



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
République Algérienne Démocratique et Populaire  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي



Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة محمد البشير الإبراهيمي برج بوعرييرج  
Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi B.B.A.

كلية علوم الطبيعة والحياة وعلوم الأرض والكون

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de l'Univers  
قسم العلوم البيولوجية

Département des Sciences Biologiques

# Mémoire

En vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine Des Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biotechnologie et protection des végétaux

## Thème

**Contribution à l'étude de l'activité antibactérienne et  
antifongique de l'extrait méthanolique de la plante  
médicinale *Ecballium Elaterium***

Présenté par : M<sup>lle</sup>. GUENANCHA SAIDA  
M<sup>lle</sup>. TABABOUCHAT ZAHIA  
M<sup>lle</sup>. HADDOUCHE RIMA

Devant le jury :

**Président:** M<sup>me</sup> Soufane Sihem

MA (Univ Mohammed El Bachir El Ibrahimi BBA)

**Encadreur:** M<sup>r</sup> Meraouni Amar

MA (Univ Mohammed El Bachir El Ibrahimi BBA)

**Examineur:** M<sup>me</sup> Fatmi widad

MA (Univ Mohammed El Bachir El Ibrahimi BBA)

Année universitaire : 2015/2016



## Remerciement

*Avant tout, mes remerciements infinis sont adressés à  
« DIEU le Tout Puissant » de m'avoir donné le courage  
et la santé pour achever ce travail.*

*Au moment où s'achève ce travail, permettez-moi de remercier du  
fond du cœur, tous ceux et toutes celles qui, pendant cette période de thèse,  
m'ont dirigée, soutenue, aidée et encouragée.*

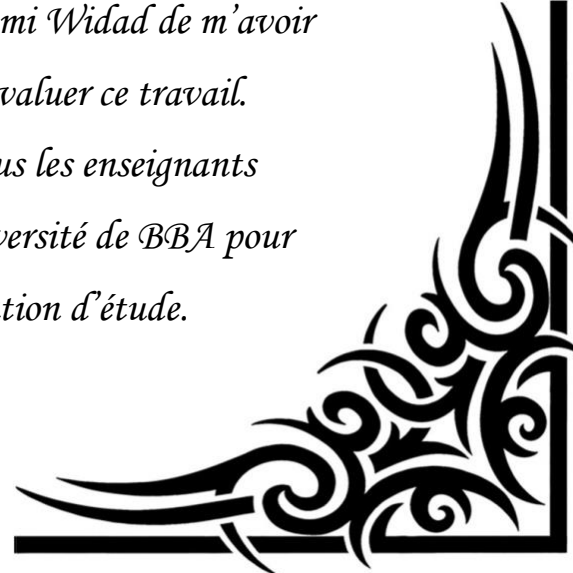

*Tout d'abord, je tiens particulièrement à remercier mon encadreur monsieur  
Meraouni Amar maitre-assistant à l'université de BBA qu'il trouve ici  
l'expression de ma profonde reconnaissance tant pour m'avoir accordé sa  
confiance que pour m'avoir guidé dans mon travail.*

*J'aimerais également remercier Monsieur Khalil et Fouad  
des ingénieurs de laboratoire de chimie pour leurs encouragements ont permis  
le bon déroulement et l'aboutissement de ce travail de thèse.*

*Je remercie vivement Madame belkasimi maitre assistante  
à l'université de BBA pour leur conseil très précieux et  
leur aide pendant de réaliser ce travail.*

*Mes remerciements vont aussi aux membres de jury  
M<sup>me</sup> Soufane Sihem et M<sup>me</sup> Fatmi Widad de m'avoir  
fait l'honneur d'accepter d'évaluer ce travail.*

*Enfin je veux dire merci à tous les enseignants  
du département de SNV L'université de BBA pour  
l'aide pendant ma formation d'étude.*





# *Dédicaces*

*Je remercie Dieu tout puissant qui me  
permet d'arriver à ce but.*

*Je dédie ce modeste travail à deux personnes  
les plus chers à mon cœur*

*A mes très chers parents qui ont sacrifié  
de leur existante pour bâtir la mienne qui par leur  
précieux conseils et contient ont sa me guider ver la voix  
de la réussite Fatiha et Laid*

*A mes grands-parents : Tayeb, Om-Elhana, Fatima, Mohemed .*

*A mes chers sœurs : Amel, Sabah, Aya, Fahima, Naima.*

*A mon cher frère : Youcef.*

*A tous mes amies : Sihem, Hanan ,hadjira, Assia, Barkahom,  
Saida, Nabila, Safia, Bassma, Soraya , Zahia , Rima.*

*A toute promotion biotechnologie  
et protection des végétaux 2016.*

*A tous ceux que j'aime et que je respecte.*



*Guenancha Saida*



# *Dédicaces*

*Je remercie Dieu tout puissant qui me  
permet d'arriver à ce but.*

*Je dédie ce modeste travail à deux personnes  
les plus chers à mon cœur*

*A mes très chers parents qui ont sacrifié de  
leur existante pour bâtir la mienne qui par leur précieux  
conseils et contient ont sa me guider ver la voix de la réussite.*

*A mes chers frères: Radaouane, Mohammed  
Salim, Fatah, Mohammed Cherif.*

*A ma chère sœur : Amel et sa fille Asma.*

*A tous mes amies : Ahlem, Nassima  
Sara, Rima, Saida.*

*A mon mari.*

*A toute promotion biotechnologie  
et protection de végétaux2016.*

*A tous ceux que j'aime et que je respecte.*



*Tababouchet Zahia*



# *Dédicaces*

*Je remercie Dieu tout puissant qui me  
permet d'arriver à ce but.*

*Je dédie ce modeste travail à deux personnes  
les plus chers à mon cœur*

*A mes très chers parents qui ont sacrifié de  
leur existante pour bâtir la mienne qui par  
leur précieux conseils et contient ont  
sa me guider ver la voix de la réussite.*

*A mes chers frères: Ali, Ismail, Adel.*

*A ma chère sœur : Samia, Razika, Fadila.*

*A tous mes amies Saida, Zahia, Om saad ,Sara, Rzkia, Khawla.*

*A toute promotion biotechnologie  
et protection des végétaux 2016.*

*A tous ceux que j'aime et que je respecte.*



*Haddouche Rima*

# Sommaire

Remerciements	
Dédicaces	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Liste des abréviations	
Résumé	
Introduction.....	01

## Partie bibliographique

### Chapitre I : Généralités sur la Plante étudiée

I.1. Présentation d' <i>Ecballium elaterium</i> .....	02
I.1.1. Généralités sur les Cucurbitacées.....	02
I.1.2. Le genre <i>Ecballium</i> .....	02
I.1.3. Etymologie.....	02
I.1.4. Position systématique.....	02
I.2. Historique.....	03
I.3. Description botanique.....	03
I.3.1. Les fleurs.....	04
I.3.2. Les feuilles.....	04
I.3.3. La tige.....	05
I.3.4. Les fruits.....	05
I.4. Culture.....	06
I.5. Identification et composition.....	06
I.5.1. Composition chimique.....	06
I.5.2. Identification.....	07
I.5.2.1. Identification botanique.....	07
I.5.2.2. Identification chimique.....	08
I.6. Propriétés pharmacologiques.....	09
I.7. Usages et emplois.....	10
I.8. Toxicité de la plante.....	11

## **Partie Expérimentale**

### **Chapitre II : Matériel et méthodes**

II.1. Matériel.....	13
II.1.1. Matériel végétal.....	13
II.1.1.1. Récolte de la plante.....	13
II.2. Méthodes.....	14
II.2.1. Protocole d'extraction méthanolique.....	14
II.2.1.1. Préparation de l'extrait brut.....	16
II.2.2. Les souches bactériennes testées.....	17
II.2.3. Tests de l'activité antibactérienne.....	17
II.2.4. Evaluation de l'activité antibactérienne par la méthode de diffusion sur disque (Aromatogramme).....	17
II.2.4.1. Préparation de milieux culture NA.....	18
II.2.4.2. Stérilisation du matériel.....	18
II.2.4.3. Préparation des dilutions d'extrait d'E.E.....	18
II.2.4.4. Préparation de l'inoculum.....	19
II.2.4.5. Ensemencement et dépôt des disques.....	19
II.2.4.6. Lecture des antibiogrammes.....	19
II.2.4.7. Détermination des CMI et CMB.....	19
II.2.5. Activité antifongique.....	20
II.2.5.1. Préparation du milieu de culture de PDA.....	20
II.2.5.2. Pré culture des souches fongiques.....	20
II.2.5.3. Préparation de Tween.....	20
II.2.5.4. Préparation de la solution mère de l'extrait.....	21
II.2.5.5. Dilution de l'extrait aqueux.....	21
II.2.5.6. Préparation de mélange (PDA+ extrait) .....	21
II.2.5.7. Evaluation de l'activité antifongique par la méthode de contact direct....	22

### **Chapitre III : Résultats et Discussions**

III. 1. Rendements des extractions méthanolique.....	24
III. 2. L'activité antibactérienne.....	24
III.2.1. Détermination des CMI et CMB.....	26
III.3. L'activité antifongique.....	26
III.3.1. La cinétique de croissance mycélienne.....	26
III.3.2. La croissance mycélienne.....	30
III.3.3. Détermination de pourcentage d'inhibition (PI).....	31

Conclusion.....	<b>33</b>
Références bibliographiques	
Annexes	



## Liste des Tableaux :

<b>Tableau I :</b> Classification taxonomique d' <i>Ecballium elaterium</i> .....	<b>02</b>
<b>Tableau II :</b> Lieu de récolte de la plantes et les caractéristiques géographiques et bioclimatiques de la zone de récoltes.....	<b>13</b>
<b>Tableau III :</b> Liste de souches bactériennes testées.....	<b>17</b>
<b>Tableau IV :</b> Diamètres en (mm) des zones d'inhibition de l'extrait d'E.E sur les Souches bactériennes.....	<b>24</b>
<b>Tableau V:</b> CMI et CMB des souches sensibles à l'extrait d'E.E.....	<b>26</b>
<b>Tableau VI :</b> La croissance mycélienne (mm)de la croissance mycélienne (mm)de <i>Phytophthora infestans, Fusarium solanivar, Fusarium oxysporum, Solani</i> .....	<b>27</b>

## Liste des figures :

<b>Figure 01</b> : Photo d' <i>Ecballium elaterium</i> .....	<b>04</b>
<b>Figure 02</b> : Les fleurs de <i>l'Ecballium elaterium</i> .....	<b>04</b>
<b>Figure 03</b> : Les feuilles de <i>l'Ecballium elaterium</i> .....	<b>05</b>
<b>Figure 04</b> : La tige de <i>l'Ecballium elaterium</i> .....	<b>05</b>
<b>Figure 05</b> : Les fruits de <i>l'Ecballium elaterium</i> .....	<b>05</b>
<b>Figure 06</b> : Le squelette Cucurbitane.....	<b>07</b>
<b>Figure 07</b> : <i>Ecballium elaterium</i> prise d'El Anasser janvier 2016 à B.B.A.....	<b>13</b>
<b>Figure 08</b> : Carte de la région d'étude, El anasser B.B.A.....	<b>14</b>
<b>Figure 09</b> : Protocole de l'extraction méthanolique.....	<b>15</b>
<b>Figure 10</b> : Préparation d'extrait brut d' <i>ecballium elateruim</i> .....	<b>16</b>
<b>Figure 11</b> : Présentation de la méthode de diffusion sur disque.....	<b>18</b>
<b>Figure 12</b> : Les étapes de dilution de l'extrait.....	<b>21</b>
<b>Figure 13</b> : Protocole de l'essai de l'activité antifongique d'Eq d' EE.....	<b>23</b>
<b>Figure 14</b> : Taux d'inhibition de l'extrait sur les souches bactérienne.....	<b>25</b>
<b>Figure 15</b> : Activité antimicrobienne de l'extrait d'EE sur les souches sensibles.....	<b>25</b>
<b>Figure 16</b> : Activité antibactérienne de l'extrait d'EE sur les souches résistantes.....	<b>26</b>
<b>Figure 17</b> : Le devloppement de la croissance mycélienne sous l'effet d'extrait d'E.E en fonction de temps d'incubation.....	<b>29</b>
<b>Figure 18</b> : La croissance mycélienne des quatre souches fongiques sous l'effet des concentrations de l'extrait d' <i>Ecballium Elaterium</i> .....	<b>30</b>
<b>Figure 19</b> : Pourcentage d'inhibition d'extrait d'E.E.....	<b>31</b>

## Liste des abréviations :

**µl** : Microlitre.

**B.B.A** : Bordj Bou Arreridj.

**CCM** : Chromatographie sur couche mince.

**CMB** : La concentration minimale bactéricide.

**CMI** : La concentration minimale inhibitrice.

**DMSO** : Diméthyle sulfoxyde.

**DMT** : diamètre moyenne de témoin

**E.coli** : *Escherichia coli*.

**EE** : *Ecballium elaterium*.

**Eq** : Extrait aqueux.

**h** : Heure.

**Min** : Minute.

**mm**: Millimètre.

**NA** : Nutriment d'agar.

**OMS** : Organisation Mondiale de la Santé.

**PDA** : Potato Dextrose Agar.

**PI** : Pourcentage d'inhibition.

**SM** : Solution mère.

**SNV** : Science de la vie et de la nature.

**ST** : Science de la technologie.

## Résumé

Le présent travail a pour objectif l'évaluation de l'effet antibactérien et antifongique d'extrait de la partie aérienne d'*Ecballium elaterium*

L'extraction est effectuée par solvant méthanolique de la partie aérienne de l'*Ecballium elaterium* a fourni un rendement 6.08%. Le teste est réalisé par l'utilisation des concentrations dilués au demi à partir d'une solution mère de concentration 200mg/ml, avec des essais répétés deux à trois fois.

L'activité antibactérienne est réalisée sur 4 souches bactéries testées (*E coli*, *Bacillus*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella*).par la méthode de dépôt sur disque.

L'étude *in vitro* de l'effet de l'extrait de la plante médicinale *Ecballium elaterium*, sur la croissance des souches fongiques (*Phytophthora infestans*, *Fusarium solanivar*, *Fusarium oxysporum*, *Solani*), se fait par la méthode de contact direct.

Les résultats obtenus montrent que l'extrait d'*Ecballium elaterium* a un effet significatif sur les souches bactériennes *Bacillus et Salmonella*, et sur la croissance mycélienne des souches fongiques à des concentrations élevées.

**Mots Clés :** *Ecballium elaterium*, Extrait méthanolique, Effet antimicrobienne, effet antifongique, pourcentage d'inhibition.

# INTRODUCTION

# Introduction

---

Les plantes ont été employées depuis les débuts de l'humanité et sont toujours employées dans le monde entier pour la préservation de la santé et le traitement des maladies. Les plantes ainsi que les sources naturelles forment la base de la médecine moderne d'aujourd'hui, 25% des médicaments prescrits sont d'origine végétale. On estime que le marché mondial annuel pour ces produits a approché 60 milliards de dollars. Les plantes sont employées comme thérapie complémentaire aux médicaments. Cependant, dans beaucoup de sociétés en développement, la médecine traditionnelle est le seul système des soins disponible et abordable (Deghima A. 2014).

Selon l'Organisation Mondiale de la Santé(OMS), plus de 80% des populations africaines ont recours à la médecine et à la pharmacopée traditionnelle pour faire face aux problèmes de santé, le continent africain regorge de plantes médicinales très diversifiées.

En effet, sur les 300.000 espèces végétales recensées sur la planète plus de 200.000 espèces vivent dans les pays tropicaux d'Afrique et ont des vertus médicinales, D'après ces statistiques il s'avère que l'Afrique a non seulement une opportunité d'utilisation des plantes dans le cadre de la médecine traditionnelle mais en plus elle offre un espace de développement et de recherche médicale si les moyens s'offrent aux chercheurs intéressés.

La plante choisie dans notre travail est *Ecballium elaterium* de la famille Cucurbitaceae, cette espèce est très utilisée en médecine traditionnelle : les feuilles sont utilisées sous forme de décoction pour soigner le diabète, diarrhée et rhumatisme.

L'objectif de notre travail est l'évaluation de l'effet, d'extrait d'*Ecballium elaterium* de la région de B.B.A sur quatre souches bactériennes (*Escherichia coli*, *Staphylococcus*, *Bacillus*, *Salmonella*), et antifongique sur les champignons (*Phytophthora infestans*, *Fusarium oxysporum*, *solani* et *Fusarium solanivar*).

Notre travail est réparti en trois chapitre, réserve une recherche bibliographique où nous apportons dans le premier chapitre la plante étudiée : *Ecballium elaterium*, le deuxième chapitre illustre le matériel et les méthodes mis en œuvre pour l'extraction et l'évaluation des activités antibactérienne et antifongique.

Le troisième chapitre consacre à la discussion des résultats obtenus et on conclut par une conclusion générale.

***PARTIE***

***BIBLIOGRAPHIQUE***

*CHAPITRE I*  
*GÉNÉRALITÉS SUR LA*  
*PLANTE ÉTUDIÉE*



## I.1. Présentation d'*Ecballium elaterium*

### I.1.1. Généralités sur les Cucurbitacées

Les cucurbitacées sont des plantes herbacées ou sous-ligneuse et grimpantes largement distribuées dans les régions tropicales et subtropicales, quelques espèces se rencontrent dans les régions tempérées. Elle est constituée de 118 genres et de 825 espèces (Deghima. 2014).

Ces végétaux constituent une famille très importante pour leur fruits et leur graines comestibles, appartenant à des genres comme Cucurbita (le potiron, la courge et la courgette), Cucumis (le melon, le concombre, le cornichon) et Citrullus (la pastèque). Les fruits séchés de La genaria (la calebasse) sont utilisés comme des poteries et les fruits secs de luffa constituent l'éponge végétale. Certaines comme Mornordica, ont des propriétés médicinales (Deghima .2014).

### I.1. 2. Le genre *Ecballium*

Ce sont des plantes monoïques ou dioïques, annuelles à vivaces. Ce genre n'a pas beaucoup de valeur horticole. C'est un genre d'une seule espèce, *Ecballium elaterium*, avec une sous-espèce monoïque et une sous-espèce dioïque. On les trouve dans les régions Méditerranéennes de l'Afrique du Nord et en Asie du Sud-ouest (Deghima., 2014).

### I.1.3. Etymologie :

Différentes nominations ont été attribuée à cette plante : parmi lesquelles on peut citer ; le cornichon d'âne, le concombre sauvage, le concombre purgatif, la momordique élastique, la momordique à ressort, la momordique cornichon d'âne, Concombre cracheur Momordique Elatère, giclet, قشاء الحمير .

### I.1.4. Position systématique

La systématique de cette espèce est présentée dans le tableau I

**Tableau I** : Classification taxonomique d'*Ecballium elaterium* (Quézel et Santa, 1963)

<b>Règne</b>	Plantae
<b>Embranchement</b>	Spermaphytes
<b>Classe</b>	Eudicots
<b>Ordre</b>	Cucurbitales
<b>Famille</b>	Cucurbitaceae
<b>Genre</b>	<i>Ecballium</i>
<b>Espèce</b>	<i>Ecballium elaterium</i> (L.)

**I.2. Historique**

Le premier cucurbitacine a été isolé sous forme de substance cristalline en 1831. La substance isolée a été nommée  $\alpha$ -elaterine. Les tentatives pour déterminer sa structure chimique ont été entreprises dès le début du 20<sup>ème</sup> siècle, mais sans aucun succès jusqu'aux années 60 du même siècle. L'élucidation de la structure chimique était la percée qui a déclenché l'identification des cucurbitacines dans la famille des cucurbitacées et dans d'autres familles de plantes (Gray et al., 2006).

*Ecballium Elaterium* est une plante vivace, très commune dans les lieux incultes, sur le bord des chemins, dans les provinces méridionales de la France.

Cette Cucurbitacée, distinguée par les plus anciens naturalistes, Théophraste, Pline et Discorde, grâce à la singulière déhiscence de ses fruits et aux propriétés drastiques de leur suc (Elaterium), fut par les rénovateurs de la Botanique au XVI<sup>e</sup> siècle dénommée tour à tour Cucumis asininus, C. silvestris, C. agreslis .

**I.3. Description botanique**

C'est une plante vivace un peu glauque, fétide et nauséabonde, hérissée de poils rudes qui croit dans le Sud-Ouest de l'Europe et en Afrique du Nord en terrains caillouteux, dans les décombres et sur des talus. La Momordique est un végétal qui demeure proche du sol par ses tiges épaisses, succulentes, mais dépourvus de vrilles. Ses feuilles assez charnues, triangulaires et cordiformes, sont sinuées, dentées et blanchâtres au-dessous (Boullard, 2001).

De Mai à Septembre, les fleurs jaunâtres, veinées, en court entonnoir à marge lobée, sont à l'origine d'un fruit curieux par sa biologie (se distinguant bien du Cornichon qu'il mime). En effet, à maturité, sous la pression de son contenu, il se détache assez soudainement de son pédoncule et projette alors, par l'orifice ainsi créé, ses graines tenues à plusieurs décimètres, méritant bien son nom latin de Genre (du grec Ecballô: je lance au dehors) (Boullard, 2001).

Les fruits sont de formes oblongues de 4 à 5 cm de long, verdâtres et hérissés de poils rudes (Patrice, 2008),(figure 01).



**Figure 01:** *Ecballium elaterium* (Hammiche, 2003).

### I.3.1. Les fleurs

Corolle en cloche ou en roue incéré au sommet du tube calicinal, à 5 lobes plus ou moins soudés entre eux et avec le calice.

Calice à tube soudé à l'ovaire à 5 lobes, sépales linéaires-lancéolés (figure 02 )



**Figure 02 :** Les fleurs de *Ecballium elaterium*.(Hammiche ., 2003).

### I.3.2. Les feuilles

Sont épaisses, triangulaires en cœur, obtuses, sinuées dentées, blanchâtres en dessous. Leurs pétiole est épais et charnu comme les tiges (figure03).



**Figure 03 :** Les feuilles de *l'Ecballium elaterium*. (Hammiche., 2003).

### **I.3.3. La tige**

Tiges de 20-60 cm, épaisses, succulentes, couchées, sans vrilles.(figure 04).



**Figure 04 :** La tige de *l'Ecballium elaterium*. (Hammiche., 2003).

### **I.3.4. Les fruits**

Les fruits d'abord dressés lorsqu'ils ne sont pas mûrs, deviennent penchés, gros, penché, oblong, rude, hérissé, verdâtre, s'ouvrant avec élasticité et lançant ses graines isolées par sa base en se détachant du pédoncule (figure 05).



**Figure 05 :** Les fruits de *l'Ecballium elaterium*. (Patrice., 2008).

## **I.4. Culture**

La plante *Ecballium elaterium* est une plante sauvage, et qui se trouve généralement dans les hauts plateaux, et dans les montagnes ; est une espèce commune des lieux incultes, champs, bords des chemins, décombres du pourtour méditerranéen.

Son existence annuelle et sans manque pour les quatre saisons, lui attribue une chance pour l'être humain de l'exploiter sans aucun inconvénient.

*Ecballium elaterium* est très toxique. Il est parfois cultivé par curiosité pour son curieux système de dispersion des graines : à maturité le mucilage interne du fruit a une telle pression osmotique qu'une zone de rupture se produit au niveau de l'attache du pédoncule floral ce qui entraîne une projection explosive des graines (noires et luisantes) à plusieurs mètres de la plante (Deghima., 2014).

## **I.5. Identification et composition**

### **I.5.1. Composition chimique**

Plante amère qui contient du mucilage, des triterpènes tétracycliques: cucurbitacines et élatérines, et des élarcines, plusieurs glucosides dont l'élatéridine, l'élatéricine, la phytostérine...

Les Cucurbitacines sont des triterpènes tétracycliques avec un squelette cucurbitane.

Ils diffèrent de la plupart des autres triterpènes tétracycliques car ils sont fortement insaturés et contiennent de nombreux céto-, hydroxy- et acetoxy-groupes. (Gray *et al.*, 2006).

La structure de base des triterpènes est formée par six unités d'isoprène. Les Cucurbitacines sont des dérivés de l'hydrocarbure triterpène cucurbitane dont le nom est 19 (10–9 $\beta$ )-abeo-5 $\alpha$ -lanostane; qui une fois modifié par des substituants contenant l'oxygène et les doubles liaisons produit les divers cucurbitacines.

Les Cucurbitacines sont les triterpénoïdes les plus oxygénés avec un groupe diméthyle à C4 et trois groupes méthyles à C9, C13, et C14, respectivement. Certains d'entre eux sont les substances les plus amères connues. À la différence des stéroïdes communs, ils ne sont pas méthylés en C-10. Les cucurbitacines sont généralement isolés en tant que glycosides. (Gray *et al.*, 2006).

Les plantes de la famille des cucurbitacées, sont connues pour leur production de Triterpénoïdes de type Cucurbitane. Certains de ces triterpénoïdes présentent des activités cytotoxiques, anti-tumorale, hépatoprotectrice et anti-inflammatoire. (Agil *et al.*, 1995). Le concombre d'âne a été la première plante de la famille dans laquelle une cucurbitacine fut isolé. A cette époque, le composé fut nommé élatérine ( $\alpha$  – elaterine) identifié plus tard comme étant la cucurbitacine E. (Gary *et al.*, 2006). Les cucurbitacines sont des triterpénoïdes principalement

tétracycliques, très oxygénés au goût amer, ces substances dérivent du squelette cucurbitane. (Miro, 1995).

Les cucurbitacines E, B, D et I peuvent être retrouvées dans tous les tissus végétaux de la plante (racines, tiges, feuilles, fleurs et fruits). Des quantités appréciables sont retrouvées dans les fruits, mais seulement des traces dans les autres tissus. Deux cucurbitacines glycosidiques ont été isolées et caractérisées à partir du jus de fruit de la plante, il s'agit des cucurbitacines B et D avec le glucose comme partie glycosidique, de plus, l'analyse du contenu en cucurbitacine B dans ce même extrait par HPLC a détecté jusqu'à 24 800 mg / kg de matière sèche. (Gry et *al.*, 2006) Le jus de fruit d'*E. elaterium* a un pH légèrement acide ( $5,62 \pm 0,21$ ) et l'elaterine représente approximativement  $2,1 \pm 0,1\%$  (w/w) du jus de fruits frais, il est exempt de fibres et contient principalement des glucides réducteurs et des minéraux. (Gary et *al.*, 2006).

En plus des triterpénoïdes, *Ecballium elaterium* produit un certain nombre d'autres métabolites secondaires, représentés principalement par des caroténoïdes (Carotène) et des tannins (précurseurs de tannins phénoliques) mais à des concentrations moindres.

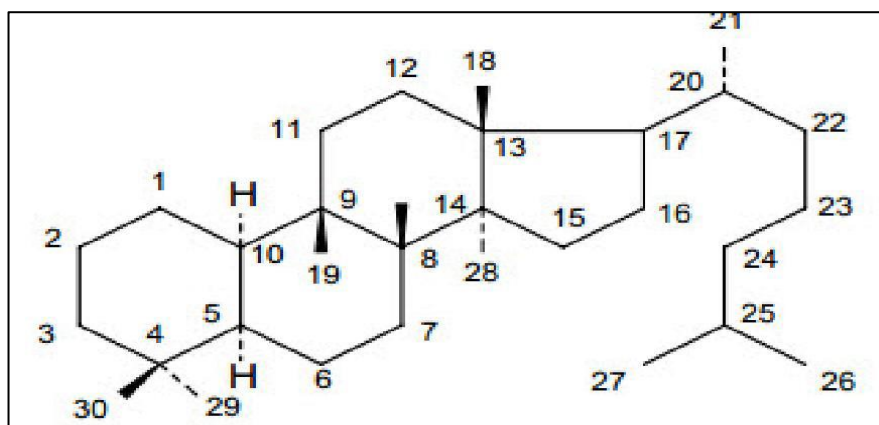


Figure 06 : Le squelette Cucurbitane (Gry et *al.*, 2006).

## I.5.2. Identification

Pour l'identification à l'œil nu ; cette plante peut être identifiée par son aspect botanique cité avant.

### I.5.2.1. Identification botanique

- **Fruit** : Le fruit est très facile à identifier par sa description. Il est verdâtre, Ovoïde, très velu, de 3 à 5 cm de longueur pour 2 cm de diamètre, de consistance ferme sans être molle. Grossièrement, il ressemble à une grosse gélule aux deux extrémités effilées ou à un petit kiwi. (Hammiche et *al.*, 2013).

### I.5.2.2. Identification chimique

L'identification chimique des principes actifs de la plante n'est pas toujours Possible.

Si le laboratoire peut procéder à la recherche de ces substances, L'échantillon végétal est réduit en poudre et soumis à l'extraction des composés à rechercher.

Si l'on ne possède pas d'échantillon de plante, on effectuera les recherches sur les vomissements ou les têtes de lavage gastrique qui seront des milieux très précieux car pouvant renfermer des débris de la plante responsable de l'intoxication.

Les modalités d'extraction (phases, solvants, pH ...) prendront en compte la nature des parties végétales à traiter et leurs teneurs en principes actifs, de même que des propriétés physico-chimiques de ces derniers (solubilité, polarité...).

Ainsi, les procédés d'extraction et de purification seront adaptés chaque catégorie de substances sachant que celles-ci sont très diverses : alcaloïdes, glycosides, coumarines, lectines, terpènes, flavonoïdes, huiles essentielles ...

On peut rechercher les toxiques dans le sang, les urines, le liquide de lavage gastrique et les vomissements ; l'extraction sera appropriée à chaque type de matrice.

L'analyse dépendra des possibilités du laboratoire, de ses moyens (équipements, réactifs, substances de référence) et de la qualité de son personnel.

Nous avons toujours recommandé d'opérer par paliers. C'est la raison pour laquelle, même si certaines démarches peuvent paraître obsolètes, on préconise de réaliser quelques réactions générales simples, d'orientation (réaction colorée, réaction de fluorescence ...).

L'étape suivante est une recherche par CCM ou mieux par HPTLC, très informative. Accessible, elle permet l'identification voire une semi-quantification. En cas d'équipement adéquat, le laboratoire peut procéder à une détermination qualitative et quantitative fine, notamment par des techniques chromatographiques. A titre indicatif, quelques références relatives à l'analyse des principales classes de toxiques végétaux sont données, dans les monographies. (Hammiche et *al.*, 2013).

## I.6 .Propriétés pharmacologiques

Le suc du fruit contient un glucoside à l'action purgative et drastique très violente. Il est aussi antirhumatismal, diurétique, laxatif, émétique et abortif. La racine contient un principe analgésique. Il a été signalé comme étant susceptible de diminuer la bilirubinémie chez les animaux présentant un ictère. Les cucurbitacines présentes dans la plante, toxiques mais à propriétés antitumorales.

L'effet immunomodulateur de la cucurbitacine, extrait d'*Ecballium elaterium*, a été testé sur des lymphocytes périphériques humains. Ces lymphocytes ont été co-cultivés avec des cellules cancéreuses et une cytotoxicité intéressante médiée par les lymphocytes a été observée. (Blaskovich et *al.*, 2003).

Des données suggèrent que l'extrait d'*Ecballium elaterium* peut avoir le potentiel d'être utilisé comme agent anti-inflammatoire pour le traitement de la rhinosinusite. (Kloutsos, G., 2001). Le concombre d'âne est depuis longtemps utilisé comme remède à de nombreux maux. Les utilisations de cette plante sont relativement anciennes, et la méthode utilisée pour sa préparation aujourd'hui est la même que celle décrite à l'époque grecque (mélange de poudre des fruits et de lait appliqué dans les narines). Les peuples de la Méditerranée orientale, actuellement la Turquie et la Grèce, sont assez familiers avec le concombre sauvage. Carolus Linnaeus a donné à la plante son nom scientifique moderne, *Ecballium elaterium* ; elaterium est un nom du médicament tiré de la sève (appelé aussi elaterine), et ekbaliios est un nom grec et signifie l'avortement. Ainsi, le nom donné par linné est «drogue de l'avortement ».

Le traité d'Hippocrate sur les problèmes des femmes a affirmé que le concombre sauvage était «un puissant abortif pour l'utérus" et l'auteur a ajouté que c'était la pilule abortive de choix.

Des Essais récents sur les animaux appuient l'idée que le concombre sauvage a un effet contraceptif. Lorsque des souris reçoivent des doses quotidiennes de 20 à 100 mg/Kg d'extraits de la plante entière ou des fleurs seules, on constate une absence d'ovulation chez elles.( Yesilada et al 1988).

Dans la médecine traditionnelle arabe et Hindoue, *Ecballium* est utilisée comme laxatif, et le jus des fruits pour le traitement de l'otite et comme remède pour nettoyer le cerveau des substances toxiques.

En médecine populaire géorgienne, la plante est utilisée comme remède à la fièvre paludéenne.

Dans la médecine traditionnelle turque, la Momordique est utilisée dans le traitement de la jaunisse ainsi que des maux de tête.



*Ecballium elaterium* en poudre (précipité à partir du jus de fruit) mélangé avec du lait est utilisé comme application nasale pour soigner l'ictère et guérir les maux de tête persistants. Elle est également utilisée dans le traitement de la sinusite. (Miro et al., 1995).

*E. elaterium* est utilisé pour traiter la constipation, les rhumatismes et dans le cas de certaines intoxications de par son effet émétique. (Font. Q, (1980). En raison de ses propriétés toxiques, *E. elaterium* n'est plus utilisé en médecine. Le jus de fruit de la plante a une longue histoire d'utilisation comme purgatif « drastique », et des cas d'œdème de la luette et du voile du palais dû à l'administration nasale de jus de fruits ont été rapportés. (Gary et al., 2006).

*E. elaterium* est fortement purgatif et le contenu de son fruit se révèle violemment diurétique.

Le fruit vert renferme un glucoside spécifique qui se compose de glucose et d'elaterine, c'est ce composé néoformé qui confère à l'*Ecballium* son pouvoir purgatif très marqué, irritant pour les muqueuses, ce qui explique ses actions ; gastro-intestinale (face à une atonie de l'intestin par exemple). (Boullard, 2001) Plusieurs études ont été menées pour prouver et mettre en évidence les différentes activités biologiques d'*Ecballium elaterium*.

## **I.7. Usages et emplois**

*E. elaterium* est une plante médicinale, dont le jus de fruit est utilisé pour le traitement de l'ictère dans la médecine populaire. Connue et prescrite dans l'Antiquité, pour traiter les sinusites, en préparation pour un usage externe aux propriétés cicatrisantes pour traiter les maladies de peau (gale) et les tumeurs bénignes. (Eray, et al., 1999).

On l'utilisait aussi pour les troubles de la vue, l'asthme, contre les morsures de scorpions...

Il est utilisé en interne dans le traitement de l'œdème associés aux plaintes du rein, de problèmes cardiaques (hypertension artérielle), la paralysie et le zona. Extérieurement, il a été utilisé sous forme de compresses pour traiter la sinusite, douleurs articulaires et névralgies.

L'extrait aqueux d'*Ecballium elaterium* est appliqué par voie topique pour le traitement de la rhinosinusite. En application directe comme antihémorroïdaire. A Casablanca, le fruit pilé est introduit en tampon dans le vagin comme abortif, les femmes mangent aussi la pulpe dans le même but.

La plante est connue comme herbe officinale d'une longue tradition et d'une grande variété d'utilisations en bassin méditerranéen. Elle est employée souvent dans l'hydropisie (œdème), particulièrement l'œdème pulmonaire et aussi en tant que révulsif dans les affections cérébrales, et partout où lorsque un effet hydragogue est indiqué (Felter et Lloyd, 2008).

La racine de *l'ecballium* est fortement purgative. Le contenu de son fruit se révèle violemment diurétique. Il renferme un glucoside spécifique qui se dédouble en glucose et en élaterine. C'est ce composé néoformé qui confère à l'ecballium son pouvoir purgatif très accusé, irritant même pour les muqueuses, et à cet égard dangereux expliquant ainsi ses actions.

- Hépatobiliaire (cirrhose hépatique);
- Gastro-intestinale (face à une atonie de l'intestin par exemple);
- Et abortive.

Les effets bénéfiques du jus frais ont été rapportés comprenant l'analgésique, l'antipyrétique et l'anti-inflammatoire (Agil *et al.*, 1995 ; Khatib *et al.*, 1993). Le jus brut frais est employé fréquemment dans le traitement de la sinusite (Kloutsos *et al.*, 2001) et de l'ictère par des aspirations nasales (Eray *et al.*, 1999).

Un grand nombre d'activités biologiques de cette espèce ont été attribués aux cucurbitacines et à leurs dérivés glycosylés tels que l'activité antiproliférative sur diverses variétés de cellules cancéreuses (Blaskovich *et al.*, 2003 ; Sun *et al.*, 2005).

En homéopathie, cette espèce est utilisée contre la diarrhée ou le choléra infantile, mais ses plus intéressantes potentialités relèvent peut être de son comportement antiviral (Boullard, 2001). L'élaterine à raison de 2 à 3 gouttes introduites dans les cavités nasales entraîne un écoulement jaunâtre important chez les ictériques.

## **I.8. Toxicité de la plante**

A des doses excessives, le Concombre d'âne provoque de graves troubles digestifs (gastroentérites) : anorexie, vomissements, coliques sévères, diarrhée avec selles aqueuses, néphrite interstitielle. On note également une augmentation de la diurèse, et plus rarement une paralysie évoluant vers le coma et la mort. Le jus entraîne convulsions, paralysie nerveuse, chute de tension. Au toucher, il provoque également des inflammations graves sur la peau, ( Kocak., et al2006).

Toute la plante est toxique par ses cucurbitacines et leurs glycosides. Seul le suc, qui existe en quantité importante - 2 à 3 ml- dans le fruit, est utilisé.

Les feuilles, les tiges et les racines renferment des cucurbitacines (B, D, E, G, H, I, L, R). Le fruit semble être l'organe le plus riche en cucurbitacines.

L'analyse du jus du fruit frais a montré un taux de cucurbitacine B supérieur à 24 800 mg/kg.

La plante renferme, également, des stérols dont le cycloeucalénol. La présence de poils rudes, particulièrement irritants, rend la plante peu accessible et dissuade l'homme et les animaux de s'en approcher. Les accidents découlent de son mode d'administration particulier.

L'instillation nasale, supposée venir à bout des ictères donne lieu à de fréquents accidents qui sont régulièrement rapportés par les services de médecine d'urgence.

Le Centre anti-poisons d'Alger rapporte régulièrement dans ses bilans 1 à 2 cas par an. Un cas de kératite oculaire est rapporté après une projection accidentelle de suc.

Cette espèce méditerranéenne n'étant pas disponible partout en Europe, les milieux de l'immigration utilisent : le fruit dessèche qui est réhydrate avant utilisation.

Cette plante n'est pas consommable et dispose d'un arsenal chimique très efficace pour se défendre. En effet l'elaterine (suc) de ses fruits est irritant et très amère. Il contient également plusieurs substances toxiques dont l'élatérium, un purgatif très violent et des cucurbitacines particulièrement dangereuses. (Hammiche et *al.*, 2013).

***PARTIE***

***EXPÉRIMENTALE***

# *CHAPITRE II*

*CHAPITRE II*

## *MATÉRIEL ET MÉTHODES*

*MATÉRIEL ET MÉTHODES*

## II.1. Matériel

### II.1.1. Matériel végétal

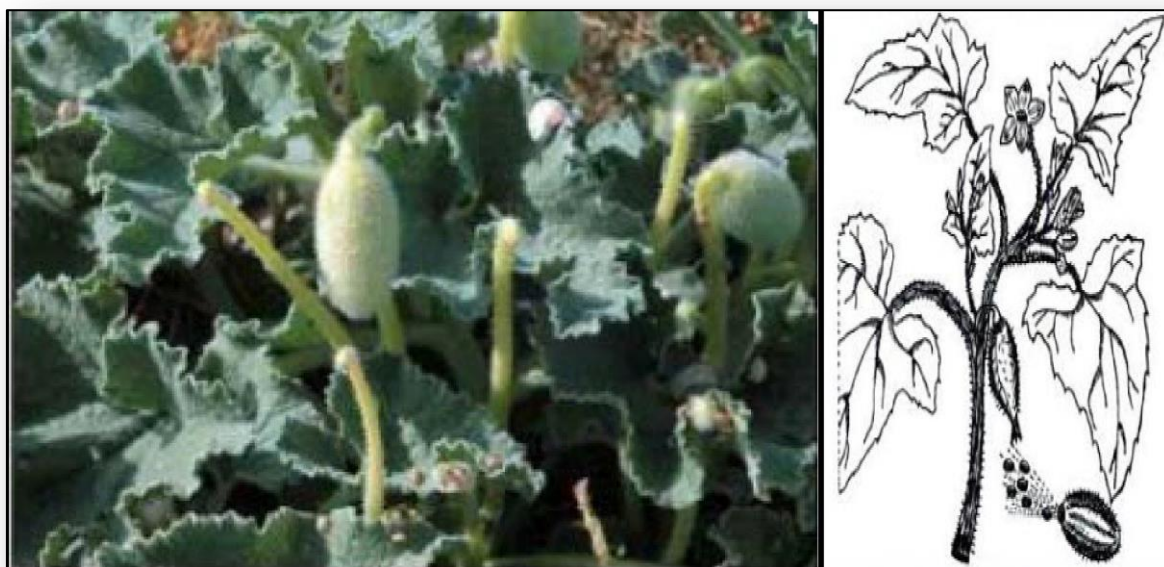
#### II.1.1.1. Récolte et préparation de la plante

Le matériel végétal est constitué de la partie aérienne d'*Ecballium elaterium* récoltée de El anasser à 6km au sud-est de la wilaya de Bordj Bou Arreridj (figure08).

La plante est nettoyée et séchée à l'abri de la lumière, de l'humidité et à une température ambiante pendant 15 jours, et réduites en poudre fine à l'aide d'un broyeur.

**Tableau II :** Lieu de récolte de la plantes et les caractéristiques géographiques et bioclimatiques de la zone de récoltes.

La plante	Lieu de récolte	Etage bioclimatique	Altitude(m)	Latitude	Longitude	Période de récolte
<i>Ecballium</i>	El			4° 48'	36° 3'	
<i>Elaterium</i>	Anasser	Semi-aride	900m	12.46" E	0.684" N	06 Janvier 2016



**Figure 07:** *Ecballium elaterium* (Originale 2016).



Figure 08 : Carte de la région d'étude, El Anasser B.B.A.

## II.2. Méthode d'extraction

Le type de solvant utilisé pour extraire de différentes parties d'*Ecballium élatérium* peuvent avoir un grand impact sur l'activité antibactérienne. Cette différence pourrait attribuer à la sélectivité de l'extraction. En effet, l'extraction de *E.élatérium* avec des solvants polaires (méthanol) a donné lieu à des produits avec activité antibactérienne plus globale par rapport à une extraction avec les non polaires (chloroforme et de l'éther / essence) (Bougandoura et *al.*, 2012)(figure 09).

### II.2.1. Protocole d'extraction

50 g de poudre de la partie aérien d'EE ont été introduites dans un bocal d'une capacité de 2 litres contenant 1 litre de solvant organique (méthanol).

Le mélange obtenu a été régulièrement agité à froid pendant 48h puis filtré, le solvant a été évaporé dans un évaporateur rotatif et l'extrait brut, récupéré au fond du bocal (Ciulei, 2014).

La solution résultante est séchée à l'étuve (85°C). Les résidus obtenus sont conservés dans un réfrigérant. Avant la réalisation des tests antibactériens (figure 10).

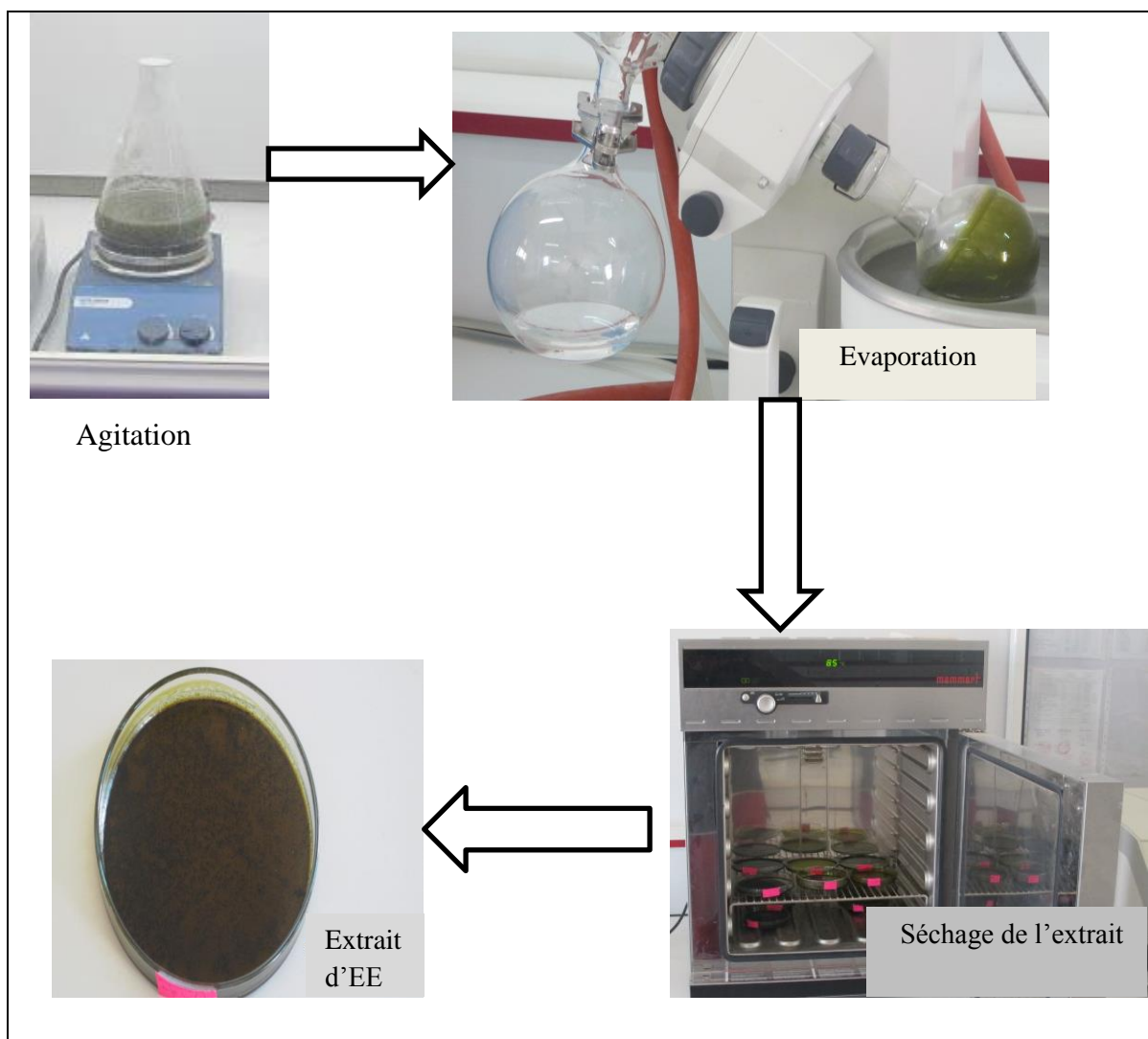
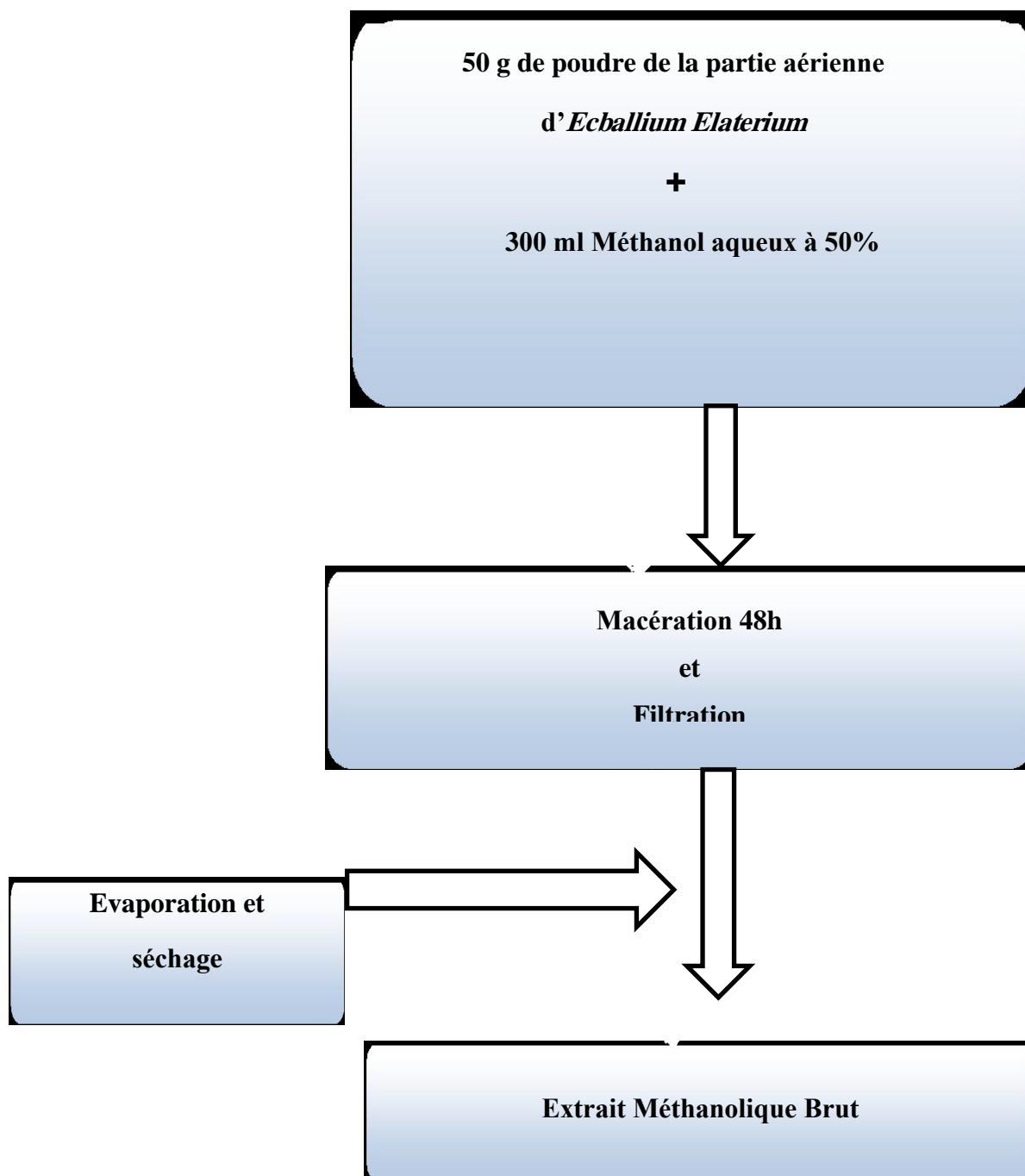


Figure 09 : Protocole de l'extraction méthanolique.



## II.2.1.1. Préparation de l'extrait brut

La préparation des extraits bruts de d'*Ecballium elaterium* est représentée dans la figure 10.



**Figure 10:** Préparation des extraits bruts d'*Ecballium elatirium* (sokmen.,2004).

### II.2.2. Les souches bactériennes testées

Les souches bactériennes choisies pour cette étude sont des bactéries pathogènes quatre (4 bactéries) deux de Gram + et deux de Gram- du laboratoire de chimie de la faculté SNV et ST du l'université Mohamed El-Bachir El-Ibrahimi (BBA). Et sont représenté dans le tableau III.

**Tableau III :** Liste de souches bactériennes testées.

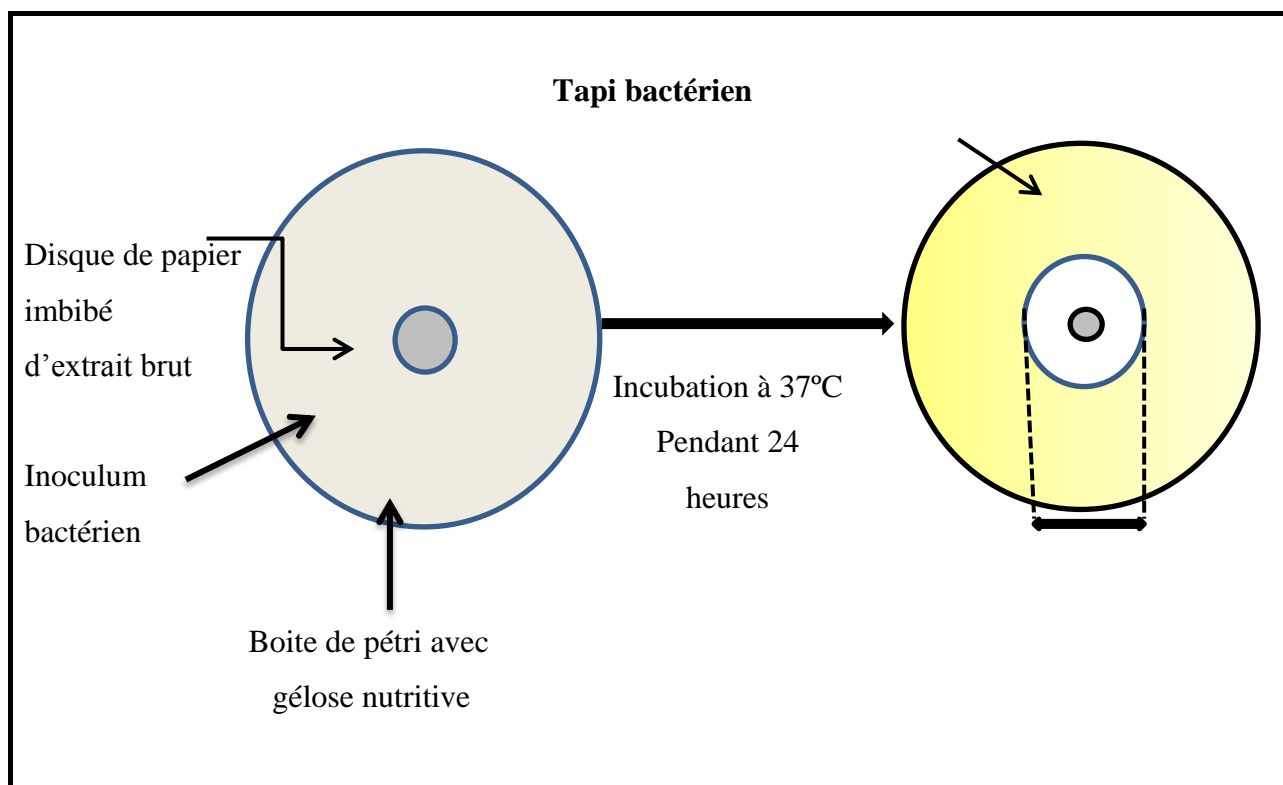
Nome de la souche	Gram	Respiration	Famille
<i>Staphylococcus aureus</i>	+	Aéro -anaérobie facultatif	Micrococcaceae
<i>Bacillus cereus</i>	+	Aéro –anaérobie	Bacillaceae
<i>Escherichia coli</i>	-	Aérobie	Enterobacteriaceae
<i>Salmonella</i>	-	Aéro -anaérobie facultatif	Enterobacteriaceae

### II.2.3. Tests de l'activité antibactérienne

L'évaluation de l'activité antibactérienne de l'extrait brute est réalisée d'abord par la méthode de diffusion sur disques où les disques sont imbibés de 10µl de l'extrait, en raison de simplicité et son efficacité pour tester la sensibilité des bactéries.

### II.2.4. Evaluation de l'activité antibactérienne par la méthode de diffusion sur disque (aromatogramme)

Cette méthode permet d'évaluer l'activité antibactérienne d'un extrait, bien qu'elle soit reconnue comme fiable et reproductible, elle est surtout utilisée en étape préliminaire à des études plus approfondies, car elle permet d'accéder à des résultats essentiellement qualitatifs. La technique utilisée est une modification de la méthode de (Sokmen .,2004). Elle consiste à déposer un disque stérile, imbibé d'extrait, sur un tapis bactérien au tout début de sa croissance et de mesurer la zone où les bactéries n'ont pas pu se développer. Le diamètre d'inhibition, qui traduit l'activité antibactérienne de l'extrait est ainsi déterminé (figure 11).



**Figure 11:** Présentation de la méthode de diffusion sur disque.

#### II.2.4.1. Préparation de milieux culture NA

Présenter dans l'annexe I.

#### II.2.4.2. Stérilisation du matériel

L'eau distillée, le milieu de culture, les tubes à essai utilisés dans la préparation des solutions bactériennes et les disques en papier Wattman (6mm de diamètre) enrobés dans du papier aluminium ont été stérilisés à l'autoclave à 121°C pendant 15 min.

#### II.2.4.3. Préparation des dilutions d'extrait d'E.E

Les extraits d'E.E, ont été dissous dans le diméthyle sulfoxyde (DMSO). Ce choix a été fait, parce que, le DMSO est le solvant préférable pour la majorité des auteurs, notamment, (Zaika ., 1988) qui ont prouvé que le DMSO n'a aucun pouvoir antibactérien puissant.

Pour préparer les différentes concentrations avec des dilutions successives au demi, sachant que la concentration de la solution mère de l'extrait est  $C_1 = 200$  mg/ml, comme suit :

$$C_2 = 150 \text{ mg/ml}$$

$$C_3 = 100 \text{ mg/ml}$$

$$C_4 = 50 \text{ mg/ml}$$

**II.2.4.3. Préparation de l'inoculum**

Pendant 24h, pour optimiser leur croissance, On racle à l'aide d'une anse de platine quelques colonies bien isolées et identiques de chacune des souches bactériennes à tester.

Décharger l'anse dans 10 ml d'eau distillée stérile, la suspension bactérienne est bien homogénéisée, son opacité doit être équivalente à 10Mc Farland.

L'inoculum peut être ajusté en ajoutant, soit de la culture s'il est trop faible, ou bien de l'eau physiologique stérile s'il trop fort.

**II.2.4.5. Ensemencement et dépôt des disques**

L'ensemencement est réalisé par écouvillonnage sur boîtes pétri, un écouvillon est trempé dans la suspension bactérienne, puis l'essorer en pressant fermement sur la paroi interne du tube. L'écouvillon est frotté sur la totalité de la surface gélosée, de haut en bas en stries serrées. L'opération est répétée deux fois en tournant la boîte de 60° à chaque fois.

L'ensemencement est fini en passant l'écouvillon une dernière fois sur toute la surface gélosée. L'écouvillon est rechargé à chaque fois qu'on ensemence plusieurs boîtes de pétri avec la même souche. Les disques imprégnés d'extrait sont déposés délicatement sur la surface de la gélose inoculée à l'aide d'une pince stérile.

De même les antibiogrammes réalisés avec des disques contenant des antibiotiques (témoin positif) dans ce cas on utilise l'amoxicilline appropriés prêts à l'emploi ont été utilisés pour la comparaison avec les résultats des extrait testés et les disques Wattman imprégnés de DMSO (témoin négatif).

Finalement, les boîtes de pétri sont incubées dans l'étuve à 37°C pendant 18 à 24h.

**II.2.4.6. Lecture des antibiogrammes**

La lecture des antibiogrammes a été faite par la mesure des diamètres des halos d'inhibitions au tour des disques.

**II.2.4.7. Détermination des CMI et CMB**

Pour les concentrations minimales inhibitrices (CMI), Il s'agit de déterminer les plus petites concentrations auxquelles les extraits présentent encore une activité antibactérienne visible à l'œil nu. Des dilutions successives au demi ont permis de préparer une gamme de dilution allant de 200 à 50 ml/ml pour les extraits, en effet de chaque dilution on prélève 10µl et en la met dans les disques qui sont déjà dans les boîtes de pétri.

Après détermination de la CMI, pour la détermination des concentrations minimales bactéricides (CMB) un prélèvement à l'anse est réalisé autour chacun des disques ne présentant aucune culture visible. Chaque prélèvement est déposé en stries sur le NA. Le boîte ensemencée est incubée 24 heures à 37°C.

Les mêmes opérations sont effectuées avec les souches des champignons, mais dans ce cas le milieu de culture est le PDA. Les champignons sont activés pendant 7 jours dans des boîtes de pétrie à une température de 28°C avant le test après incubation l'inoculum des champignons est préparé et l'ensemencement est réalisé par écouvillonnage sur boîtes de pétrie coulés qui contient du PDA.

La lecture des antibiogrammes est fait après 72 heures d'incubation à 28°C.

### **II.2.5. Activité antifongique**

#### **II.2.5.1. Préparation du milieu de culture de PDA**

Illustrer dans l'annexe I

#### **II.2.5.2. Préculture des souches fongiques**

200 ml de milieu de culture PDA est coulé dans des boîtes de pétri pour la multiplication des souches fongiques testés, on prélève des disques mycéliennes par pipettes pasteur stériles a partir des boîtes déjà cultivés, les boîtes sont incubés à l'étuve à 27° C pendant 4 jour.

#### **II.2.5.3. Préparation de Tween 80**

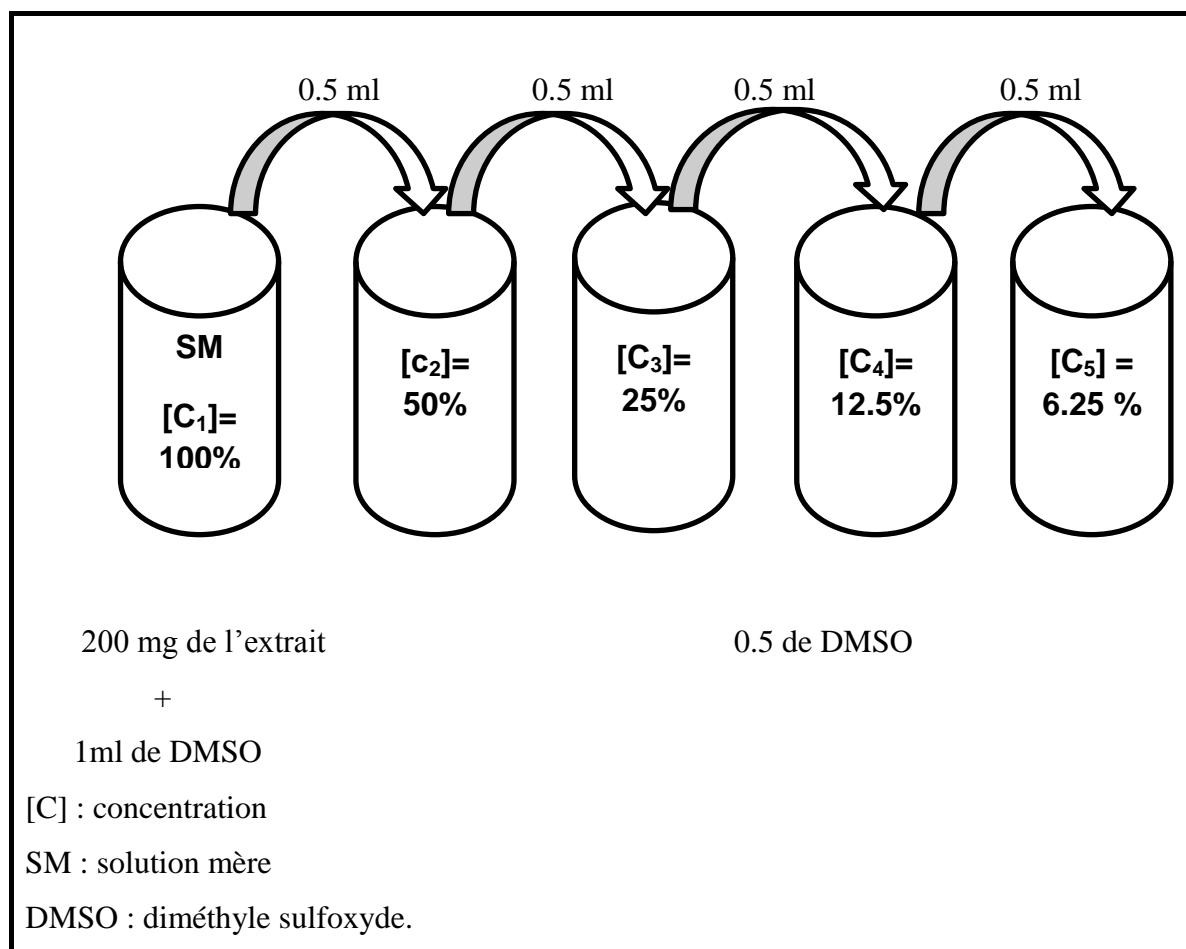
Dans un tube à essai stérile on met 1ml de Tween plus 20ml d'eau distillé stérile puis agiter.

#### **II.2.5.4. Préparation de la solution mère de l'extrait**

- Dissoudre 200mg de l'extrait brute dans 1ml de DMSO.
- Faire une agitation continue jusqu'à dissolution complète.

#### **II.2.5.5. Dilution de l'extrait aqueux :**

Dans ce travail, on utilise la dilution au demi sur 5 tube hémolysé stérile contenant 0.5 DMSO, les tubes sont ensuite agiter pour homogénéiser le mélange, les étapes sont présentées dans la figure 12:



**Figure 12:** Les étapes de dilution de l'extrait.

#### II.2.5.6. Préparation de mélange (PDA+ extrait) :

On ajoute 0.5 ml de la solution mère (SM) et 1.5 ml de Tween à 48ml de PDA stérile, de l'opération est répétée pour tous les solutions (C<sub>2</sub>, C<sub>3</sub>, C<sub>4</sub>; C<sub>5</sub>). Le mélange est agité quelques minutes pour l'homogénéiser. Dans le paillasse désinfecté les mélanges sont coulés dans les boîtes de pétrie. (Diamètre de 80mm), qui sont opérationnel après le refroidissement et la solidification.

### II.2.5.7. Evaluation de l'activité antifongique par la méthode de contact direct :

Pour la réalisation de l'activité antifongique on adopte la méthode de contact direct .le but de ce test, consiste à déterminé la sensibilité les souches fongiques (*Phytophthora infestans*, *Fusarium oxysporum*, *solani* et *Fusarium solanivar*)

À l'aide d'une pipette pasteur de 6mm de diamètre, on prélève un disque mycélien de la souche tester à partir d'une boite cultivé, le disque est inoculés au centre de la boite de pétri renfermant le mélange «PDA + Eq » (1disque/boite), la même opération est répété pour les autre souches fongique.

Les boites sont incubé à l'étuve à 27C pendant 7 jours le témoin est réalisé dans les mêmes conditions sans extrait aqueux et les mesures est enregistrées après 24h d'incubation. Le protocole de l'essai est résumé dans la figure 13.

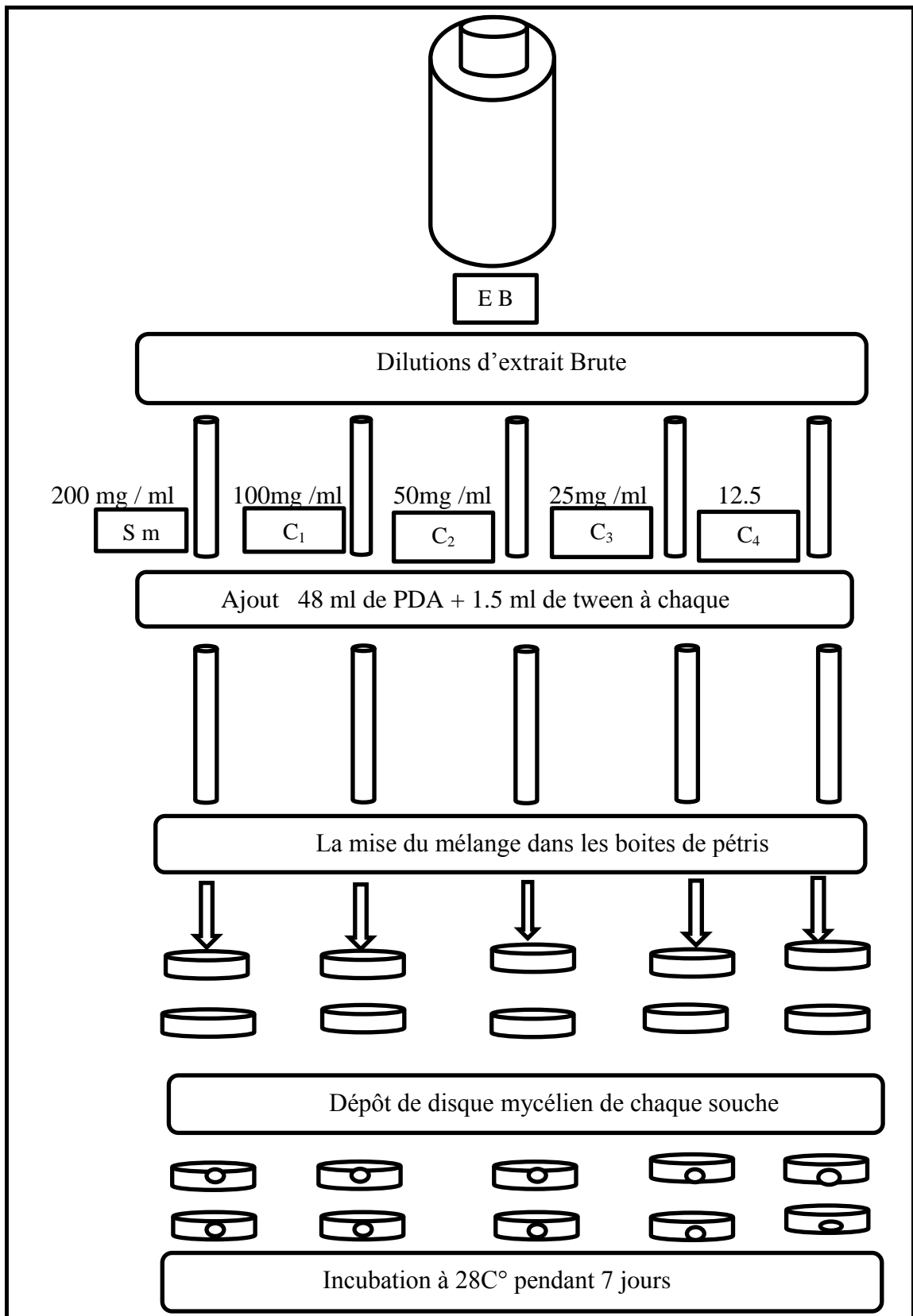


Figure 13 : Protocole expérimentale de l'essai de l'activité antifongique d'Eq d' EE.



***CHAPITRE III***  
***RÉSULTATS***  
***ET DISCUSSIONS***

### III.1. Rendements d'extraction méthanolique d'*Ecballium elaterium*

Les rendements ont été calculés en utilisant la formule suivante :

$$\text{Rdt \%} = (\text{PF} / \text{MS}) \times 100.$$

**Rdt** : Rendement en %.

**PF** : Produit final.

**MS** : Matière sèche.

La partie aérienne à donner le rendement de **6.08%**.

### III.2. L'activité antibactérienne

L'activité antibactérienne est testée par la méthode de diffusion sur disque. La détermination de la zone d'inhibition permet une estimation du caractère de sensibilité ou résistance de la souche bactérienne contre l'extrait testé.

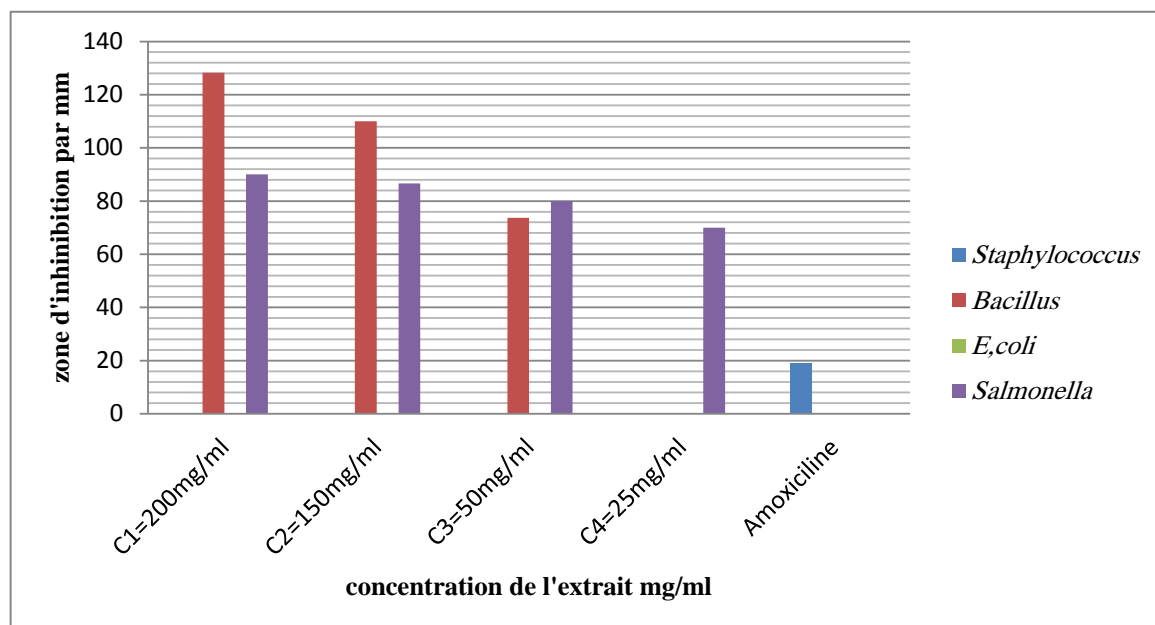
L'action de l'extrait s'exerce sous 04 souches bactériennes, incluant les bactéries Gram positive et les bactéries Gram négative. Ce test permet d'évaluer l'activité antibactérienne de l'extrait à partir de diamètre d'inhibition est résumé dans le tableau n° IV.

**Tableau IV** : Diamètres en (mm) des zones d'inhibition de l'extrait d'E.E sur les Souches bactériennes.

Souches Bactérienne	Zone d'inhibition en mm					
	C1 =200mg/ml	C2=150mg/ml	C3=100mg/ml	C4=50mg/ml	DMSO	Amoxicilline
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	-	-	-	19
<i>Bacillus cereus</i>	128.3	110	73.3	-	-	-
<i>Escherichia coli</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Salmonella</i>	90	86.6	80	70	-	-

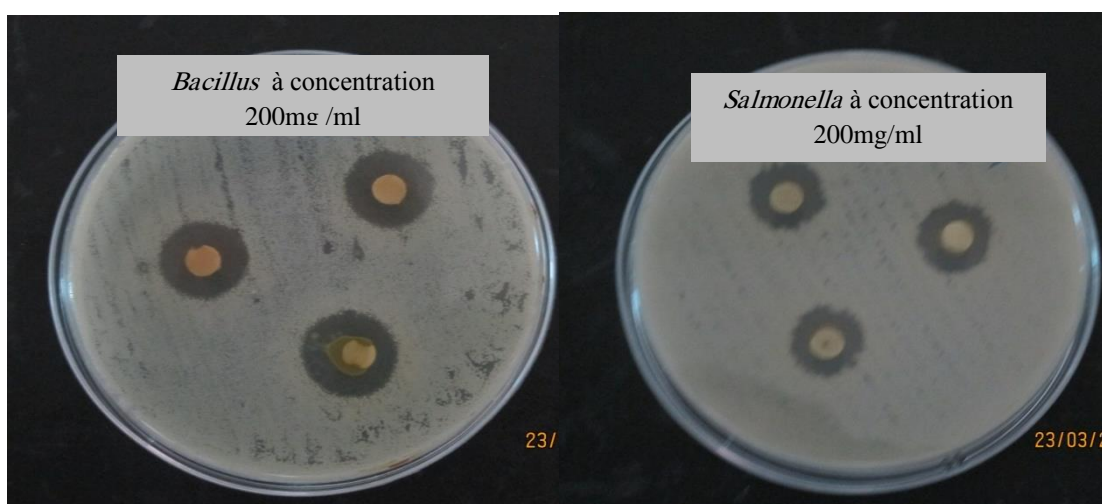
Les résultats obtenus montrent que l'effet de l'extrait *Ecballium Elaterium* exerce une forte activité sur les bactéries G+ et G- sauf *E.coli* et *Staphylococcus aureus*.

La souche la plus sensible avec une zone d'inhibition maximale de 128.8 mm est *Bacillus cereus* suivie par *Salmonella* avec une zone d'inhibition 90mm, et les souches résistance sont *E.coli* et *Staphylococcus aureus*.



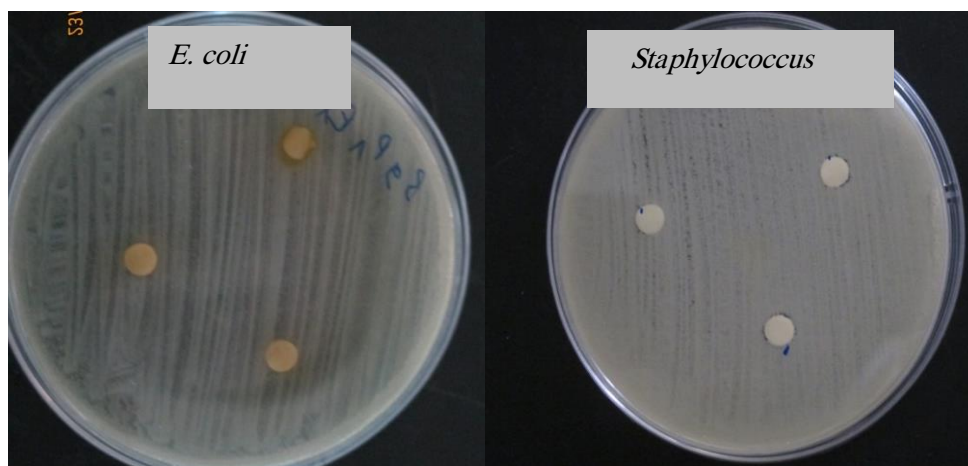
**Figure 14** : Taux d'inhibition de l'extrait sur les souches bactérienne.

Aucune zone d'inhibition a été observée autour des disques chargés par l'extrait dont le cas des bactéries *Staphylococcus aureus* et *E.coli*, ce qui est traduit par une forte résistance au l'extrait, la zone d'inhibition pour l'antibiotique été considérable 19 mm, les zones d'inhibition de *Bacillus* et *Salmonella* avec les différentes concentrations d'extrait de EE sont présentées dans la figure 15.



**Figure 15** : Activité antibactérienne de l'extrait d'EE sur les souches Bactériennes sensibles.

L'extrait d'EE n'a aucun effet sur le développement de *E coli* et *Staphylococcus aureus*, la résistance de cette bactérie peut être due au biofilm : une large majorité des microorganismes vivent et se développent en formant des agrégats (Comte, 2005), ou bien la spécificité de l'extrait comme ce sont présentées dans la figure 16.



**Figure 16:** activité antibactérienne de l'extrait d'EE sur les souches Bactériennes résistante

### III.2.1. Détermination des CMI et CMB

**Tableau V:** CMI et CMB des souches sensibles à l'extrait d'E.E.

Les souches	CMI	CMB
<i>Bacillus cereus</i>	100mg/ml	150mg/ml
<i>Salmonella</i>	50mg/ml	100mg/ml

### III.3. L'activité antifongique

#### III.3.1. La cinétique de croissance mycélienne

L'activité antifongique est révélée par l'absence ou la présence de la croissance mycélienne. Après l'application de l'extrait de la plante *Ecballium Elaterium* sur les quatre souches, on observe une croissance mycélienne après 24 h en diamètres différents, ces diamètres augmentent avec le temps d'incubation.

Les résultats de l'effet d'extrait d'EE sur la cinétique de croissance mycélienne sont présentés dans le tableau 06 est varié entre et mm de diamètre (y compris le diamètre du disque).

Tableau VI: La croissance mycélienne (mm) de la croissance mycélienne (mm)de *Phytophthora infestans* , *Fusarium solanivar* , *Fusarium oxysporum* , *Solani*.

Les souches	Témoin	Concentration d'extrait d'EE(%)					Les heures
		100	50	25	12.5	6.25	
<i>P. Infestans</i>	30	29.5	29.7	29.9	30.9	31.5	48h
<i>F. solanivar</i>	19.5	19.4	19.6	19.8	20	20.5	
<i>F. oxysporum</i>	34.5	29.5	30	35	37	38	
<i>Solani</i>	31.5	26	30	32	34	36	
<i>P. Infestans</i>	44.5	44.4	44.6	45	45.5	46	72h
<i>F. solanivar</i>	31.5	29.5	29.8	30	30.5	32	
<i>F. oxysporum</i>	46.5	39.5	42	43.5	45	46	
<i>Solani</i>	39	27	36	37	38	39	
<i>P. Infestans</i>	53.5	51	51.9	52.2	53	53.3	96h
<i>F. solanivar</i>	38	36	36.5	36.9	37.4	37.8	
<i>F. oxysporum</i>	57.5	42	44	53	54	56	
<i>Solani</i>	50	30	38	40	42	44	
<i>P. Infestans</i>	61	58	58.5	59	60	61	120h
<i>F. solanivar</i>	45	42	42.9	43	44	45	
<i>F. oxysporum</i>	60	46	48	50	56	58	
<i>Solani</i>	52.5	28	44	48	50	52	
<i>P. infestans</i>	76.5	60.5	61	62	65.7	70	144h
<i>F. solanivar</i>	54.9	50	51.5	52	53.5	54	
<i>F.oxysporum</i>	66	52	56	60	64	65.5	
<i>Solani</i>	60	34	45	50.5	52	58	

Les résultats démontre que les diamètres des témoins après 48h est de 30,19.5, 34.5 et 31.5mm des quatre souches et augment jusqu'à 76.5mm après 144h pour *Phytophthora infestans*. 66, 60, 54.9 pour *Fusarium oxysporum*, *solani* et *Fusarium solanivar* respectivement.

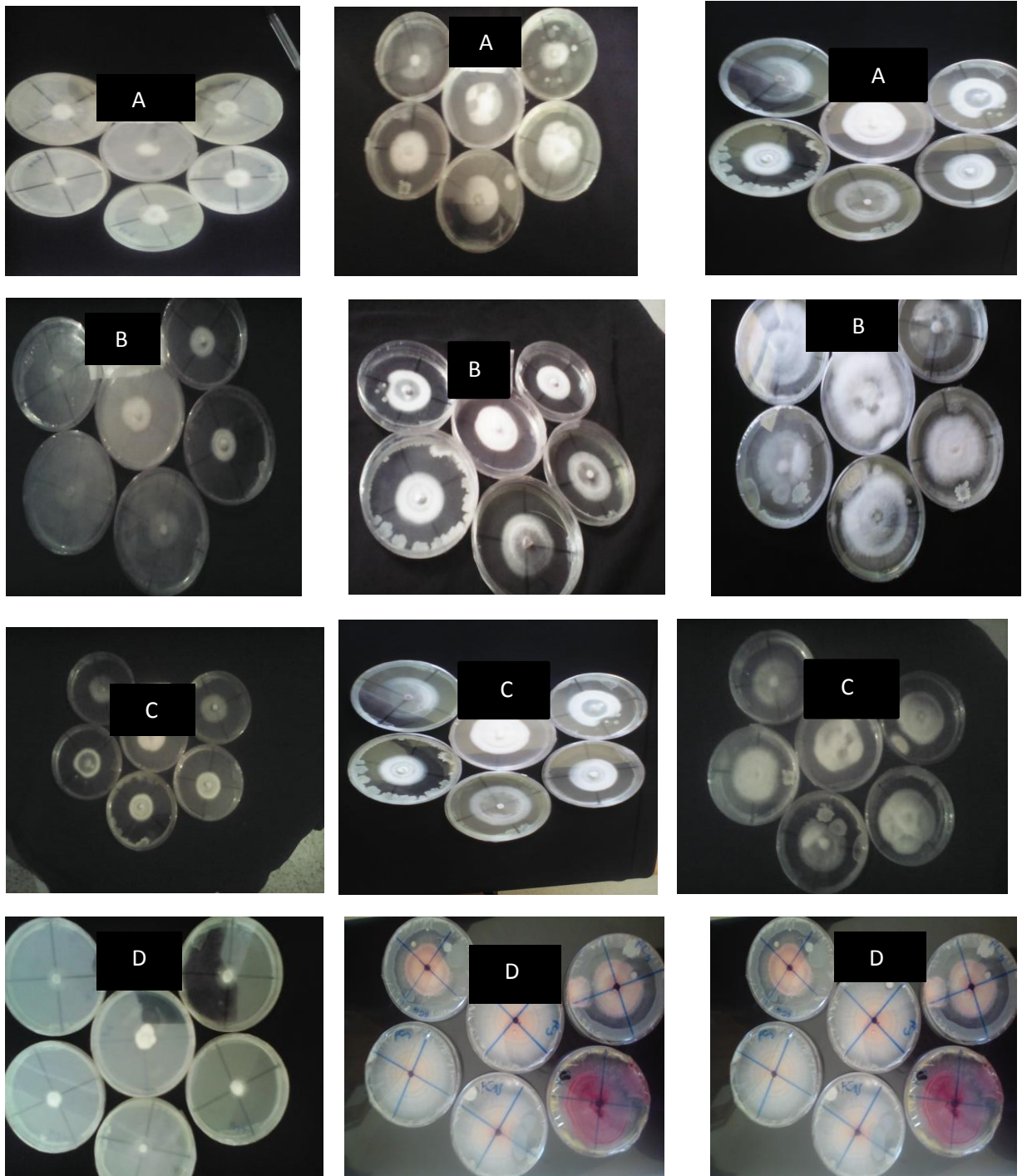
Le diamètre de croissance mycélienne sous l'effet d'extrait de EE démarre après 48h augmente avec le temps pour les quatre souches.

Le diamètre de *Fusarium solanivar* est plus faible que celui-ci d'autres souches. Après 144 h le développement est plus élevé pour *Phytophthora infestans* et *Fusarium oxysporum*

Les souches après 48h

après 96h

après 168h



**A** : *Phytophthora infestans*

**B** : *Fusarium oxysporum*

**C** : *Solani*

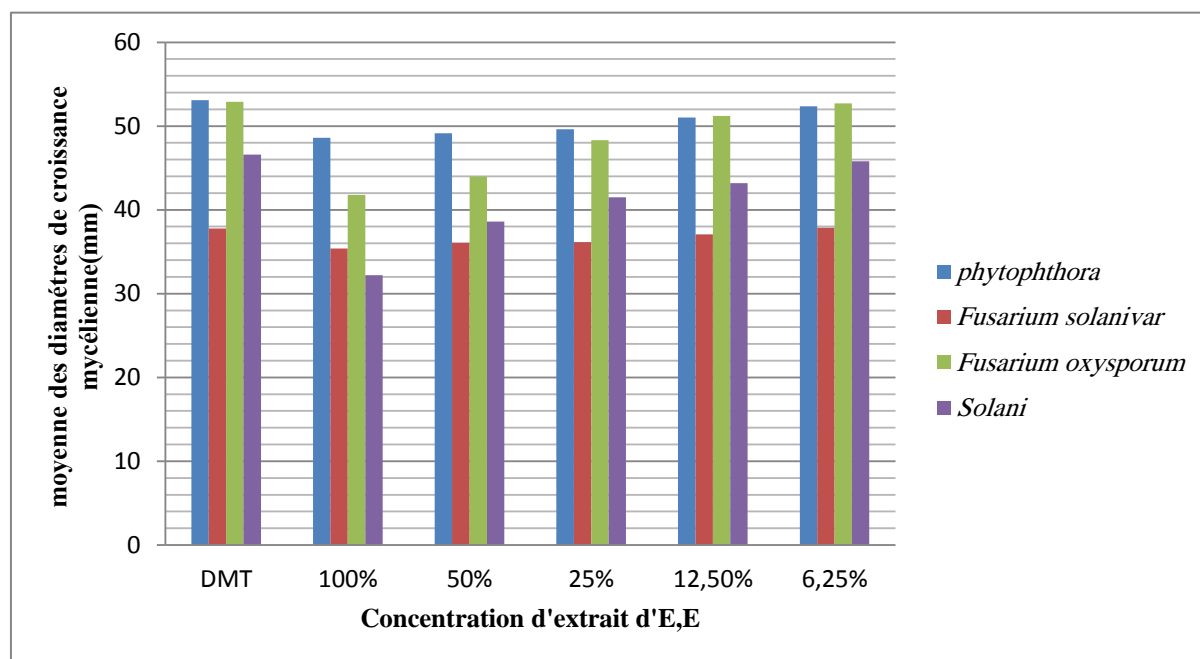
**D** : *Fusarium solanivar*

**Figure 17** : Le developpement de la croissance mycélienne sous l'effet d'extrait d'E.E en fonction de temps d'incubation

### III.3.2. La croissance mycélienne

La croissance mycélienne a été évaluée à la fin de l'expérience (6 jours d'incubation).en mesurant la moyenne de diamètre .cette lecture est toujours réalisé en comparaison avec les cultures témoins, qui sont effectuée le même jour et dans les mêmes conditions.

L'analyse de variance (tableau VII Annexe 01) montre que l'interaction entre les souches et les concentrations est hautement significative  $p=0.0001$  cette sensibilité dépend de la composition chimique des métabolites secondaires à caractère antifongique, qui sont présente et caractérisent l'extrait.



**Figure18:** La croissance mycélienne des quatre souches fongiques sous l'effet des concentrations de l'extrait d'*Ecballium Elaterium*.

Les résultats de la figure 16 montrent que la croissance mycélienne sous l'effet de l'extrait d'*Ecballium Elaterium*, diminue avec l'augmentation de la concentration de l'extrait, pour les quatre souches fongiques, mais la croissance de *Fusarium solanivar* moins que les autres.

Le plus grand diamètre de croissance mycélienne de *Phytophthora infestans*, *Fusarium solanivar*, *Fusarium oxysporum* et *solani* a été enregistrée à la concentration qu'il correspond l'absence d'extrait (témoin) avec un diamètre de croissance de 53.1mm, 37.78mm, 52.9mm, 46.6mm, respectivement, ensuit la concentration de 6.25% avec un diamètre de croissance 52.36 mm, 37.86mm,52.7mm, 45.8mm, puis la concentration 12.5 % avec un diamètre de croissance 51.0mm, 37.08mm,51. mm,43.2mm respectivement .



Les diamètres les plus faibles ont été enregistrés dans la concentration la plus élevée 100% dont 48.6mm, 35.38 mm, 41.8 mm, 32.2 mm.

L'extrait d'E.E est riche en alcaloïdes, terpènes flavonoïdes, tanins et les saponines qui ont une activité biologique.

La proportion entre la concentration de l'extrait d'E.E et la croissance mycélienne de *Phytophthora infestans*, *Fusarium solanivar*, *Fusarium oxysporum* et *solani* peut être liée à la présence d'une quantité plus élevée des molécules ayant une activité antifongique dans les concentrations élevées.

### III.3.3 .Détermination de pourcentage d'inhibition (PI) :

La croissance radiale (C) de l'agent pathogène a été exprimée en pourcentage d'inhibition et calculée selon la formule de Dohou et al. (2004) de l'extrait ou du fongicide.

$$PI = \frac{(A-B)}{A} \times 100$$

A : Diamètre moyen de la croissance du champignon sur milieu témoin.

B : Diamètre moyen de la croissance du champignon en présence de l'extrait d'E.E.

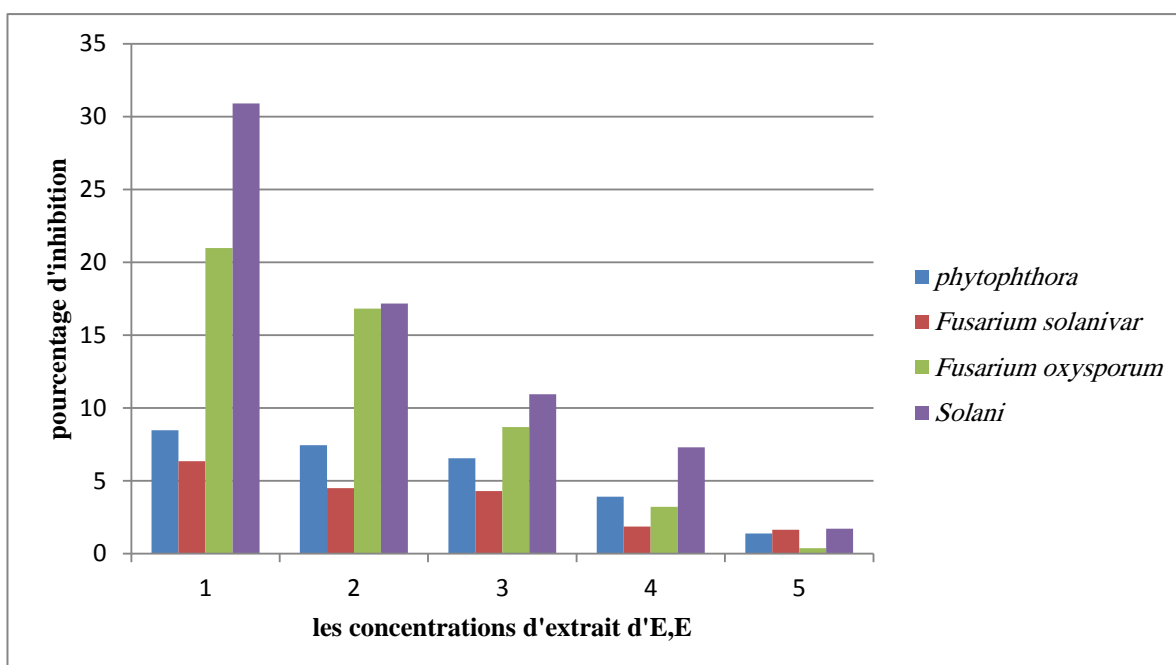


Figure 19 : Pourcentage d'inhibition d'extrait d'E.E.

Le pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne d'*Ecballium Elaterium* a varié avec l'augmentation de la concentration d'extrait méthanolique.

L'extrait d'E.E a enregistré un pourcentage d'inhibition varie entre 30.9 % ,20.98% ,8.47%, 6.35% pour *Solani*, *Fusarium oxysporum* , *Phytophthora infestans*, *Fusarium solanivar*, et à la concentration la plus élevée (200mg/ml).

Le moins PI a été enregistré à la plus petite concentration (12.5mg/ml) est de 1.71, 1.64, 1.39, 0.37 pour *Solani*, *Fusarium solanivar*, *Phytophthora infestans*, *Fusarium oxysporum*, respectivement.

On suppose que la pouvoir antifongique de l'extrait de *l'Ecballium elaterium* est due à leur composition chimique, telle que les saponines, qui sont une classe spéciale de glycosides ont une part, une caractéristique savonneuse et d'autre parte, une très bonne activité antifongique, les alcaloïdes qui renfermant un effet détoxifiant et possède une activité antifongique. Les flavonoïdes sont également responsables d'inhibition des microbes résistants aux antibiotiques.

Les terpènes affectent non seulement la perméabilité mais aussi d'autre fonction dans les membranes cellulaires des champignons. Ces composés peuvent traverser les membranes cellulaires, pénètrent ainsi à l'intérieurs de la cellule et interagissent avec des sites critiques intracellulaires tels que les enzymes et les protéines, ce qui conduite à la mort cellulaire. (Boulard 2001).

# CONCLUSION

## Conclusion

---

Après l'exécution des différentes étapes de recherche et d'examen de notre plante *Ecballium Elaterium*, on a obtenu les conclusions suivantes :

- L'étude du pouvoir antibactérien par la méthode de diffusion des disques, l'extrait méthanolique a manifesté une activité modérée contre *Bacillus et Salmonella*, tel que la souche la plus sensible avec une zone d'inhibition maximale de 128.8 mm pour *Bacillus cereus* suivie par *Salmonella* avec une zone d'inhibition 90mm. cependant les souches résistance sont *E. coli* et *Staphylococcus aureus*.

- La méthode de contact direct, nous a permis de mettre en évidence le pouvoir antifongique de l'extrait de l'*Ecballium elaterium* vis-à-vis des souches : *Phytophthora infestans*, *Fusarium solanivar Fusarium oxysporum*, *Solani*. Il est à noter que l'activité antifongique augmente avec l'augmentation de la concentration de l'extrait de l'*Ecballium elaterium*. Cette activité conduit à la régression de croissance mycélienne qui est déterminée par la diminution des diamètres.

Les résultats obtenus montrent que l'extrait de l'*Ecballium elaterium* a un effet significatif sur les souches bactériennes *Bacillus et Salmonella*, et sur les souches fongiques à des concentrations élevées.

L'ensemble des résultats obtenus in vitro ne constitue qu'une première étape dans la recherche des substances de source naturelle biologiquement active.

Ces résultats préliminaires peuvent être complétés par d'autres études plus approfondies (test antioxydant, rendement, détermination de la concentration minimale inhibitrice des souches fongiques, mode d'application, cout, essai sur d'autres souches microbiennes, etc...).

**RÉFÉRENCES**

**BIBLIOGRAPHIQUES**

- **Agil M.A., Risco S., Miro M., Navarro M.C., Ocete, M.A., Jimenez J. (1995).** Analgesic and antipyretic effects of *Ecballium elaterium* (L.) Extract in rodents, *Phytother.* 9-13.
- **Blaskovich M.A., Sun J., Cantor A., Turkson J., Jove R., Sebt S.M. (2003).** Discovery of JSI-124 (cucurbitacin I), a selective Janus kinase/signal transducer and activator of transcription 3 signaling pathway inhibitor with potent antitumor activity against human and murine cancer cells in mice. 63.
- **Boullard B. (2001).** Plantes médicinales du monde: Réalités & Croyances, Publié par Estem, ISBN 2843711177, 9782843711176, Disponible en ligne dans le site <http://Books.Google.fr>.
- **Bougandoura N., Bendimerad N. (2012).** Effet antifongiques des extraits aqueux et, méthanolique de *Satureja calamintha* sp. 1-7.
- **Cezik E. and Yesilada E. (2006).** Clinical Effects of the Juice of *Ecballium elaterium* in the Treatment of Sinusitis," *Clinical Toxicology*, Vol. 33, No. 4, 1995, p. 381-383.
- **Ciulei I. (2014).** Methodology for Analysis of Vegetable Drugs. Practical Manuals on the industrial utilisations of medicinal and aromatic plants. Arta Grafica, Bucharest, Romania. 4.
- **Clos D. (2014).** Observations Afférentes Aux *Erodium Cicutarium* et *Præcox* et L'*Ecballium Elaterium*.90.
- **Deghima A. (2014).** Activités antioxydants et anti-inflammatoire de Cucurbitacines et calystegines extraits d'*Ecballium elaterium* et de *Hyoscyamus albus*.11.
- **Dohou N., Yamani K., Badoc A., Douira A. (2004).**Activité antifongique d'extraits de *Thymelea lythroides* sur trois champignons du riz. Bull Soc. Pharm. Bordeaux. 38.
- **El-haci I A. (2009).**Etude de l'activité antioxydante des flavonoïdes de: *Ecballium elaterium* (L.), *Capparis spinosa* (L.) et *Limoniastrum feei* (L.) Université Abou-Bekr Belkaid Tlemcen.15.
- **Eray O., Tuncok Y., Eray E., Gunerli A., Guven H. (1999).** Severe uvular angioedema caused by intranasal administration of *Ecballium elaterium*.41- 376-378.
- **Felter H.W., Lloyd J.U. (2008).** In King's American Dispensatory, disponible sur le <Http://www.ambhnc.org/botanique.htm>.
- **Font Q., (1980).** El Dioscorides Renovado. 6th ed, 768-770, Labor. Barcelon.
- **Gray H., Abou Khalil R., Abou Mansour E. (2006).** Cucurbitacins from *Ecballium elaterium* juice increase the binding of bilirubin and ibuprofen to albumin in human plasma. *Chemica-Biological Interactions*. 53-62.

- **Hammiche V., Rachida M., Mohamed A. (2013)**.Plantes toxiques à usage médicinal du pourtour méditerranéen. Laboratoire de botanique médicale, Mémoire de master université d'Alger. 22-115-116-117.
- **Khatib S.Y., Mahmoud I., Hasan Z.A., (1993)**.Effects of crude *Ecballium elaterium* juice on isolated rabbit heart. 31-259-268.
- **Kloutsos G., Balatsouras D.G., Kaberos A.C., Kandiloros D., Ferekidis E., EconomouC. (2001)**. Upper airway edema resulting from use of *Ecballium elaterium* 26-27.
- **Kocak I., Kaabela Y., Karaman M., and Kaya F. (2006)**. “Latee Lamellar Keratitis as a Result of the Toxic Effects of *Ecballium elaterium* Herb,” Journal of Refractive Surgery.82-83.
- **Miro M. (1995)**. Cucurbitacins and their pharmacological effects. Phytotherapy research. 59.
- **Patrice, D. (2008)**. Le badaud des garrigues, disponible sur le site [Http://www.ambhnc.org/botanique.html](http://www.ambhnc.org/botanique.html).
- **Quezel, P., Santa S. (1963)**. Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome I et II. Ed. C.N.R.S, Paris.
- **Richard A. (1824)**. Le Dictionnaire classique d'histoire naturelle, France. 19.
- **Sokmen A., Gulluce M., Akpulat H.A. (2004)**. The in vitro antimicrobial and antioxidant activity of the essential oils and methanolic extracts of endemic thymus spathulifolius. Food control. 15-27.
- **Yesilada E., Tanaka S., Sezik E., Tabata M. (1988)**. Isolation of an anti-inflammatory principle from the juice of *Ecballium elaterium*. 51-54
- **Zaika I., (1988)**. Spices and herb : their antimicrobial activity and its determination 1 –journal of Food Safety. 9.

# ANNEXES



# **Annexes**

---

## **Annexes I**

### **Matériel utilisé**

- Agitateur.
- Autoclave.
- Bain marie.
- Balance de précision.
- Balance.
- Bocal
- Broyeur
- Chouffe ballon.
- Distributeur.
- Etuve.
- Hydro distillateur.
- Micropipette.
- Plaque chauffante.
- Réfrigérant.
- Hotte.

### **Les solvants utilisés**

- DMSO : Diméthyle sulfoxyde.
- Méthanol.

### **Préparation de milieux culture NA**

- 23g de nutriment d'agar
- 1 litre d'eau
- Dissoudre 23 g de la poudre de nutriment d'agar dans un litre d'eau distillée.
- Faire bouillir avec agitation continue jusqu'à dissolution complète.
- Autoclave à 121°C pendant 15 min, et finalement couler le milieu dans les boites de pétri.

## **Annexes**

---

### **Préparation du milieu de culture de PDA**

- 20g d'agar.
- 200 de pomme de terre.
- 20de glucose.
- 01L de l'eau distillée.
- Couper la pomme de terre en petits morceaux et pesé 200g puis faire le bouillir sur un plaque chauffant, avec 1L d'eau distillé.
- Récupérer le bouillon de la pomme de terre dans un Erlenmeyer (1000 ml).
- Ajouter 20 g de glucose.
- Peu à peu en ajouter le 20g d'agar
- Faire bouillir avec agitation continue jusqu'à dissolution complète.
- Récupérer le milieu dans des flacons propres.
- Autoclave à 121°C pendant 20 min.
- Conserver dans un endroit propre.

## Annexes

---

### Annexe II :

#### I.1. Tableau d'étude statistique de moyenne de croissance :

Statistiques descriptives

SCHECODE	Moyenne	Ecart-type	N
JR2 P. Infestans	30,2500	,77910	6
F. solanivar	19,8000	,40497	6
F.oxysporum	34,0000	3,53553	6
Solani	31,5833	3,44117	6
Total	28,9083	6,01671	24
JR3 P. Infestans	45,0000	,63561	6
F. solanivar	30,5500	,99750	6
F.oxysporum	43,7500	2,65989	6
Solani	36,0000	4,56070	6
Total	38,8250	6,52562	24
JR4 P. Infestans	52,4833	,95795	6
F. solanivar	37,1000	,77460	6
F.oxysporum	51,0833	6,48395	6
Solani	40,6667	6,65332	6
Total	45,3333	8,02613	24
JR5 P. Infestans	59,5833	1,28128	6
F. solanivar	43,6500	1,22270	6
F.oxysporum	53,0000	5,76194	6
Solani	45,7500	9,22903	6
Total	50,4958	8,22776	24
JR6 P. Infestans	65,9500	6,28610	6
F. solanivar	52,6500	1,80970	6
F.oxysporum	60,5833	5,66054	6
Solani	49,9167	9,47848	6
Total	57,2750	8,83123	24

## Annexes

---

### I.2. Tableau de l'ANOVA :

Effet	Valeur	D	ddl de l'hypothèse	Erreur ddl	Sig.	
factor1	Trace de Pillai	,985	274,304 <sup>b</sup>	4,000	17,000	,000
	Lambda de Wilks	,015	274,304 <sup>b</sup>	4,000	17,000	,000
	Trace de Hotelling	64,542	274,304 <sup>b</sup>	4,000	17,000	,000
	Plus grande racine de Roy	64,542	274,304 <sup>b</sup>	4,000	17,000	,000
factor1 * SCHECODE	Trace de Pillai	1,549	5,070	12,000	57,000	,000
	Lambda de Wilks	,050	7,950	12,000	45,269	,000
	Trace de Hotelling	8,813	11,506	12,000	47,000	,000
	Plus grande racine de Roy	7,743	36,781 <sup>c</sup>	4,000	19,000	,000

## Abstract:

This work for the evaluation of the antibacterial and antifungal effect of extracts of the aerial part of *Ecballium elaterium*.

The extraction is done by methanolic solvent of the aerial part of the *Ecballium elaterium*. Extraction provided yield 6.08%, the testing is done by the use of concentrations diluted in half from a stock solution of 200mg / ml concentration, all the tests were repeated two to three times.

The antibacterial activity is performed on 4 strains tested bacteria (*E. coli*, *Bacillus Staphylococcus aureus*, *Salmonella*). By the deposit method on disk.

The in vitro study of the effect of the extract of the medicinal plant *Ecballium elaterium* the growth of fungal strains (*Phytophthora infestans*, *Fusarium solanivar*, *Fusarium oxysporum Solani*). Is performed by the direct contact method.

The results obtained show that the crude extract of the *Ecballium elaterium* has a significant effect on the bacterial strains *Bacillus* and *Salmonella*, and on the mycelial growth of fungal strains to high concentrations.

**Keywords:** *Ecballium elaterium*, Methanol extract, fungal strain, bacterial strain, antimicrobial effect, antifungal effect, percentage inhibition, mycelial growth.

## ملخص:

يهدف هذا العمل لتقييم تأثير مضاد بكتيري ومضاد للفطريات لمستخلص الجزء العلوي للقضاء بري (قضاء الحمير) ويتم استخراج المستخلص بواسطة الميثانول لجزء العلوي للنبات *Ecballium elaterium* يقدر عائد الاستخراج بـ 6.08% ، باستخدام تراكيز مخففة الى النصف انطلاقا من محلول أم ذو تركيز 200 mg/ml. وتكررت كل الاختبارات مرتين إلى ثلاث مرات.

يتم تنفيذ النشاط المضاد للبكتيريا لأربع سلالات بكتيرية (*Salmonella*, *Ecoli*, *Bacillus*, *Staphylococcus*) بواسطة طريقة الإيداع على القرص.

دراسة تأثير مستخلص من نبات قضاء حمير على تطور نمو السلالات:

(*F.solanivar*, *P.infestans*, *F.oxysporum*, *Solani*) بواسطة طريقة الاتصال المباشر.

النتائج التي تم الحصول عليها تظهر أن مستخلص *Ecballium elaterium* له تأثير كبير على

*Salmonella* و *Bacillus* وعلى نمو السلالات الفطرية باستعمال تراكيز عالية.

**كلمات مفتاحية:** *Ecballium elaterium* ، استخلاص بواسطة الميثانول، سلالة فطرية، سلالة بكتيرية، تأثير مضاد للميكروبات، تأثير مضاد للفطريات، نسبة تثبيط النمو.