Altern., med – india* : p 6-39.

77. **RADU O.L., ARMAND S. LENOUE F., DRIGUEZ H., IORDACHASCU D. 2006-** Evaluation de l'activité de transglycosylation de la cyclodextrine glycosyltransferase de bacilles circulants sur l'héspéridine en milieux de solvants organiques. *Romanian j.biophys* : pp1-8.
78. **RAMDANE F., 2009-** Analyse et Caractérisation de quelque métabolite secondaire de la plante *Nauplius gravéolens* de Tamanrasset. Diplôme Magister, Ouargla : pp144.
79. **REPOLLES C., MARTINEZ J., M. H., RAFOLS C., 2006-** Analyses of prominent flavonoid aglycones by high-performance liquid chromatography using a monolithic type column. *Journal of chromatography a*. 1131 – Barcelona: pp 51-57.
80. **RICHARD F, 1992-** Manuel des corps gras, Paris, Ed Lavoisier, Tec &Doc- Paris : pp 1228-1242.
81. **RICHTER G ; 1993-** Métabolisme des végétaux. Physiologie et biochimie. **Ed** Presses Polytechniques et universitaires romandes-Lausanne : pp 526.
82. **RIJKE E., OUT P., NESSIN W .M.A., ARIESE F., GOOIJER C., BRINKMAN UDO A .TH. 2006** - Analytical separation and detection methods for flavonoïdes .*journal of chromatography A*. 1112- Paris: pp 31-63.
83. **ROBERTS M. F., et WINK M., 1998-** Alkaloids: Biochemistry, Ecology and Medicinal Applications; **Ed:** PLENUM PRESS, Paris: pp 1- 6.
84. **SARNI MANCHADO P., CHENYNIER V.2006-** Les polyphénols en agroalimentaire. technique et documentation Lavoisier. Paris: pp 2-5
85. **SHEIBER A., ULLRICH W., CARLE C., 2000-** Characterization of polyphenols in mango puree concentrate by hplc with diode array and mass spectrometric detection. *innovative food science & Emerging technologies* ,1 - Germany : pp161-166.
86. **SHIGE HARU I., TOSHIO T., ET HIDEYO Y., 2001-** Antibacterial activity of essential oils and their major constituents against respiratory tract pathogens by gaseous contact; *journal of antimicrobial chemotherapy* 47- Paris: pp 565-573.
87. **SMALLFIELD B., 2001-** Introduction to growing herbs for essential oils, medicinal and culinary purposes. *Crop & Food Research*. Number 45- France: p4.
88. **STOBIECKI M., SHIRYEZ A., KERHOAS L., KACHLICKI P., MTH D.,EINHORN J .MULLER-ROBER B .2006.** Prolifiling of phénolic conjugattes in leaves of *Arabidopsis thaliana* using lc/ms. *methabolismics*, France: pp 197-219

89. **SUSSMAN M., 1997-** *Escherichia coli* mechanism of virulence. Cambridge University Press, Cambridge: pp 639.
90. **TEISSEIRE P.L., 1991-** Chimie des substances odorantes. Technique et documentation, Lavoisier, Paris : pp 298 -299.
91. **TEYSSOU R., HANCE P., et BUISSON Y., 1998-** Les infections humaines à *Bacillus*. *Bull. Soc. Fr. Microbiol.p. P.* Paris : pp 1- 13, 137-144.
92. **TORTORA G.J., FUNKE B. et CASE C.H., 2003-** Introduction à la microbiologie. **Ed** du renouveau pédagogique Inc., Saint Laurent: 1000 p.
93. **TSAO R., DENG Z .2004-** SEPARATION PROCEDURES FOR NATURALLY Occurring antioxidant phytochemicals .*journal of chromatography b* -Canada; pp 812 : p 85-99.
94. **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: pp 1-6.
95. **VERGÉ S., SOULET S., LACAN F., MAS T., ARNAUDINAUD V., NAY B., CASTAGNINO C., DELAUNAY J.-C., CHÈZE C., MONTI J.-P., DEFFIEUX G., MÉRILLON J.-M., NUHRICH A., VERCAUTEREN J., 1999-** Les polyphenols du vin : de la chimie pour la vie. *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux, Paris* : p75-90.
96. **VERNIN G., 1982-** Arômes alimentaires et développements récents. **Ed** APRIA – Paris: pp 307.
97. **VOUKOU D., KOKKINI S., BRESSIERE J.M., 1988-** *Origanum onites* (Lamiaceae) in Greece Distribution, volatile oil yield, and composition. *Economy botanic.* 42- Italie: pp 407-412.
98. **WALTON N.J., BROWN D.E., 1999-** Chemical from Plants: Perspectives on plant secondary products. **Ed**: WORLD SCIENTIFIC, Paris: pp 1-14.
99. **WERNER M., 2002-** Les Huiles Essentielles: réveil du corps et de l'esprit, **Ed** VIGOT, Collection Santé Bien- Etre, pp 60-95.
100. **YANEZ J.A., ANDREWS P.K., DAVIES N.M., 2007-** Methodes of analysis and separation of chiral flavonoïdes .*journal chromatography B.* 848 : pp 159-181.
101. **ZAİK L.L., 1988-** Spices and herbs-their antimicrobial activity and its determination _ *Journal of food safety:* vol.9; n°2- New York: pp 97-118.

ANNEXE



Annexe 1

1-Préparation de milieu de culture utilisé : Muller Hinton gélosé

1.1-Produits chimiques :

Pour 400ml

Extrait de levure 4g

Extrait de malate 1.6g

Glucose 1.6g

Agar 7g

1.2- Mode opératoire :

Dans un flacon de 400ml on mélange 1.6g d'extrait de malate et glucose et 4g d'extrait de levure puis on remplit avec l'eau distillée, il faut homogénéiser puis mesurer PH de ce milieu et on ajoute NaCl jusqu'à PH= 7.2. Puis on ajoute 7 g de poudre de Agar et mélanger le milieu et en fin on met le milieu dans un autoclave pour la stérilisation durant 2heure.