

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 8 ماي 1945 قالمة
Université 8 Mai 1945 Guelma
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Sciences de la Terre et de l'Univers



Mémoire En Vue de l'Obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité/Option : Biologie Moléculaire et Cellulaire : Biologie Moléculaire des Procaryotes

Département : Biologie

**Thème : Etude de l'effet antimicrobien de l'extrait méthanolique
de l'ail « *Allium sativum L* »**

Présenté par :

- Batah Safa
- Saaidia Meryem
- Yousfi Sara

Devant le jury composé de :

Président :	Mme. Hamdiken M .	(M.A.A)	Université de Guelma
Examineur :	Mme. Grara N .	(M.C.A)	Université de Guelma
Encadreur:	Mme. Ayed H.	(M.A.A)	Université de Guelma

Juin 2016

Remerciements

Remerciement

*Nous remercions le bon Dieu de nous avoir offert la vie,
la foi et la force pour aller de l'avant et être la fierté de
nos proches*

*Nous tenons à exprimer notre remerciement
respectueux, Et profonde reconnaissance à notre
encadreur Madame Ayed ; qui nous a orienté et
conseillé tout au long de ce travail.*

*Nous remercierons également les membres de jury Mme
Hamdiken. Et Mme Grara. Qui nous ont fait L'honneur
de juger notre travail.*

*On tient à remercier maintenant très respectueusement
Mme Hassiba technicienne du laboratoire de
microbiologie, université de Guelma pour nous avoir
soutenus durant notre période de travail au laboratoire
ainsi les techniciennes des laboratoires (Ratiba, ghania)
qui nous ont facilité notre travail.*

*Un grand merci à Madame khellaf, pour son
aide précieuse.*

*Nous ne saurions oublier toutes les personnes qui ont
contribué de près ou de loin, à la réalisation de ce travail*

Table des matières

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Introduction.....1

Synthèse bibliographique

Chapitre I : Généralités sur les plantes médicinales.....3

I.1 La phytothérapie.....3

I.1.1 Définition.....3

I.1.2 Les différents types de la phytothérapie.....3

I.1.2 Les avantages et les inconvénients de phytothérapie.....4

I.2 les plantes médicinales.....4

I.2.1 Définition.....4

I.3 les métabolites secondaires.....4

I.3.1 Définition.....5

I.3.2 Classification.....5

I.4 Activité antimicrobienne des extraits des plantes.....9

I.4.1 Activité antimicrobienne des polyphénols.....9

Chapitre II : Notion sur la plante investiguée « Allium sativum ».....11

II.1 Description de la plante.....11

II.2 Origine de la plante.....11

II.3 Classification et diversité.....12

II.3.1 Classification.....12

II.3.2 Variété.....14

II.4 Condition de culture et récolte.....	14
II.4.1 Condition de culture.....	14
II.4.2 Récolte.....	15
II.5 Composition chimique.....	15
II.5.1 L'alliine.....	15
II.5.2 Les peptides γ -glutamylcystéine (GSAC), téine.....	16
II.6 utilisation et propriétés.....	17
II.6.1 Culinaire.....	17
II.6.2 Pharmacologie.....	18
II.7 Eléments actifs des plantes.....	21
Chapitre III : Le monde microbien.....	23
III.1 Vue d'ensemble sur le monde bactérien.....	23
III.2 Culture des bactéries.....	23
III.3 Description des germes étudiés.....	24
III.3.1 Les bactéries.....	24
III.3.2 Les champignons.....	27
III.4 Mode d'action des agents antimicrobiens.....	28
Etude expérimentale	
Chapitre I : Matériels et Méthodes.....	30
I.1 Criblage phytochimique.....	30
I.1.1 Tests biochimiques préliminaires.....	30
Chapitre II : Tests de l'activité antibactérienne et antifongique	35

II.1 Les souches testées.....	35
II.2 Milieux de Culture.....	35
II.3 Repiquage des souches microbiennes.....	35
II.4 Test de sensibilité aux antibiotiques (antibiogramme).....	35
II.4.1 Préparation de la suspension bactérienne.....	36
II.4.2 Mode d'ensemencement.....	36
II.4.3 Application des disques d'antibiotiques.....	36
II.4.4 Lecture.....	36
II.5 Méthode de diffusion en milieu gélosé (aromatogramme).....	38
II.5.1 Préparation des disques.....	39
II.5.2 Préparation des précultures.....	39
II.5.3 Lecture.....	40
II.6 Méthode de macrodilution en milieu liquide.....	40
II.6.1 Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI).....	40
II.6.2 Détermination de la concentration minimale bactéricide et fongicide.....	41
Chapitre III : Résultats et Discussions.....	42
III.1 Résultats de l'analyse phytochimique.....	42
III.2 Résultats du test du pouvoir antimicrobien.....	44
III.2.1 Profils aux résistances aux antibiotiques.....	44
III.2.2 Méthode de diffusion en disque (aromatogramme).....	46
III.3 Méthode de macrodilution en milieu liquide.....	51
Conclusion.....	57

Références bibliographiques

Annexes

Résumé

Liste des abréviations

% : Pourcentage.

°C : Degré Celsius.

ATB : Antibiotique.

ATCC : American type culture collection.

BN : Bouillon Nutritif.

CHCl₃ : chloroforme ou trichlorométhane.

cm : centimètre.

DADS : Disulfure de diallyle.

DAS : Sulfure de diallyle.

DTS : Trisulfure de diallyle

CMB : Concentration Minimale Bactéricide.

CMF : Concentration Minimale Fongicide.

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice.

D.O : Densité Optique

E.C.B.U : Examen cyto bactériologique des urines.

FeCl₃ : Chlorure Ferrique.

g : gramme

GSAC : glutamyl-S-allylcystéine.

GSMC : glutamyl-S-methylcystéine.

GSPC : glutamyl-S-propylcystéine.

h : heure.

HCl : Chlorure d'hédrogène.

H₂SO₄ : Acide Sulfurique.

H₃PMO₁₂O₄ : Acide phosphomolybdique.

H₃PW₁₂O₄₀ : Acide phosphotungstique.

Hcl : Acide chlorhydrique.

mg : milligramme.

min : minute.

ml : millilitre.

mm : millimètre.

Nacl : Chlorure de sodium.

NaOH : Hydroxyde de Sodium.

NH₄OH : Hydroxyde d'ammonium.

nm : nanomètre

pH : Potentiel hydrogène.

UFC/ml : Nombre de colonie formant par millilitre.

V/V : volume par volume.

µm : micromètre.

µl : microlitre

Liste des figures

Figure N°	La liste de figures	N° page
Figure 01	<i>Allium Sativum L</i>	11
Figure 02	Structure chimique de l'Alliine	16
Figure 03	Protocole expérimentale	34
Figure 04	La technique de diffusion en disque (Antibiogramme)	38
Figure 05	Schéma simplifié la méthode de l'aromatogramme	38
Figure 06	Résultats des tests phytochimique de l'ail	43
Figure 07	Comportements des souches testés aux antibiotiques	45
Figure 08	Histogramme de l'aromatogramme de différentes souches testées	47
Figure 09	Effet de l'extrait méthanolique de l'ail sur <i>E.Coli</i> ATCC 25922, <i>S.aureus</i> .	49
Figure 10	Effet de l'extrait méthanolique de l'ail sur <i>C.albicans</i> .	50
Figure 11	Présentation de la série de dilutions en milieu liquide des souches testées (détermination de la CMI).	52
Figure 12	Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB).	53
Figure 13	Détermination de la concentration minimale fongicide (CMF).	54

Liste des tableaux

Tableaux N°	La liste des tableaux	N° page
Tableau 01	Classification classique de l'espèce <i>Allium Sativum L</i>	13
Tableau 02	Classification phylogénétique de l'espèce <i>Allium Sativum L</i>	13
Tableau 03	Composision moyenne pour 100g d'ail	17
Tableau 04	Résumé de quelques principes actifs des plantes médicinales	22
Tableau 05	Valeurs critiques des zones d'inhibition dues aux antibiotiques	37
Tableau 06	Screening phytochimique de la poudre d'ail.	42
Tableau 07	Diamètres d'inhibitions des souches étudiées vis-à-vis des antibiotiques	44
Tableau 08	Diamètres des zones d'inhibitions en (mm) de l'extrait méthanolique d' <i>Allium sativum</i> .	46
Tableau 09	Valeurs des CMI et de la CMB ou CMF de l'extrait méthanolique sur les microorganismes étudiées.	51

Introduction

Un grand nombre des plantes, aromatiques, médicinales, des plantes épicées et autres, possèdent des propriétés biologiques très intéressantes, qui trouvent application dans divers domaines à savoir en médecine, pharmacie, cosmétologie. L'évaluation des propriétés phytothérapeutiques comme antioxydant et antimicrobienne, demeure une tâche très intéressante et utile, en particulier pour les plantes d'une utilisation rare ou moins fréquentes ou non connues dans la médecine et les traditions médicinales folklorique. Ces plantes représentent une nouvelle source des composés actifs (**Hamidi, 2013**).

Parmi les alliums, l'ail possède l'odeur la plus puissante et pénétrable. Les premiers exposés sur les propriétés physiques et la structure chimique du principal composé odoriférant et antibactérien de l'ail, étaient donnés par **Cavallito et al (1944)**.

En effet, les métabolites secondaires font et reste l'objet de nombreuses recherches in vivo comme in vitro, notamment la recherche des nouveaux constituants naturels tels les composés phénoliques, les saponosides et les huiles essentielles (**Hamidi, 2013**). Les flavonoïdes constituent un groupe des produits naturels appartenant à la famille, des polyphénols, largement représentés dans la quasi-totalité des plantes, faisant partie intégrante de notre nourriture quotidienne. (**Atik bekkara, 2007**). Ils possèdent potentiellement des activités biologiques, anti-inflammatoires, antimicrobiennes et anti-oxydantes.

Les composés soufrés tel que diméthyl sont les plus caractéristiques des extraits d'ail (aqueux, et huiles essentiels) (**Liu et al., 2014 ; Ye et al., 2013**).

Dans ce contexte s'inscrit le présent travail dont le but principal est d'évaluer l'activité antibactérienne et antifongique de l'extrait méthanolique de *Allium Sativum L*, une plante largement utilisée en médecine traditionnelle en Algérie.

Ce travail a été divisé en deux parties : la première partie est une étude bibliographique qui regroupe trois chapitres dont le premier concerne les métabolites secondaires avec description détaillée de la plante étudiée Dans un deuxième chapitre. Alors que le troisième chapitre traite le monde microbien.

La deuxième partie décrit le matériel et les méthodes utilisées dans ce travail et qui porte sur :

- Le screening phytochimique des métabolites secondaires existant dans les bulbes de la plantes.
- Une évaluation de l'activité antimicrobienne de l'extrait de cette plante, par la technique de diffusion en milieu solide (l'aromatogramme) et estimation de la concentration minimale inhibitrice (CMI), bactéricide (CMB) et fongicide (CMF).

Cet aperçu expérimental est suivi par la citation des principaux résultats et leurs interprétations.

Synthèse bibliographique

Chapitre I

Généralités sur les plantes
médicinales

I.1 La phytothérapie

I.1.1 Définition

Traitement ou prévention des maladies par l'usage des plantes, ou la seule partie active de ces plantes ayant des propriétés thérapeutiques. La phytothérapie fait partie des médecines parallèles ou des douces.

Les préparations peuvent être obtenues par macération, infusion, décoction, ou sous forme de teinture, poudre totale, extraits,... etc. Les plantes médicinales peuvent être des espèces cultivées mais dans la plupart des cas des espèces sauvages (**Zaghad, 2009 ; Mohammadi, 2013**).

I.1.2 Les différents types de la phytothérapie

- **L'aromathérapie**

Est une thérapeutique qui utilise les essences des plantes, ou huiles essentielles, substances aromatiques secrétées par de nombreuses familles de plantes. Ces huiles sont des produits complexes à utiliser souvent à travers la peau (**Zaghad, 2009**).

- **La gemmothérapie**

Se font sur l'utilisation d'extraits alcooliques de tissus jeunes de végétaux tels que les bourgeons et les radicules (**Zaghad, 2009**).

- **L'herboristerie**

Correspond à la méthode de phytothérapie la plus classique et plus ancienne. L'herboristerie se sert de la plante fraîche ou séchée ; elle utilise soit la plante entière, soit une partie de celle-ci (**Zaghad, 2009**).

- **L'homéopathie**

A recours aux plantes d'une façon prépondérante, mais non exclusive ; les trois quarts des souches sont d'origine végétale, le reste étant d'origine animale et minérale (**Zaghad, 2009**).

- **La phytothérapie pharmaceutique**

Utilise des produits d'origines végétales obtenues par extraction et qui sont dilués dans de l'alcool éthylique ou un autre solvant. Ces extraits sont dosés en quantités suffisantes pour avoir une action soutenue et rapide. Ils sont présentés sous forme de sirop, de gouttes, de gélules, de lyophilisats (**Zaghad, 2009**).

I.1.3 Les avantages et les inconvénients de la phytothérapie

- **Les avantages**

Malgré les énormes progrès réalisés par la médecine moderne, la phytothérapie offre de multiples avantages. Aujourd'hui, les traitements à base de plantes reviennent au premier plan, car l'efficacité des médicaments tels que les antibiotiques (considérés comme la solution quasi universelle aux infections graves) décroît, les bactéries et les virus se sont peu à peu adaptés aux médicaments et leur résistent de plus en plus (**Zaghad, 2009; Mohammadi, 2013**).

- **Les inconvénients**

Biens sur certaines plantes peuvent s'avérer dangereuses (allant jusqu'à provoquer la mort) mais elles ne seront jamais prescrites à dose minimale. De plus, ce sont des traitements qui conviennent rarement aux enfants ; on les conseille donc rarement (**Zaghad, 2009 ; Mohammadi, 2013**).

I.2 Les plantes médicinales

I.2.1 Définition

Les plantes médicinales sont définies par la pharmacopée comme des plantes dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses. Plus précisément, une partie de plante ou la plante entière est explicitement désignée comme pouvant être utilisée en thérapeutique, et est appelée « drogue végétale » (**Gazengel, 2013**). On appelle drogue végétale tout matériel végétale utilisé en thérapeutique et n'ayant encore subi aucune préparation pharmaceutique. La drogue peut être : la plante entière, une partie de la plante (feuille, racine...), un suc (sécrétion élaborée par la plante) (**Roux et al., 2007**).

I.3 Les métabolites secondaires

I.3.1 Définition

Les métabolites secondaires représentent une variété très large de composés organique sans fonction directe dans la croissance et le développement des plantes. Cependant, ils jouent d'autres rôles important, dans : l'odorat, la protection contre les insectes, les herbivores et les radiations ultra-violetes solaires. Comme ils ont aussi un rôle important dans les interactions de la plante avec son environnement, tel que l'attraction des insectes pollinisateurs (**Greathead, 2003**).

I.3.2 Classification

Les métabolites secondaires sont produits en très faible quantité, il existe plus de 200000 métabolites secondaires classés selon leur appartenance chimique en l'occurrence, les terpènes, les alcaloïdes, les composés acétyléniques, les cires, et les composés phénoliques (**Vermerris, 2006**).

On distingue quatre classes principales :

A. Les polyphénols

Les polyphénols ou composés phénoliques formant une grande classe de produits chimiques qu'on trouve dans les plantes au niveau des tissus superficiels. Ce sont des composés photochimiques polyhydroxylés et comprenant au moins un noyau aromatique à 6 carbones. Ils se subdivisent en sous classes principales ; les acides phénols, les flavonoïdes, les lignines, les tanins... (**Sarni-manchado et al., 2006**).

- **Les acides phénoliques**

Les phénols ou les acides phénoliques sont des petites molécules constituées d'un noyau benzénique et au moins d'un groupe hydroxyle. Elles peuvent être estérifiées, ou étherifiées et liées à des sucres sous forme d'hétérosides. Ces phénols sont solubles dans les solvants polaires, et leur biosynthèse dérive de l'acide benzoïque et de l'acide cinnamique. Les phénols possèdent des activités anti-inflammatoires, antiseptiques et analgésiques (**Wichtl et al., 2009**).

- **Les lignines**

Composés qui s'accumulent au niveau des parois cellulaires (tissus des sclérenchymes ou le noyau des fruits), et au niveau de la sève brute. Ils permettant la rigidité des fibres, et ils sont le résultat d'association de trois unités phénoliques de base dénommés monolignols de caractère hydrophobe (**Sarni-manchado et al., 2006**).

- **Les coumarines**

Les coumarines sont parmi les composés phénoliques les plus connus. Elles sont substituées en C-7 par un hydroxyle. La 7-hydroxycoumarines, connue sous le nom d'ombelliférone. Les coumarines sont de différents types. Elles se trouvent dans de nombreuses espèces végétales et sont connues par leurs activités cytotoxiques, antivirales, immunostimulantes, tranquillisantes, vasodilatatrices, anticoagulantes (au niveau du cœur), hypotensives ; elles sont également bénéfiques en cas d'affections cutanées (**Igor, 2002**).

- **Les quinones**

Ce sont des substances colorées et brillantes, en général rouges, jaunes ou orange possédant deux fonctions cétones. On trouve les quinones dans les végétaux, les champignons, et les bactéries. Les organismes animaux contiennent également des quinones, comme par exemple la vitamine K, qui est impliquée dans la coagulation du sang. Les quinones sont utilisées dans les colorants, dans les médicaments et dans les fongicides (**Kansole, 2009**).

- **Les flavonoïdes**

Le terme « flavonoïde » est dû à leur couleur jaune (= *flavus* en latin) qu'ils engendrent (**Wilson, 1987**). Il désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols (**Seyoum et al., 2006**). Ils sont considérés comme des pigments quasiment universels des végétaux, souvent responsables de la coloration des fleurs, des fruits et des feuilles. A l'état naturel, les flavonoïdes se trouvent le plus souvent sous forme d'hétérosides (**Ghestem et al., 2001**). Ils possèdent une large répartition dans le monde végétal, ils sont distribués dans les racines, tiges, feuilles, graines, écorce et les fleurs des plantes...etc. (**Medic et al., 2003**). Les flavonoïdes sont des dérivés benzo-y-pyranne. Leur structure de base est celle d'un diphényl propane à 15 atomes de carbones (C6-C3-C6), constitué de deux noyaux aromatique qui désignent les

lettres A et B, reliés par un hétérocycle oxygéné, qui désigne la lettre C (**Ghestem et al., 2001**).

Les flavonoïdes peuvent être subdivisés en plusieurs classes dont les plus importantes sont : Flavones, isoflavandiols, flavanols, flavondiols, aurones, chalcones, anthocyanins (**Effendi et al., 2008**).

- **Les tanins**

Ce sont des substances d'origine organique que l'on trouve dans pratiquement tous les végétaux, et dans toutes leur parties (écorces, racines, feuilles, etc.) (**Liang-liang et al., 2010**). Leur structure complexe est formée d'unités répétitives monomériques qui varient par leurs centres asymétriques, leur degré d'oxydation (**Hemingway, 1992**).

On distingue habituellement chez les végétaux supérieurs, deux groupes de tanins différents par leur structure aussi bien que par leurs origines biogénétiques : Les tanins hydrolysables et les tanins condensés (**Bruneton, 1999**).

- **Tanins hydrolysables**

Ce sont des polyesters de glucose (ou de molécules apparentées) et d'un nombre variable d'acide phénolique qui est : soit l'acide gallique dans les cas tanins gallique ; soit l'acide hexahydroxydiphénique (HHDP) et ses dérivés d'oxydation dans le cas des tanins éllagiques (**Ghestem et al., 2001**).

- **Tanins condensés**

Les tanins condensés sont des polymères flavanoliques constitués d'unités flavan-3-ols, les ont plus souvent épicatechine et catéchine. Les tanins condensés sont des molécules hydrolysables, leur structure est voisine de celle des flavonoïdes et est caractérisée par l'absence de sucre (**Sarni et al., 2006**).

B. Les alcaloïdes

Un alcaloïde est une substance organique azotée d'origine végétale à caractère alcalin et présentant une structure moléculaire hétérocyclique complexe. Chez de nombreuses plantes, les alcaloïdes se localisent dans les pièces florales, les fruits ou les graines, ces substances sont trouvées concentrées dans les vacuoles (**Krief, 2003**). Ce sont

des composés relativement stables qui sont stockés dans les plantes en tant que produits de différentes voies biosynthétiques (**Judd et al., 2002 ; Kansole, 2009**).

La plupart des alcaloïdes sont dérivés des acides aminés tels que le tryptophane, l'ornithine, la lysine, l'asparate, l'antranilate, la phénylalanine et la tyrosine. Ces acides aminés sont décarboxylés en amines et couplées à d'autres squelettes carbonés (**Boukri, 2014**).

Ils sont caractérisés par une solubilité faible dans l'eau, facilement soluble dans l'alcool et peuvent donner des colorations spécifiques avec certains réactifs (réactifs de Mayer, de Dragendorff, de Wasicky, de Bouchardat) (**Kansole, 2009**).

Les propriétés toxiques ou médicamenteuses des alcaloïdes font de ce groupe de métabolites secondaires un intérêt particulier. Au niveau du système nerveux central ils agissent comme dépresseurs (morphines, scopolamines) ou comme stimulants (caféines, strychnine,...) (**hopkins, 2003; wichtel et anton, 2009**).

C. Terpènes et Stéroïdes

Les terpénoïdes sont une vaste famille de composés naturels près de 15000 molécules différentes avec un caractère généralement lipophile. Leur grande diversité est due au nombre de base qui constituent la chaîne principale de formule $(C_5H_8)_n$. Selon la variation du nombre n , les composés résultants seront soit des monoterpènes, sesquiterpènes, diterpènes, ou triterpènes,... (**Wichtl et Anton, 2009**). Ces molécules se présentent sous forme d'huiles essentielles ; parfums et donnent le goût aux plantes. Elles peuvent également être des pigments (carotène), des hormones (acide abscissique), ou stéroïdes (cholestérol) (**Hopkins, 2003**).

D. Les saponines

Le mot saponine est dérivé du mot latin *sapo*. Les saponines ont reçu leur nom du fait qu'elles produisent une mousse semblable à celle du savon. Les saponines sont des glycosides à poids moléculaire élevé, regroupant un ensemble complexe et chimiquement très diversifié de molécules triterpéniques ou stéroïdes. Elles se composent d'une fraction aglycone hydrophobe (un noyau stéroïdique ou triterpénique) liée à une chaîne mono ou polysaccharidique hydrophile (**Hart et al., 2008**).

I.4 Activité antimicrobienne des extraits des plantes

Si la découverte et l'utilisation des antibiotiques ont été à l'origine des plus grands succès de la médecine, aujourd'hui, l'émergence et la diffusion des bactéries multi-résistantes dans les populations humaines sont devenues des problèmes de santé publique très préoccupants (Toty et al., 2013).

La progression de la multi-résistance et l'absence de réelles perspectives de découverte de nouveaux antibiotiques dans les années à venir, nous a conduits à étudier l'efficacité des plantes à vertus thérapeutiques afin d'en isoler les principes actifs. (Toty et al., 2013).

Ces derniers doivent posséder une efficacité plus importante que les drogues synthétiques d'une part et bien accepté par l'organisme d'autre part (sans exercer des effets délétère sur la santé humaine) (Garcia-Ruiz et al., 2008).

Beaucoup de groupes de recherches ont étudié l'activité antimicrobienne des extraits de plantes médicinales telles que fenel (*Foeniculum vulgare*), peppermint (*Mentha piperita*), thyme (*Thymus vulgaris*), ils ont trouvé que ces extraits sont actifs non seulement contre les bactéries mais aussi contre les champignons, les levures et les virus (Jurgen et al., 2009).

I.4.1 Activité antimicrobienne des polyphénols

La thérapeutique des infestions bactériennes se base principalement sur l'usage des antibiotiques. La prescription à grande échelle et parfois inappropriée de ces agents peut entraîner la sélection des souches multi-résistantes d'où l'importance d'orienter les recherches vers la découverte de nouvelles voies qui constituent une source d'inspiration de nouveaux médicaments à base des plantes (Billing et Sherman, 1998).

De nombreuses études in vitro menées sur les composés phénoliques les ont confirmés comme agents antimicrobiens contre un grand nombre de microorganismes pathogènes, avec des spectres d'activités variables (Scalbert, 1999).

Les polyphénols sont doués d'activités antimicrobiennes importantes et diverses, probablement dû à leurs diversités structurales. Les sites et le nombre des groupes hydroxyles sur les groupes phénolique sont supposés être reliés à leur relative toxicité

envers les microorganismes, avec l'évidence que le taux d'hydroxylation est directement proportionnel à la toxicité (Cowan, 1999).

Parmi les composés phénoliques, les flavonoïdes avec leurs différentes classes dont les plus importantes sont : les flavones, flavonols, flavonones, flavonones 3-oles, flavanes-3,4 dioles, et les anthocyanidines ont un grand potentiel antibactérien :

- en se complexant avec des composants des parois avec inhibition de la croissance microbienne.
- en perturbant leurs métabolismes énergétiques.

D'autre part, les tanins sont largement connus par leurs propriétés inhibitrices des microorganismes et des enzymes grâce à leur pouvoir à former des complexes stables avec les protéines et en les précipitant. Ils exercent une activité antibactérienne par interaction avec la membrane cellulaire qui induit un changement morphologique de la bactérie, en inhibant l'activité des protéases, des protéines de transport et des adhésines (Djenadi, 2011).

Chapitre II

Notion sur la plante investiguée
« Allium sativum »

II.1 Description de la plante

D'un point de vue de botanique, la plante que nous connaissons sous le nom d'ail est en réalité une des trois cents espèces du genre *Allium*. Son nom complet est l'ail cultivé, de son nom scientifique *Allium sativum*. Il s'agit d'une plante herbacée, vivace, glabre de la famille des *Alliaceae* (anciennement classée sous les *liliaceae*) pouvant atteindre 25-90 cm ; le bulbe solitaire, déprimé globuleux à ovoïde, atteignant 7 cm de diamètre, blanc à violacé il est formé de caïeux « les gousses » à tunique membraneuse, insérés sur un plateau aplati, entourés d'une tunique protectrice, blanches, mauves, rouges ou violettes selon les variétés; la tige est cylindrique, feuillée jusqu'au milieu, avec des racines adventives en dessous, enroulée en cercle avant la floraison ; les feuilles sont linéaires, engainantes planes, lisses, à ombelles globuleuses de fleurs blanches ou rougeâtres entourées d'une longue spathe caduque terminée en pointe très longues (Grubben, 2004).

L'odeur est faible et se développe (forte et soufrée) dès que les tissus sont lésés (Grubben, 2004).

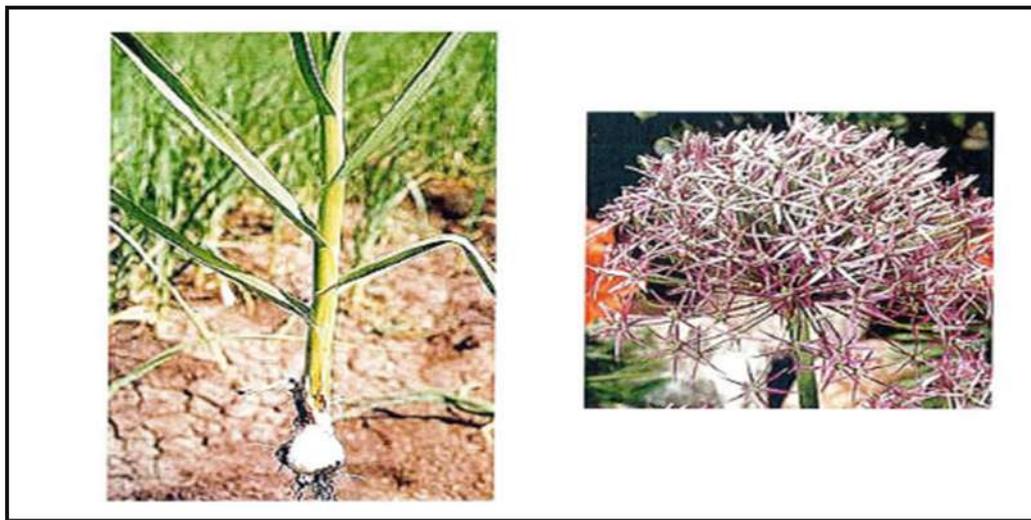


Figure.01 *Allium sativum* L [1].

II.2 Origine de la plante

L'ail provient à l'origine d'Asie centrale. Il y a environ 10 000 ans, il s'est répandu progressivement en Extrême, en Arabie, en Égypte et dans le Bassin méditerranéen, transporté par les marchands au gré des routes commerciales. Ce bulbe est sans doute l'un des légumes

les plus anciennement cultivés par l'homme qui l'utilisait autant pour son alimentation que pour sa santé (**Bachmann, 2008**).

Son expansion aurait débuté il y a plus de 5000 ans. Sa capacité à être cultivé aussi bien dans un climat tempéré que dans un climat chaud a joué un rôle majeur dans cet essor. Il aurait été introduit en chine par les tribus nomades et se serait propagé jusqu'en Asie du Sud-Est.

Vers 2000 ans avant J.-C., il traversa le Moyen-Orient et atteignit l'Égypte, où marchands et nomades contribuèrent à le répandre dans le sud de l'Europe. Les phéniciens le transportèrent plus au nord en Europe méridionales. Les Romains l'introduisent en Europe de l'ouest dans les provinces qu'ils conquièrent, dont la Grande-Bretagne. Plus tard, l'ail voyagera sur les mers du globe emporté par les Vikings. C'est lors de la découverte du nouveau continent par Christophe Colomb, que l'ail arriva en Amérique. Il s'étendit ensuite au sud et au nord, après une période d'acclimatation. Ce sont les écrits qui ont permis de reconstituer son expansion et son utilisation par les diverses civilisations. L'ail est mentionné sur des papyrus égyptiens, dans les écrits védiques (textes religieux d'Inde orientale, considérés comme sacrés dans l'Indouisme) ou dans la thora [2, 3].

Il est aujourd'hui cultivé dans les deux hémisphères, de l'équateur à des latitudes de 50°, mais est surtout apprécié en chine, dans la méditerranée et en Amérique latine (**Grubben, 2004**).

II.3 Classification et diversité

II.3.1 Classification

Les liliaceae sont des monocotylédones cosmopolites, comprenant plusieurs milliers d'espèces. Vivaces le plus souvent caractérisées par un rhizome ou par un bulbe, surtout dans les pays tempérés (ex : tulipe, jacinthe, muguet, oignon, ail, scille), elles sont parfois un port d'arbre ou de liane dans les pays chauds (ex: aloès, yucca, dragonnier) (**Callery, 1998**).

Le genre *Allium* comprend plusieurs centaines d'espèces (ex: poireau, oignon, ciboule) originaire de l'hémisphère Nord (**Callery, 1998**).

La position systématique d'*Allium sativum* L est ainsi résumée dans le tableau (01) et (02).

Tableau.01 : classification classique de l'espèce *Allium sativum* L (Callery, 1998).

Règne	<i>Plantae</i>
Sous- Règne	<i>Tracheobionta</i>
Embranchement	<i>Magnoliophyta</i>
Classe	<i>Liliopsida</i>
Sous classe	<i>Liliidae</i>
Ordre	<i>Liliales</i>
Famille	<i>Liliaceae</i>
Genre	<i>Allium</i>
Espèce	<i>sativum</i> L

Tableau.02 : Classification phylogénétique de l'espèce *Allium sativum* L (Callery, 1998).

Ordre	<i>Asparagales</i>
Famille	<i>Alliaceae</i>
Nom scientifique	<i>Allium sativum</i> L
Nom commun	Ail, ail cultivé, ail à tige tendre, thériaque des pauvres.
Nom vernaculaire arabe	Ēæã
Parties utilisés	Bulbes.

II.3.2 variété

Il n'existe pas une variété d'ail, mais plusieurs dizaines. Elles se distinguent par leur saison de récolte, la couleur et la grosseur de leurs bulbes, leur saveur, leur durée de conservation...

On distingue principalement deux sous-espèces d'ail, en fonction de la saison où les plants sont mis en terre:

- **L'ail d'automne**, planté à l'automne et récolté au début de l'été. Il est principalement originaire du sud de la France. Il se présente sous forme de gros *bulbes* (100 à 130g). On trouve dans cette famille de l'ail violet (qui est très précoce) et l'ail blanc (**Lefief- Delcourt, 2012**).

- **L'ail de printemps**, planté à la fin d'hiver ou au tout début du printemps, et récolté dans le courant du mois de juillet; sa tête est plus petite que celle de l'ail d'automne mais il se conserve plus longtemps. Il s'agit de l'ail rose. Cette couleur est celle de la peau qui recouvre les gousses (**Lefief- Declourt, 2012**).

II.4 Condition de culture et récolte

II.4.1 Condition de culture

La culture de l'ail se fait dans une large gamme de sols, mais préférablement des sols légers, bien drainés, riches en matière organique et qui possèdent une bonne capacité à retenir les éléments nutritifs ainsi que l'humidité. Les sols lourds ne sont pas recommandés puisqu'ils ont tendance à durcir lors des périodes sèches et à limiter l'expansion des bulbes qui prennent une forme irrégulière [4]. Les sols sableux et trop légers exigent une régie de culture plus rigoureuse afin d'assurer le maintien de la fertilité des sols et l'humidité nécessaire. La grosseur des bulbes est directement liée à la croissance végétative de la plante: plus la tige sera grande et développée avant l'initiation du développement du bulbe et des gousses, plus les rendements seront élevés [5]. Le pH idéal se situe entre 6,5 et 7,0 et le chaulage doit être ajusté avant la plantation. Les caïeux peuvent tolérer des gels allant jusqu'à -18°C mais il est important que l'endroit de la plantation bénéficie d'une bonne couverture de neige pour assurer un bon taux de survie [4].

L'ail est sensible à l'acidité du sol et à la toxicité aluminique, conditions qui peuvent être améliorées par l'application de calcaire finement broyé dans le sillon de plantation, à raison de 2 t/ha dans des sols à des pH < 6 (Grubben, 2004).

II.4.2 Récolte

Quelque soit la période de plantation (automne ou printemps), la récolte a lieu de juillet à août, quand les feuilles commencent à jaunir et se dessécher, soit 100- 120 jours après plantation, selon les cultivars et les conditions de culture; en altitude, l'ail peut demander 150 jours pour atteindre sa maturité. Si les tuniques protectrices des bulbes ne sont pas tout à fait sèches à la récolte, on les sèchera au champ. Il faudra le conserver dans un endroit sec et à l'abri de la lumière pour éviter qu'il ne germe (Grubben, 2004).

II.5 Composition chimique

Les constituants les plus représentatifs sont les composés sulfurés primaires (S- alkyl-L-cystéine- sulfoxides) incluant l'alliine et les peptides γ - glutamylcystéine (Amagase et al., 2001).

II.5.1 L'alliine

L'alliine ou sulfoxyde de S-allyle-L-(+)-cystéine est un composant inodore et représente environ 24% du poids total du bulbe. Lorsque les tissus sont coupés ou broyés, elle est dégradée par une enzyme, l'alliinase (= S-alkyl-L-cystéine sulfoxyde lyase), en acide pyruvique et acide-2-propènesulfénique, ce dernier étant aussitôt transformé en allicine (0,3% de la masse fraîche) composant principale du gout de l'ail cru. L'allicine est aussi instable, en particulier à la cuisson et se convertit en disulfure de diallyle, composant principale du gout de l'ail cuit. L'oxydation de l'air de l'allicine conduit au 1,7- dithiaocta—4,5 diène, connu sous le nom de disulfure de diallyl: c'est le constituant majoritaire de l' « essence » d'ail (Bruneton, 2009).

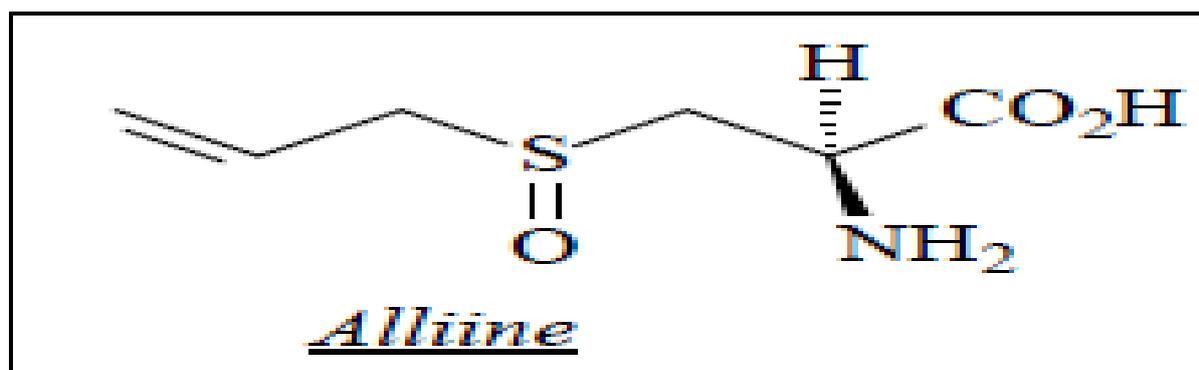


Figure.02: Structure chimique de l'Alliine (Benzeggouta, 2005).

II.5.2 Les peptides γ -glutamylcystéine (GSAC), téine

Un bulbe contient en moyenne plus de 0,9% de γ -glutamylcystéine. Ces peptides constituent une famille de plusieurs dérivés tels que le γ -glutamyl-S-allylcystéine (GSAC), le γ -glutamyl-S-methylcystéine (GSMC) et le γ -glutamyl-S-propylcystéine (GSPC). Ces peptides sont des intermédiaires de biosynthèse pour les cystéines sulfoxides correspondant (Medjeldi Merzougui, 2012).

Outre les composés organosoufrés, l'ail contient des glucosides stéroïdiens, des lectines, des prostaglandines, des fructanes, des saponosides (hétérosides de furostanols: sativosides, proto-érubosides-B...etc), des pectines, une huile essentielle, des vitamines (B1, B2, B6, E,C), de la biotine, de l'acide nicotinique, des acides gras, des glycolipides, des phospholipides, des anthocyanosides, des flavonoïdes et des acides aminés essentiels (Goetz et Ghédira, 2012).

La forme la plus utilisée pour les essais cliniques est la poudre d'ail, 300mg de poudre étant équivalents à 1g d'ail frais (Bruneton, 2009).

Tableau.03 : Composition moyenne pour 100g d'ail (Lefeif-Delcourt, 2012).

Valeurs énergétique	135Kcal	Minéraux et oligo-éléments	Vitamines
Eau	64g	Soufre 200mg	Vitamine C 30mg
Glucides	27,5g	Phosphore 144mg	Vitamine B6 1,2mg
Protides	6g	Magnésium 21mg	Vitamine B1 0,2mg
Lipides	0,1g	Sodium 10mg	Vitamine E 0,1mg
Fibres	3g	Fer 1,4mg	Vitamine B2 0,08mg

II.6 Utilisations et propriétés

L'ail est d'abord utilisé en cuisine pour relever le goût des aliments, mais ses nombreuses propriétés thérapeutiques en font un complément alimentaire prisé. En effet, des qualités antimicrobiennes, antioxydantes, anti-inflammatoires, antitumorales et de prévention du Cancer lui ont été reconnues. En outre, il aurait le pouvoir d'inhibant la coagulation, de réduire l'hypercholestérolémie et le taux de lipides sanguins, ou encore de faciliter la digestion. L'ail prévient aussi le risque de thrombose et d'athérosclérose. Enfin, il diminue l'hyperglycémie et la tension sanguine (Bruneton, 1999; Silagy et Neil, 1994).

II.6.1 Culinaire

Les usages culinaires de l'ail sont nombreux. Aujourd'hui, les bulbes sont utilisés frais mais aussi séchés, en granules ou en poudre comme condiment. Les gousses entières peuvent être cuites à la vapeur ou au four. Le sel d'ail est très utilisé pour aromatiser les aliments. Depuis quelques années, on trouve sur le marché, des fleurs d'ail qui sont en fait les hampes florales coupées dès leur apparition. Elles sont consommées cuites ou marinées [6].

Quand on cuit de l'ail, certains conseillent de retirer le germe, qui serait moins digeste que le reste de la gousse en raison d'une plus grande concentration de produits organo-sulfurés (Najja et al., 2010).

II.6.2 Pharmacologique

L'ail était considéré comme *une panacée* (remède à tous), et ce jusqu'au Moyen Age, quand les grandes épidémies de peste mirent alors ses vertus à rude épreuve. Il était utilisé comme remède sous forme de vinaigre à l'ail, ou encore avec d'autres aromates et épices Pour combattre la contagion (**Satiadev, 1998**).

- **Propriétés antimicrobiennes**

Louis Pasteur, en 1858, était le premier à avoir constaté que l'ail tue les bactéries. Durant la Première Guerre mondiale, l'ail a été utilisé pour combattre le typhus et la dysenterie, ainsi que comme désinfectant pour les plaies. Durant la Seconde Guerre mondiale, les Russes, à court d'antibiotiques, utilisaient massivement l'ail, qui fut alors appelé «pénicilline russe ». Les Irlandais, les Danois et les Russes utilisaient l'ail, il y a des centaines d'années pour traiter la toux et le froid (**Shaath et al., 1995**).

Dans les années 1990, de nombreuses études scientifiques ont porté sur les différents effets thérapeutiques attribués à l'ail. Les recherches ont permis de démontrer que L'allicine serait responsable du pouvoir antimicrobien de l'ail, principalement sur les entérobactéries et sur certains streptocoques et staphylocoques. Il est donc couramment conseillé pour lutter contre les troubles digestifs [6].

L'utilisation d'ail comme antibactérien naturel dans des préparations tomatées a également été Proposée (**Du et al., 2009**).

Des études récentes montrent l'activité antimicrobienne de l'huile macérée de l'ail contre, des bactéries à Gram positif et à Gram négatif, des levures et même peut inhiber la croissance de la bactérie *Helicobacter pylori* responsable du cancer de l'estomac (**Ohta et al., 1999; Yoshida et al., 1998; Yoshida et al., 1999**).

- **Propriétés antioxydantes**

La désoxyalliine, l'alliine, l'allicine, et le diallyldisulfide, Ces quatre molécules captent les hydroxyles HO[•], mais seule l'alliine capte les superoxydes O₂^{•-} (alors que l'allicine empêche leur formation). Les flavonoïdes de l'ail sont également reconnus pour leur capacité antioxydant (**Chung, 2006**).

Les radicaux oxygénés libres, dont font partie les hydroxyles et superoxydes, sont connus pour leur action sur le vieillissement et la formation de cellules cancéreuses. Les antioxydants permettant de neutraliser ce type de composés (**Dethier, 2010**).

- **Propriétés anti-inflammatoires**

Des études ont mis en évidence l'activité anti-inflammatoire et antiarthritique de la thiacremonone, un composé organo-soufré de l'ail. Les diallyl disulfide et trisulfide ainsi que l'huile d'ail, administrées à des doses précises, diminuent l'apoptose et l'ulcération de cellules intestinales endommagées (**Chiang et al., 2006**). Cependant, si la quantité conseillée est outrepassée, des effets toxiques sont observés (**Dethier, 2010**).

- **Propriétés préventives vis-à-vis du cancer**

La prise régulière d'ail dans l'alimentation quotidienne semble avoir un rôle dans la prévention des cancers (**Jung, 2005**). Les macérats d'ail et d'oignon dans l'huile ont des propriétés antitumorales, supprimant la croissance et l'activité de cellules leucémiques HL60 (**Ariga et al., 2000**).

Le principe actif impliqué dans cette propriété serait l'allicine, qui a montré une action inhibitrice sur des tumeurs (**Jung, 2005**). La S-allylcystéine (composé stable et inodore) inhiberait le processus de cancérogénèse (**Amagase et al., 2001**).

- **Inhibition de l'agrégation plaquettaire et propriétés antithrombiques**

Trois composés au moins, dont le diallyle trisulfide, la 1,3-vinyldithiine et l'ajoène, sont cités comme antiagrégants (**Block et al., 1992**). L'adénosine, l'allicine et l'alliine possèdent également ce pouvoir *in vitro*. La quercétine, bien que présente à l'état de trace uniquement, possède également cette propriété *in vitro* et *in vivo* (**Hubbard et al., 2004**).

- **Propriétés hypocholestérolémiantes, diminution du taux de lipides sanguins et de l'athérosclérose**

Un extrait d'ail (dans du chloroforme ou dans un mélange acétone/chloroforme) inhibe la synthèse du cholestérol de 44 à 52 % *in vitro*. Les composés soufrés ajoène, méthylajoène, allicine, 1,3-vinyldithiine et diallyle disulfide, pris individuellement, inhibent celle-ci dans des proportions situées entre 37 et 72 % (**Sendl et al., 1992**).

Une revue des effets de l'ail sur les lipides et les lipoprotéines du sérum, reprend vingt-cinq tests aléatoires d'une durée moyenne de douze semaines. De façon générale, les individus supplémentés en ail (sous diverses formes: poudre d'ail, ail cru, macérât, ou

extrait d'ail âgé) montrent une diminution de 12 % en moyenne de leur cholestérol total, ainsi qu'une réduction de 13 % des triglycérides sanguins (uniquement dans le cas de la poudre). Les auteurs suggèrent néanmoins une étude mieux conçue avant d'en tirer des conclusions (**Silagy et Neil, 1994**).

Un accroissement de l'activité fibrinolytique, dans le sérum de patients souffrant d'athérosclérose et à qui des extraits d'ail aqueux, des huiles essentielles ou de la poudre d'ail furent administrés, a été observé (**Harenberg et al., 1988**).

- **Effet sur la digestion**

L'ail est reconnu comme une plante carminative, soulageant la détresse épigastrique et abdominale, les éructations, les flatulences, les coliques et la nausée (**Damrau et Ferguson, 1949**). LORAND a émis l'hypothèse que l'ail augmenterait la sécrétion de suc gastrique et désinfecterait l'intestin (**Leclerc, 1976**).

- **Propriétés hypoglycémiantes**

L'association de sulfures organiques avec un produit non sulfuré présente les caractères d'un alcaloïde. Ce principe actif dépourvu de soufre, est inactif par lui-même et n'acquiert son pouvoir hypoglycémiant que par l'association avec les composés sulfurés du suc d'ail ou la combinaison aux sulfures d'allyle ou de diallyle purs (**Daif, 1993**). Il semblerait que l'éventuel pouvoir hypoglycémiant de l'ail soit dû à l'allicine et au disulfure d'allylpropyle (**Girre, 2001**).

- **Autres propriétés:**

L'ail possède également des propriétés antiseptiques et parasitocides. Il a prouvé son activité antifongique (**Wichtl et Anton, 2003**) sur *Microsporum*, *Tricophyton*, *Candida*, *Cryptococcus* et *Aspergillus* (**Daif, 1993**). Les études de l'Institut des Plantes Médicinales de Poznan (Pologne) ont montré son action importante sur les dermatophytes (**Grun-Thomas, 1998**).

Le principe actif antifongique serait l'allicine. Son pouvoir bactéricide est égal au centième de celui de la pénicilline. Les ajoènes auraient une activité contre *Candida albicans*. Les saponines stéroïdiennes contenues dans l'ail auraient aussi un rôle

antifongique et antibactérien. L'éruboside B a une activité contre *Candida albicans* comparable à l'activité de l'allicine et des ajoènes (Jung, 2005).

En Chine, l'ail est utilisé depuis 1964 pour ses propriétés antivirales dans le traitement de la méningite encéphalite virale aiguë et de la méningite à *Cryptococcus* (Grun-Thomas, 1998).

Il entre dans la composition de remèdes contre les affections respiratoires et bronchiques. L'alcoolature d'ail a été utilisée dans les tuberculoses pulmonaires. L'ail peut aussi avoir des effets dans les gangrènes pulmonaires. Il a également certaines propriétés curatives et préventives dans la coqueluche (Leclerc, 1976). Il possède aussi des propriétés expectorantes (Schauenberg, 1977).

Plusieurs études ont démontré que l'ail cru aurait plus de propriétés que l'ail cuit. Cela serait dû à la dégradation, par la chaleur, de l'enzyme responsable de la production d'allicine (allinaase) et d'autres composés sulfurés, ainsi qu'à la diminution de la quantité d'antioxydants (Gorinstein et al., 2006; Tattelman, 2005).

L'huile essentielle possède les mêmes usages et propriétés que l'ail frais ou ses extraits (Elnima et al., 1983; Leung, 1980).

Les composés soufrés volatiles spécialement: allicine, diallyl disulfure, diallyl trisulfure, ajoènes, vinyldithiines, sont généralement considérés responsables de la plupart des activités pharmacologiques (Amagase et al., 2001; Block et al., 1992; Leung, 1980; O'gara et al., 2000; Ross et al., 2001; Tsao et Yin, 2001; weber et al., 1992; Winkler et al., 1992; Yoshida et al., 1998; Yoshida et al., 1999).

II.7 Eléments actifs des plantes

Les effets curatifs de certaines plantes sont bien connus. La camomille allemande par exemple, est utilisée depuis des milliers d'années contre les troubles digestifs. L'aloès était déjà connu du temps de Cléopâtre, où il servait à adoucir la peau. Or, ce n'est que récemment que les éléments actifs à l'origine des actions thérapeutiques des plantes ont été isolés et étudiés. Il est indispensable de connaître la composition des plantes pour comprendre comment elles agissent sur l'organisme (Iserin, 2001).

Tableau.4 : résumé de quelques principes actifs des plantes médicinales (Bruneton, 1999; Benhamza, 2008; Iserin, 2001).

principes actifs des plantes médicinales	Effets
Phénols	Anti-inflammatoires et antiseptiques.
Flavonoïdes	Anti-inflammatoires, antivirales et des effets protecteurs sur le foie.
Tanins	Astringentes, cytostatiques et bactéricides.
Anthocyanes	Puissants antioxydants nettoient l'organisme des radicaux libres.
Coumarines	Fluidifie le sang, soigne les affections cutanées, et un puissant vasodilatateur coronarien.
Saponines	Synthétise la pilule contraceptive, facilitent l'absorption des aliments.
Antraquinones	Ils contribuent à transférer les liquides des tissus et du système circulatoire vers les conduits urinaires.
Glucosides Cyanogéniques	Un effet sédatifs et relaxant sur le cœur et les muscles, permettent de supprimer ou de calmer les toux sèches et irritantes.
Polysaccharides	Utilisée pour calmer et protéger les tissus enflammés, ou la paroi des intestins enflammée et douloureuse.
Glucosinolates	Appliqués comme cataplasme sur les articulations douloureuses, ils augmentent les flux sanguin dans la zone irritée, favorisant ainsi l'évacuation des toxines.
Substances amères	Stimule les sécrétions, augmente l'appétit et améliore la digestion.
Alcaloïdes	Lorsqu'elles sont bien dosées, elles deviennent des médicaments puissants.
Huiles essentielles	Elles sont largement employées en parfumerie et ont de multiples propriétés notamment antiseptiques.

Chapitre III

Le monde microbien

III-1 vue d'ensemble sur le monde bactérien

L'examen superficiel du monde microbien montre que les bactéries sont un des groupes les plus importants quel que soit les critères utilisés : nombre des organismes, importance écologique, ou importance pratique pour l'homme. En outre, la plus grande partie de notre compréhension des phénomènes en biochimie et en biologie moléculaire vient de la recherche sur les bactéries (**Singleton, 2005**).

Les bactéries sont des micro-organismes unicellulaires classées parmi les procaryotes, car ils ne possèdent pas de membrane nucléaire, ce caractère les distingue des autres organismes unicellulaires classés parmi les eucaryotes (champignons, algues, protozoaires). On distingue aussi les bactéries proprement dites (Bacteria) des bactéries primitives (Archaea). Toutes les bactéries rencontrées en pathologies appartiennent aux bactéria (**Singleton, 2005**).

Les cellules procaryotes ont généralement un diamètre inférieur à 1µm. on peut les voir au microscope optique à l'état frais ou après coloration. Leur forme peut être sphérique (Cocci), en bâtonnet (bacilles), incurvée (vibrion) ou spirale spirochètes. Les détails de leur structure ne sont visibles qu'en microscopie électronique (**Nauciel et al., 2005**).

Les caractères morphologiques parois et membranes, ou autres structures tels que les antigènes somatiques, capsulaires, flagellaires....., représentent une architectures essentielle pour s'adapter aux situations de l'environnement (température, osmose, pH) et pour se fixer sur des supports (cellules), se nourrir, coloniser, infecter et pour résister aux substances antibactériennes (**Leclerc et al., 1995**).

III.2 Culture des bactéries

Les bactéries d'intérêt médical les plus fréquemment responsable d'infections arrivent à se développer sur des milieux de culture. Ces milieux doivent contenir les éléments nécessaires à la survie et à la multiplication des bactéries et doivent posséder les propriétés physico-chimiques convenant à cette culture (pH en particulier).les milieux sont de différentes types. Il s'agit soit de milieux de base, permettant la croissance d'espèces non ou peu exigeantes, soit de milieux enrichis par l'addition de diverses substances

(sérum, œuf, sang, vitamines, etc.) qui autorisent la croissance de bactéries plus exigeantes. Il peut s'agir également de milieux rendus sélectifs par addition d'antibiotique, d'antiseptiques ou de colorants qui vont inhiber les bactéries sensibles à ces composés (Denis et al., 2013).

Un milieu de culture peut être une préparation solide ou liquide, utilisé pour faire croître, pour transporter et conserver des micro-organismes (Lansing et al., 2003).

En milieu liquide, les bactéries se dispersent librement et leur multiplication se traduit par un trouble, le plus souvent homogène. Sur milieu solide, les bactéries se disposent à la surface (Nauciel et al., 2005).

Ces milieux de culture sont indispensables à la multiplication bactérienne ce qui permet par la suite une identification bactérienne ainsi que l'étude de la sensibilité aux antibiotiques lorsque la bactérie est isolée en culture pure (Denis et al., 2013).

III-3 Description des germes étudiés

III-3-1 Les bactéries

a- les bactéries à Gram positif

Les bactéries à Gram positif sont mises en évidence par une technique de coloration appelée coloration de Gram. Les bactéries à Gram positif apparaissent alors mauves au microscope. La technique de coloration repose sur les caractéristiques membranaires et de paroi de la bactérie. La coloration au Gram est un facteur déterminant dans la classification bactérienne.

- Genre *Staphylococcus*

* Définition

Observés par Pasteur en 1879 dans un pus de furoncle, les *staphylocoques* doivent leur nom à OGSTON (1881) qui les a mis en évidence dans des abcès aigus et chroniques (Curie, 2003).

Staphylococcus aureus sont des coques (cocci) à Gram positif, isolés ou groupés en diplocoques ou en amas plan de plusieurs éléments (de grec staphylo, grappe de raisin), de

0,8 à 1µm de diamètre, immobiles, non sporulés, catalase positive et oxydase négative. Après culture, les colonies sont lisses, rondes, opaques et bombées. Elles peuvent être pigmentées en jaune doré ou jaune. La grande majorité des *Staphylococcus aureus* sont capsulées, mais les souches peuvent perdre leur capsule après culture (**Curie, 2003**).

S.aureus a un métabolisme aérobie prédominant et anaérobie facultatif. Il est habituellement capable de fermenter le mannitol. Ce caractère est souvent, mais pas obligatoirement, associé à la pathogénicité (**Curie, 2003**).

Le milieu de Chapman est un milieu gélosé hyper salé (7,5% de NaCl) qui contient du mannitol, il permet une culture abondante de *S.aureus* après une incubation de 24-48 heures. La fermentation se traduit le virage au jaune du milieu de culture (**Curie, 2003**).

* **Habitat**

Ce sont des bactéries ubiquitaires et saprophytes qui peuvent occasionnellement coloniser la peau et les muqueuses de l'homme et des animaux (rhino-pharynx, intestin) (**Berch et al. 2003**). On le trouve sur la muqueuse (principalement, les fosses nasales) et des zones cutanées humides (épisiotomie, aisselles) (**Nauciel et al., 2005**).

* **Pouvoir pathogène**

S.aureus est un germe pyogène par excellence (le microbe de la suppuration) (**Curie, 2003**). Elle est l'une des causes majeures d'infections humaines, responsable en milieu communautaire de 1 à 5% des infections observées. En milieu hospitalier, 10 à 20% des septicémies sont dues à *Staphylococcus aureus* (**Berch et al., 2003**).

Responsable de diverses infections purulentes : furoncles, anthrax, infections des plaies, ostéomyélites ou post-chirurgicales ainsi que dans les arthrites suppurées. Il peut être également responsable de gastro-entérites alimentaires (**Leclerc et al., 1995**).

Des atteintes pulmonaires peuvent s'observer notamment chez le nourrisson et chez les malades sous ventilation assistée. Elles peuvent parfois se compliquer de pleurésie purulente (**Leclerc et al., 1995**).

*** Sensibilité aux antibiotiques**

Les souches communautaires sont généralement résistantes aux pénicillines G et A, mais sensible aux pénicillines M (et aux céphalosporines). Elles sont souvent sensibles aux macrolides, aux synergistines, et aux fluoroquilonones (Nauciel et *al.*, 2005 ; Denis et *al.*, 2013).

b- les bactéries à Gram négatif

Les bactéries à Gram négatif sont mises en évidence par une technique de coloration appelée coloration de Gram. Les bactéries à Gram négatif apparaissent alors roses au microscope.

La technique de coloration repose sur les caractéristiques membranaires et de paroi de la bactérie. La coloration de Gram est un facteur déterminant dans la classification bactérienne.

- **Genre *Escherichia***

*** Définition**

Escherichia coli est l'espèce la plus fréquemment isolée dans le laboratoire de bactériologie. Elle est colibacille, mobile (flagellés péritriches), isolées ou par paires et provus de fimbriae. Pratiquent la fermentation ou la respiration nitrique en anaérobiose. Fermentent le glucose via la fermentation acide mixte (Singleton, 2005). Elle est aussi capable de fermenter le lactose et de produire de l'indole (Curie, 2003).

*** Habitat**

C'est l'espèce dominante de la flore aérobie du tube digestif. *E.coli* ou colibacille est habituellement une bactérie commensale. Elle peut devenir pathogène si les défenses de l'hôte se trouvent affaiblies ou si elle acquiert des facteurs de virulence particuliers (Denis et *al.*, 2013).

*** Pouvoir pathogène**

Les infections à *E.coli* sont de deux types :

- L'infection intestinale

Responsable de gastro-entérites ayant des traductions cliniques variables : diarrhée d'allure banale, diarrhée sanglante, diarrhée cholériforme. Chez le nourrisson, elle peut entraîner assez rapidement un état de déshydratation (Nauciel et al., 2005 ; Denis et al., 2013).

- Les infections extra-intestinales

E.coli est la bactérie la plus souvent en cause dans les infections urinaires ; elle est plus fréquente chez la femme en raison de la brièveté de l'urètre. Chez l'homme, l'infection est généralement secondaire à un obstacle sur les voies urinaires. Elle peut se compliquer de prostatite, et peut se traduire aussi par une méningite ou une septicémie qui peut s'agir d'infections communautaires ou nosocomiales (Nauciel et al., 2005 ; Denis et al., 2013).

*** Sensibilité aux antibiotiques**

Les souches de type sauvage sont sensibles à tous les antibiotiques actifs sur les bactéries à Gram négatif. Malheureusement beaucoup de souches ont acquis des résistances surtout en milieu hospitalier. Il s'agit en particulier de souches productrices de pénicillinase (Leclerc et al., 1995).

III-3-2 Les champignons

Champignons microscopiques unicellulaires possédant un seul noyau et se reproduisant soit de façon asexuée par bourgeonnement ou scissiparité, soit par reproduction sexuée par formation de spores. Les levures constituent un thalle Particulier dans lequel les cellules restent agglomérées en colonies. Chaque levure représente la forme végétative, et dans la plupart des cas, la forme de résistance et de dissémination de l'espèce.

- **Définition**

Candida appartient à la classe des Deutéromycètes. Au sein des levures, le genre *Candida* anciennement appelé *Monilia* compte actuellement 166 espèces et regroupe les levures non pigmentées formant des colonies blanches crémeuses. La nomenclature des différentes étapes 5 morphologiques du développement de *Candida* a été clairement définie ; les bourgeons incluent la croissance de nouveau matériel à partir d'un site particulier du blastopore. *C. albicans* est capable de passer de l'état commensal à l'état parasitaire (Odds, 1988).

- **pouvoir pathogène**

Les candidoses : Bien qu'il soit souvent présenté comme un organisme commensal exclusif des muqueuses respiratoires, digestives et vaginales (Odds, 1988).

III.4 Mode d'action des agents antimicrobiens

Les agents antimicrobiens agissent par différents mécanismes et peuvent être utilisés de diverses manières, selon les objectifs recherchés et leur spécificité d'action qui peut être germicide ou germistatique.

- **Action germicide**

Cette action caractérise les agents ayant une action létale sur les microorganismes. En fonction de la catégorie de microorganismes ciblés, les agents antimicrobiens exercent une action bactéricide (agent antibactérien), algicide (agent anti-algues), fongicide (agent anti champignons), virucide (agent anti-virus) ou antiparasitaire (agent anti-protazoaires). (Bousseboua, 2006).

- **Action germistatique (bactériostatique et fongistatique)**

Dans ce cas, les agents inhibent la croissance du microorganisme sans le tuer (bactérie ou Champignon). Les substances bactériostatiques inhibent temporairement le développement microbien, les microorganismes recommenceront à se développer dès que la concentration de la substance aura diminué ou dès que l'application du procédé physique sera interrompue (Guiraud, 1998).

- **Détermination des doses minimales inhibitrices et bactéricides**

La construction des courbes de croissance *in vitro* en présence de concentration croissante en agents antimicrobiens permet de définir des concentrations limites : c'est-à-dire la concentration pour laquelle on n'observe pas de croissance visible. La concentration inhibitrice 50 % ou CMI correspond à une croissance égale à la moitié de la croissance du témoin et la concentration minimale bactéricide (la CMB) correspond à la concentration permettant de tuer tous les micro-organismes. Celle-ci est appréciée par étalement après culture. Ces méthodes sont adaptables aussi bien aux antibiotiques qu'à d'autres substances bactéricides (Perry *et al.*, 2002).

Partie expérimentale

Chapitre I

Matériel et Méthodes

Cette étude a été réalisée sur la poudre et l'extrait méthanolique de l'ail. Ce dernier a été préparé l'année précédente est conservé à -4°C.

Vu, son activité antimicrobienne qui a été montrée sur les souches (*E.coli*, *S.aureus*, *M.morganii*, *P.aeruginosa*, *K.pneumoniae*, *R.ornithinolytica*). Il a été choisi trois d'autres afin de :

* tester la qualité de l'extrait après conservation.

* tester l'action sur d'autres souches bactériennes et des levures (*Candida albicans*)

I.1 Criblage phytochimique

Un deuxième screening a été fait afin de savoir la qualité de la poudre après conservation.

L'examen phytochimique est un premier pas dans la recherche des molécules à activités thérapeutiques dans les plantes (**Seladji, 2013**).

Le screening phytochimique représente l'ensemble des techniques qualitatives permettant la détermination des différents groupes chimique contenus dans un organe végétal. Ce sont des réactions physicochimiques qui permettent d'identifier la présence des substances chimique (**Boukri, 2014**). Il permet donc la détection des classes de composés chimique essentiellement les polyphénols totaux, y compris les flavonoïdes, les tannins, les coumarines, les saponosides, les alcaloïdes, les isoprénoides qui renferme les terpénoides...etc. (**Seladji, 2013**).

Ces tests phytochimiques sont représentés par des réactions de coloration et de précipitation, des essais de solubilités des constituants présents dans la plantes vis-à-vis des solvants organiques de polarité différente, Des examens sous la lumière ultraviolette (**Seladji, 2013**).

I-1-1 Tests biochimiques préliminaires

- **Les alcaloïdes**

La présence d'alcaloïdes est établie par la précipitation de sels et la révélation à l'aide du réactif Mayer (solution de tétra-iodomercure de potassium) (**Soro et al., 2009**). Il a été procédé à une macération sous agitation pendant 24h de 10 g de la poudre végétale

dans 50ml de H₂SO₄ dilué au 1/10 à une température ambiante. Après filtration sur papier lavé à l'eau distillé et de manière à obtenir environ 50ml de filtrat, 1ml du macéré est introduit dans un tube à essai puis 5goutte de réactif de Mayer ont été ajouté dans le tube. La présence d'une turbidité ou d'un précipité, après 15minutes indique la présence d'alcaloïdes (**Kanoun, 2011**).

- **Test de confirmation**

à 5g de poudre d'ail, sont ajoutés 15ml de H₂SO₄ à 2%.Après une demi-heure de macération à une température ambiante, le macéré est filtré. 5 gouttes de réactif de Mayer sont additionnées à 1ml du filtrat. La présence d'alcaloïdes a été mise en évidence par l'apparition d'un précipité blanc-jaune ou jaune clair (**Dohou et al., 2003**).

• **Les flavonoïdes**

Deux essais ont été effectués :

- **Essai I**

3g de la poudre séchée sont mélangés avec 75ml d'eau distillée dans une fiole. L'ensemble est porté à ébullition pendant 15 minutes puis le mélange est filtré et laissé refroidir (**Edeogal et al., 2005**).

- **Coloration en milieu alcalin**

En milieu alcalin, les flavonoïdes se dissolvent facilement en donnant des colorations allant du jaune au brun (**Mboj, 2003**). à 2ml d'extrait, quelques millilitres de soude au 1/10^e ont été ajouté dans un tube à essai (**Okmu, 2005**).Le test positif est révélé par l'apparition d'une couleur jaune orangé.

- **Coloration par perchlorure de fer (FeCl₃)**

Les flavonoïdes, du fait de la présence de fonction phénolique, ils donnent des colorations variées avec des solutions diluées de FeCl₃.

à 2ml de la solution extractive, 2 à 3 gouttes d'une solution diluée de FeCl₃ à 2% ont été additionnée. Le test positif est révélé par l'apparition d'une couleur verdâtre (**Okmu, 2005**).

-Essai II

à 10g de la poudre sèche, sont ajoutés 150ml d'HCl à 1%, le mélange est laissé pendant une nuit, puis filtré. 10ml du filtrat sont rendu basique par l'ajout du NH₄OH. Un test positif est révélé par l'apparition d'une couleur jaune orangé (**Okmu, 2005**).

- **Les saponoside**

Les saponosides sont caractérisés par leur pouvoir moussant en solution aqueuse (**Mboj, 2003**). Dans une fiole jaugée renfermant 80ml d'eau distillé bouillante, sont introduites 2g de poudre, l'ébullition sont maintenue de façon modéré pendant 30min, le mélange est ensuite filtré. Après refroidissement le filtrat est agité verticalement (**Karumi et al., 2004**).

La formation de mousse indique la présence de Saponosides. La teneur en saponosides est évaluée :

Pas de mousse : test faiblement positif.

Mousse moins de 1cm= test positif.

Mousse de 1-2cm= test positif.

Mousse plus de 2cm= test très positif (**Seladji, 2013**).

- **Les Tanins**

Dans un Erlenmeyer, on disperse 5g de poudre dans 100ml d'eau bouillante. Après infusion pendant 15min, le mélange est filtré et complété avec de l'eau distillée jusqu'à 100ml. à 5ml de filtrat, quelques gouttes d'une solution de chlorure ferrique(FeCl₃) à 2% sont ajoutées, puis le mélange est agité. Le test positif par l'apparition d'une couleur brun-vert (**Karumi et al., 2004**).

- **Différenciation des tanins**

- * **Tanins catéchiques**

à 5ml de solution, on ajoute 5ml d'HCl concentré. L'ensemble est porté à ébullition pendant 15min puis on filtre. En présence de tanins catéchiques, il se forme un précipité rouge.

*** Tanins Gallique (Réaction de Stiasny)**

à 30ml de solution, le réactif de stiasny (10 ml de formol à 40% et 5ml d'HCl concentré), a été ajouté puis le mélange est chauffé au bain-marie à 90°C pendant 15 min. Après filtration, le filtrat a été saturé par 5 g d'acétate de sodium. On ajoute 1ml goutte à goutte d'une solution de FeCl₃ à 1%. L'obtention d'une teinte bleue noire montre la présence de tanins galliques non précipités par le réactif de Stiasny.

- **Les coumarines**

1g d'échantillon de la poudre d'ail est placé dans un tube à essai en présence de quelques gouttes d'eau distillée. Le tube est recouvert avec un papier imbibé d'une solution de NaOH et porté dans un bain marie pendant quelques minutes. Puis on ajoute 0,5ml de NaOH dilué (10%) et deux taches ont été mises sur un papier filtre. Le papier est ensuite examiné sous la lumière ultraviolette. La fluorescence des taches confirme la présence des coumarines (**Rizk, 1982**).

- **Les stérols et les terpènes**

5g de la poudre, sont dissoutes dans l'éther de pétrole, L'extrait éthérique est filtré puis évaporé à sec. Le résidu résultant est solubilisé dans un 5ml d'acide acétique ensuite dans un 5ml de CHCl₃. Puis y ajouté 1ml d'H₂SO₄ concentré. Laformation d'un cercle marron ou violet indique la présence des stérols terpéniques (**Dohou et al., 2003**).

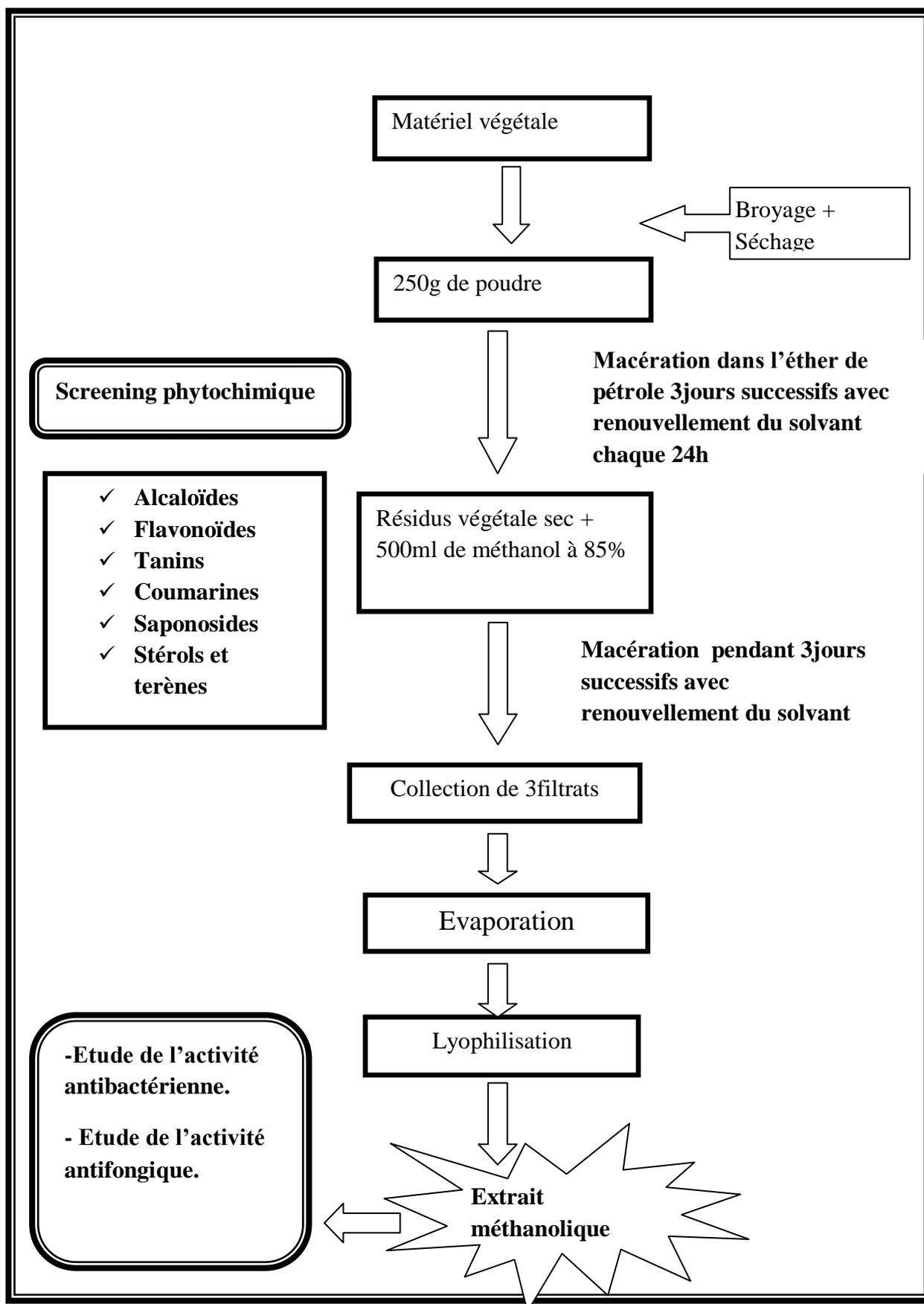


Figure.03 : Protocole expérimentale.

Chapitre II

Tests de l'activité antibactérienne et antifongique

II.1 les souches testées

Les tests de l'activité antibactérienne et antifongique ont été réalisés au niveau de laboratoire de microbiologie- université de Guelma. Deux souches bactériennes ont été isolés à partir de prélèvements de malades ayant des infections urinaires (E.C.B.U), et une levure qui a été isolée à partir d'un prélèvement vaginale, toutes ces souches ont été isolées à partir des malades au niveau de laboratoire de bactériologie –hôpital Ibn Zohr Guelma-.

Les germes qui ont testés pour déceler l'activité antibactérienne et antifongique de l'extrait méthanolique de l'ail sont les suivants :

- une souche de collection internationale ATCC (American type culture collection) : *Escherichia coli*.
- une souche clinique isolée de patients hospitalisés pour des infections urinaires : *Staphylococcus aureus*.
- les levures isolées à partir de prélèvement vaginale : *Candida albicans*.

II.2 milieux de culture

Selon les méthodes utilisées dans l'essai et selon les souches, il a été utilisé les milieux de culture suivants : la gélose nutritive, la gélose Mueller Hinton, la gélose sabouraud, bouillon nutritif, bouillon sabouraud et milieu chapman.

II.3 Repiquage des souches microbiennes

Cette manipulation implique un travail dans des conditions stériles, le repiquage se fait par le prélèvement d'une souche bactérienne à l'aide d'une anse de platine stérile et l'ensemencement de la souche sur un milieu gélosé (incubation à 37°C pendant 24h) (Ahmed et al., 2012).

II.4 Test de sensibilité aux antibiotiques (Antibiogramme)

C'est une méthode analytique permettant la détermination de la sensibilité des bactéries aux antibiotiques. Il consiste à placer la culture de bactéries en présence d'un ou

des antibiotiques et à observer les conséquences sur le développement et la survie de celle-ci.

II.4.1 préparation de la suspension bactérienne

A partir d'une culture pure des bactéries à tester sur milieu d'isolement (ayant au maximum 24h), des colonies bien isolées, ont été prélevées à l'aide d'une anse ou pipette pasteur ; puis déchargées dans 5ml d'eau physiologique stérile à 0,9% la suspension a été homogénéisée, afin d'avoir une opacité équivalente à 0.5 Mc Farland. L'ensemencement doit se faire dans les 15 minutes qui suivent la préparation d'inoculum (**Rahal et al., 2005**).

II.4.2 Mode d'ensemencement

Le milieu Mueller-Hinton est fondu, coulé en boîte de pétri à une épaisseur de 0.4mm, après la solidification de la gélose tremper un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne, l'essorer en le pressant fermement (en le tournant) sur la paroi interne du tube afin de la décharger au maximum. Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée de haut en bas en stries très serrées. Répéter l'opération deux fois en tournant la boîte de 60° C à chaque fois sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même, finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose. Dans le cas où l'on ensemence plusieurs boîtes de pétri, il faut recharger l'écouvillon à chaque fois (**Rahal et al., 2011**).

II.4.3 Application des disques d'antibiotiques

Les disques ont été placés dans les boîtes à l'aide d'une pince stérile. Il ne faut pas mettre plus de 6 disques d'antibiotiques sur une boîte de 90 mm de diamètre. Les disques d'antibiotiques doivent être espacés de 24mm centre à centre. L'incubation dure 18h- 24h à 37°C (**Rahal et al., 2011**).

II.4.4 Lecture

La lecture se fait par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition, qui se fait en millimètre avec précision à l'aide d'une règle double décimètre à l'extérieur de la boîte fermée.

La souche est alors classée comme sensible **S**, intermédiaire **I**, ou résistante **R** par comparaison aux valeurs critiques expérimentales diffusées par le Comité Français de L'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (**Rahal et al., 2005**). Et Le tableau suivant montre ces valeurs critiques.

Tableau.05 : Valeurs critiques des zones d'inhibition dues aux antibiotiques (**CASFM, 2009**).

ATBs testés	Sigle du disque	Charge du disque	Diamètres critiques (mm)	
			Sensibles	Résistants
Pénicilline	P	10µg	≥ 29	< 18
Imipenème	IMI	10µg	≥ 32	< 26
Vancomycine	VAN	30µg	≥ 17	-
Gentamicine	GM (CN sur disque)	10µg	≥ 18	< 16
Céfotaxime	CTX	30µg	≥ 35	< 29
Amoxiciline + AC.clavulanique	AMX	20 µg	≥ 23	< 16
chloramophénicol	C	30µg	≥ 23	< 19
Triméthoprime + Sélphamétoazole	SXT	25µg	≥ 29	< 23

Classer la bactérie dans l'une des catégories : sensible, intermédiaire et résistante (**Andrews J.M, 2001**). La figure (04) montre la technique de l'antibiogramme par la méthode de diffusion en disque.

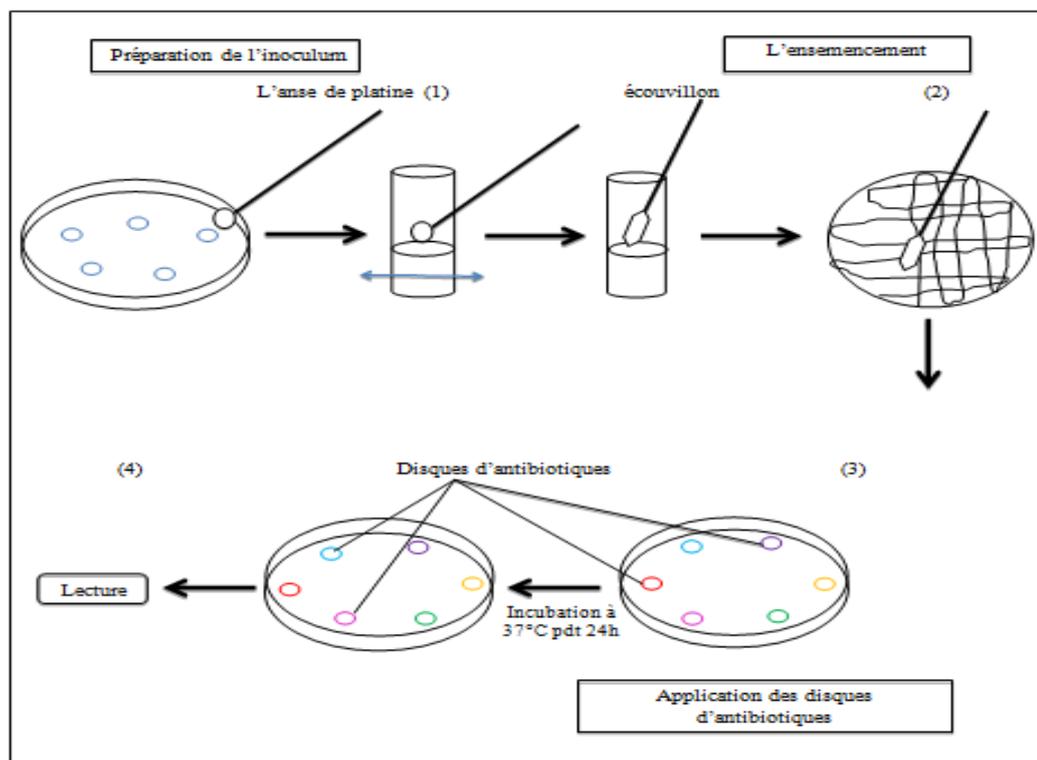


Figure.04 : technique de diffusion en disque (antibiogramme).

II.5 Méthode de diffusion en milieu gélosé (aromatogramme)

Deux méthodes différentes sont employées pour l'évaluation de l'effet antimicrobien de cet extrait : la méthode de diffusion à partir d'un disque de papier qui permet la mise en évidence de l'activité microbienne de l'extrait. Cette technique est identique à celui de l'antibiogramme, la seule différence est le remplacement des antibiotiques par des extraits (**fig.05**), et la méthode de macrodilution qui a pour objectif la détermination des CMI (concentrations minimales inhibitrices) à partir d'une gamme de concentrations de produit dans le milieu de culture (**Yakhlef, 2010**).

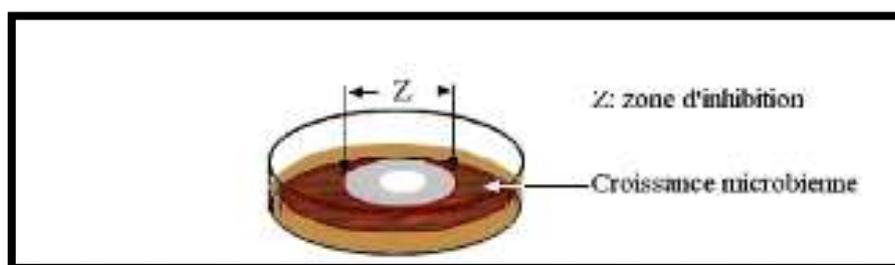


Figure 5 : Schéma simplifié la méthode de l'aromatogramme (**Zaika, 1988**).

Le pouvoir antifongique et antibactérien de l'extrait méthanolique de l'ail a été déterminé sur deux milieux différents : gélose de Mueller Hinton et gélose de Sabouraud. Pour ce faire, nous avons utilisé la technique de diffusion sur milieu solide (**Nair et Chanda., 2005 ; Perez et al., 1990**). C'est une méthode similaire à celle de l'antibiogramme qui consiste à déterminer la sensibilité d'une souche microbienne vis-à-vis un ou de plusieurs produits.

II.5.1 Préparation des disques

Les disques ont été préparé à partir du papier whatman de 6 mm de diamètre, ensuite, ils ont été mis dans un tube à essai, stérilisés à l'autoclave 15 minutes à 120°C, puis stockés à une température ambiante (le tube à essai est hermétiquement fermé) (**Goumni et Salhi, 2013**).

II.5.2 Préparation des précultures

Les souches microbiennes à tester ont été cultivées dans des boites de pétrie contenant de la gélose nutritive et incubé pendant 24 h à 37°C afin d'obtenir une culture jeune des bactéries et des colonies isolées (**Goumni et Salhi, 2013**).

A partir de ces boites, à l'aide d'une anse de platine quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques ont été prélevée et mises dans 5ml d'eau physiologique stérile à 0.9% de sel (NaCl). La suspension bactérienne était bien homogénéisée, et la densité optique était lue à 625 nm et justifié à 0.08 à 0.10 nm. On admet que cette densité mesurée à 625 nm est équivalente à été 10^8 CFU/ml (**Mohammedi, 2006**). L'inoculum était ajusté soit en ajoutant à culture s'il est trop faible, ou de l'eau physiologique stérile s'il est trop fort. A partir de l'inoculum ajusté, une dilution au 1/100ème a été réalisée, pour avoir une suspension de 10^6 UFC/ ml (**Akhad, 1998**). L'ensemencement doit se faire en moins de 15 min après la préparation de l'inoculum. Les disques préalablement préparés sont ensuite imbibés de 20µl de la gamme de concentration d'extrait (10mg, 50mg, 100mg, 150mg, 200mg, 250mg)/ml du méthanol, puis ils ont été déposés à l'aide d'une pince stérile à la surface de la gélose ensemencés par la souche à tester. La sensibilité des bactéries au méthanol est appréciée selon le même protocole que précédemment, mais avec les disques contenant 20µl de méthanol pour servir comme témoin (**Lahlah, 2008**).

Les boîtes de pétri sont laissées sur la paillasse au moins 15 min pour une prédiffusion de l'extrait avant d'être incubées à 37°C pendant 24h pour les bactéries (Belaidi, 2012). Et pour la levure à 37°C pendant 48h.

II.5.3 Lecture

La lecture se fait par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition autour de chaque disque à l'aide d'une règle en mm. Le résultat peut être symbolisé par des signes d'après la sensibilité des souches vis-à-vis de l'extrait méthanolique (Hamidi, 2013).

Non sensible (-) ou résistante : diamètre < 8mm.

Sensible (+) : diamètre entre 9 à 14mm.

Très sensible (++) : diamètre compris entre 15 à 19mm.

Extrêmement sensible (+++) : diamètre > 20mm.

II.6 Méthode de macrodilution en milieu liquide

II.6.1 Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

La CMI est la plus faible concentration de la substance pour laquelle il n'y a pas de croissance visible à l'œil nu après un temps d'incubation de 18 à 24h. sa détermination a été faite par observation du trouble induit par la croissance des germes étudiées dans chaque tube (Toty et al., 2013).

Dans une série de neuf tubes à hémolyse numérotées de C1 à C9, on a introduit 1ml de l'inoculum. Ensuite, on a ajouté dans les tubes, 1 ml d'extrait végétal selon la gamme de dilution préparée. Cette répartition d'extrait végétal a été faite de sorte que 1ml d'extrait végétal de 1/64 soit transféré dans le tube C2, le tube C3 a reçu 1 ml de 1/32 ainsi de suite jusqu'au tube C9 qui a acquis 1ml de 9/2. Le tube C1 a reçu au lieu de l'extrait végétal, 1 ml de méthanol qui a servi de témoin de croissance. Ces tubes ont été incubés à 37°C pendant 18 à 24h (Toty et al., 2013).

II.6.2 Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB) et fongicide (CMF)

La concentration minimale bactéricide (CMB) est la plus faible concentration de substance qui laisse au plus 0,01 % de germes survivants. A l'aide d'une anse de platine, les contenus des tubes dans lesquels aucun trouble n'a été observé ont été prélevés et ensemencés sur une gélose en commençant par le tube de la CMI. L'ensemencement a été fait par stries parallèles à la surface de la gélose. Les boîtes ont été incubées à l'étuve à 37°C pendant 24h (Toty et al., 2013).

Le premier antifongique utilisé est la substance active miconazole, appartenant à la famille des Imidazoles. Il est utilisé à large spectre pour le traitement des infections fongiques. Son spectre d'activité comprend les genres *Candida*, *Trychophyton*, *Aspergillus* et *Malassezia* (Bossche et al., 2003). L'activité antifongique du miconazole repose sur deux mécanismes complémentaires : Une activité fongistatique (Fromtling, 1988). et Une activité fongicide (Barasch et Griffin., 2008 ; Quatresooz et al., 2008).

Chapitre III

Résultats et Discussions

III.1 résultats de l'analyse phytochimique

La mise en évidence des différentes classes des métabolites secondaires constituant une plante, a permis d'avoir une bonne idée sur ses activités pharmacologiques. Pour cela le screening phytochimique a été réalisé sur le matériel végétal broyé de l'ail en utilisant des solvants de polarité différente et des réactifs spécifiques de révélation. Les résultats expérimentaux des tests phytochimiques sont mentionnés dans le tableau et la figure (06).

Tableau.06 : Screening phytochimique de la poudre d'ail.

La plante	Métabolites secondaires							
	Alcaloïdes	flavonoïdes	Saponosid -es	Tanins	Tgal	Tcat	Coumarines	Stérols et terpènes
<i>Allium Sativum</i>	+++	+	+++	++	-	++	-	+++

(-) : absence ; (+) : présence en faible quantité ; (++) : présence en quantité moyenne ;

(+++): Présence en quantité importante.

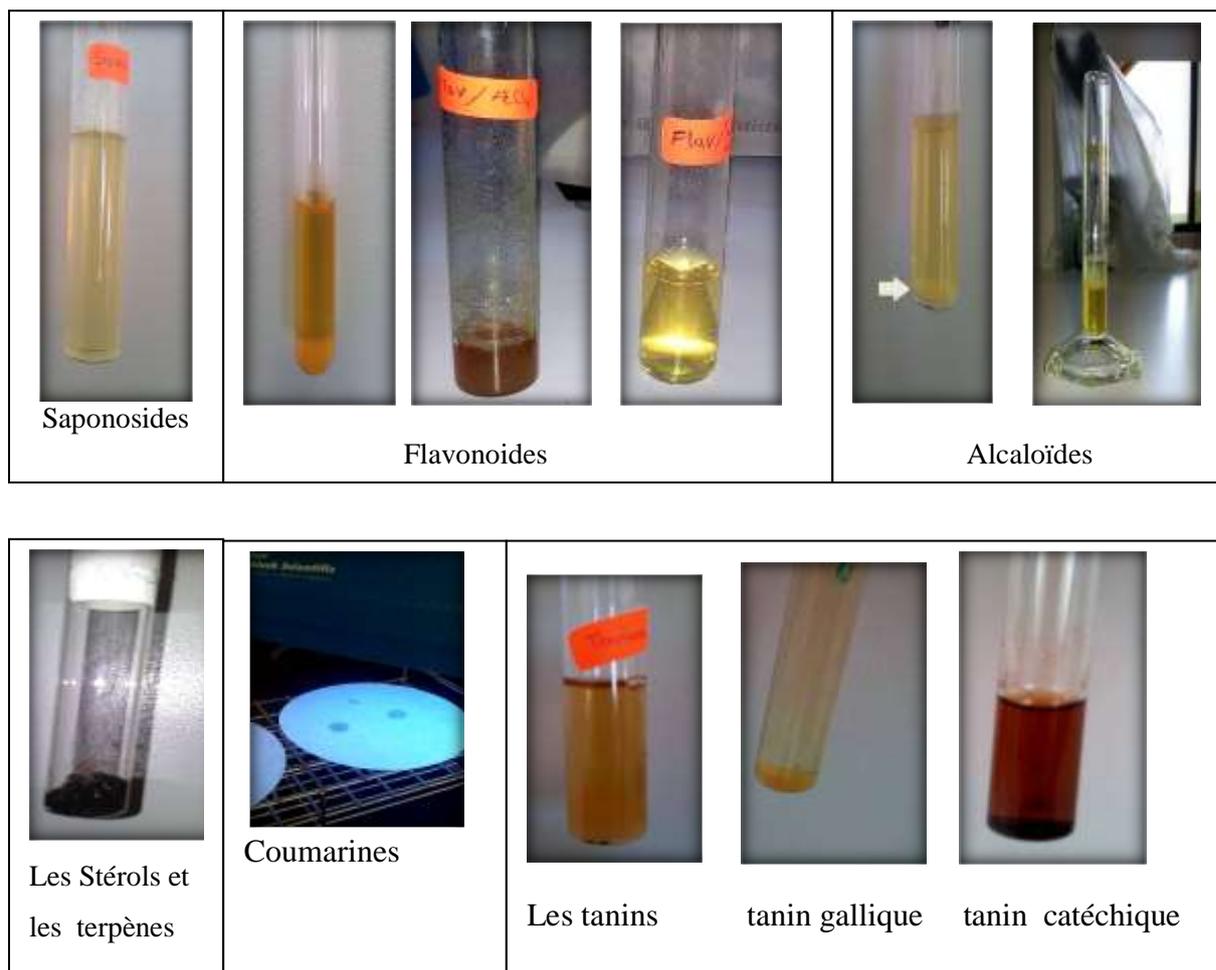


Figure.06 : Résultats des tests phytochimique de l'ail.

Les résultats expérimentaux du criblage phytochimique mentionnés dans le tableau (06) et dans la figure (06), montrent la présence des flavonoïdes, des tanins, des stérols et des terpènes, des alcaloïdes ainsi que la présence des saponosides en quantité importante. Cependant le test des coumarines et tanins galliques produit une inférence négative.

La mise en évidence des flavonoïdes dans le matériel végétal broyé de la plante est confirmée par l'apparition d'une couleur jaune orangé en contact avec la soude (milieu alcalin). Les Tanins sont présents avec une intensité importante et sa présence est confirmée par une réaction positive avec la solution de chlorure ferrique en donnant une coloration brun-verdâtre.

Le test positif des stérols et triterpènes a permis de confirmer leur présence avec une apparition d'un cercle marron ou violet.

De façon générale, les familles chimiques détectées dans cette étude viennent confirmer les travaux de **Bekkai et al., (2011)** et **Najjaa et al., (2011)**. Ces derniers ont permis de mettre en évidence la richesse de l'ail en composés bioactifs.

De même les tests phytochimiques réalisés par **Mangambu et al., (2014)** ont montré également la présence des métabolites secondaires ce qui est comparable aux résultats obtenus, à l'exception des flavonoïdes et des tri triterpénoïdes qui sont révélées forte.

III.2 Résultats du test du pouvoir antimicrobien

III.2.1 profil aux résistances aux antibiotiques

L'antibiogramme permet de déterminer la sensibilité ou la résistance de souches testées aux antibiotiques. Le profil de résistance de ces souches a été déterminé par la méthode de diffusion en milieu gélosé, le tableau (07) ci-dessous rapporte les valeurs en mm des zones d'inhibitions manifestées par les antibiotiques sur les différentes souches étudiées.

Tableau.07 : Diamètres d'inhibitions des souches étudiées vis-à-vis des antibiotiques.

(Diamètre de la zone d'inhibition en mm)

		Diamètres des zones d'inhibitions (mm)						
ATB \ Souches	IMI	CTX	CN	P	VA	AMC	SXT	C
<i>E. coli</i> ATCC 25922	27	29	20	/	/	12	28	34
<i>S. aureus</i>	/	/	23	12	15	/	25	/



E.coli ATCC 25922



Staphylococcus aureus

Figure.07 : Comportements des souches testées aux antibiotiques.

D'après ces illustrations, il a été observé que les deux souches de bactéries étudiées réagissent différemment aux antibiotiques testés.

La souche d'*E.coli* ATCC 25922 a montré une sensibilité à chloramphénicol, (34mm) et une résistance à l'amoxiciline + AC.Clavulanique (AMC) (12mm). Elle se révèle intermédiaire aux Imipenème (27mm), Céfotaxime (29mm), Gentamicine (20mm).

Pour *S.aureus*, elle avait montré une résistance à Pénicilline, avec un diamètre de zone d'inhibition de 12mm. Par contre elle était sensible à la Gentamicine (23mm),

triméthoprim+ sulphaméthoxazole (25mm), et cet effet est plus faible pour l'antibiotique Vancomycine.

III.2.2 Méthode de diffusion en disque (Aromatogramme)

La méthode de diffusion des disques a permis de mettre en évidence le pouvoir antibactérien et l'antifongique de l'extrait méthanolique de l'ail vis-à-vis des souches bactériennes et fongiques utilisées, celle-ci se traduit par l'apparition d'une zone d'inhibition autour du disque de papier préalablement imprégné de l'extrait.

Les résultats du test de sensibilité microbienne à l'extrait (aromatogramme) sont indiqués dans le tableau (08) et les figures (08, 09, 10). Les valeurs indiquées sont les moyennes de deux mesures.

Tableau.08: Diamètres des zones d'inhibitions en (mm) de l'extrait méthanolique d'*Allium sativum*.

Extraits souches	Diamètre des zones d'inhibitions (mm)					
	10mg/ml	50mg/ml	100mg/ml	150mg/ml	200mg/ml	250mg/ml
<i>E.coli</i> ATCC 25922	13	15	18	20	21	22
<i>S.aureus</i>	9	14	15	15	16	16
<i>C.albicans</i>	19	18	19	20	21	23

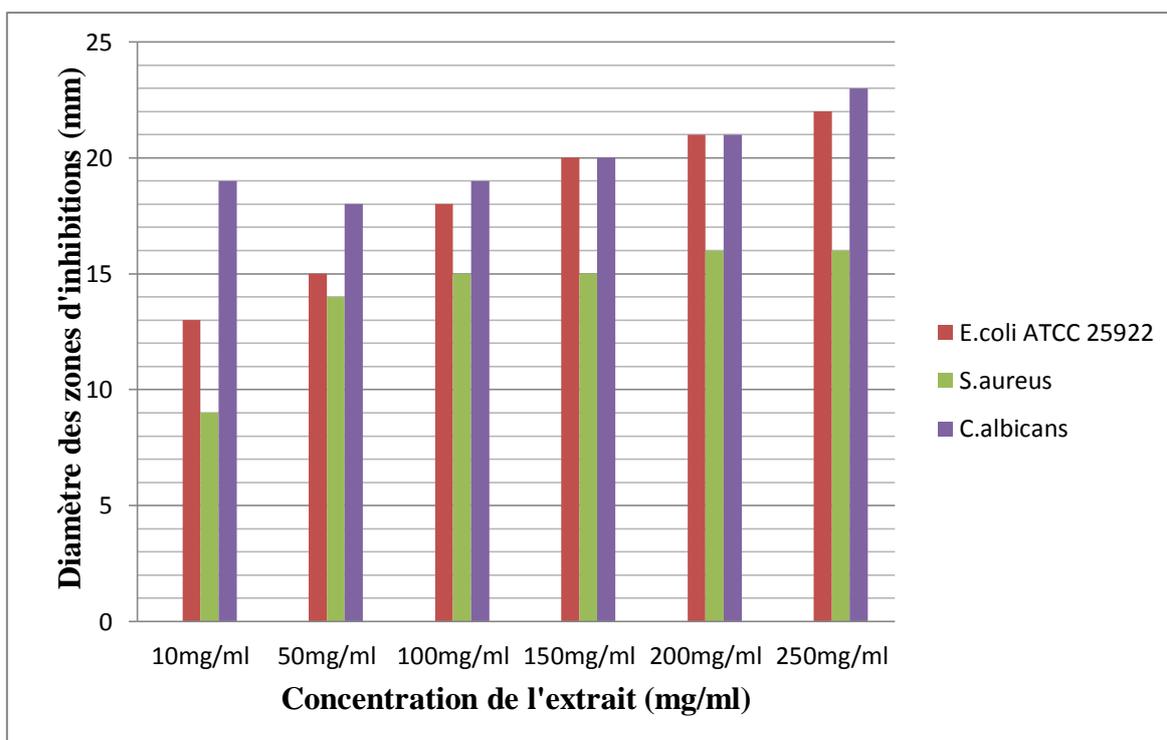


Figure.08 : Histogramme de l'aromatogramme de différentes souches testées

Pour l'évaluation du potentiel antibactérien et antifongique de l'extrait méthanolique de l'ail, il a été préféré de tester contre plusieurs cibles, car chacune d'elles possède des structures cellulaires et un métabolisme particulier.

Les résultats présentés dans les tableaux et les figures montrent que : L'extrait présente des activités importantes, qui s'étendent sur la totalité des souches de la collection avec une diminution du diamètre des zones d'inhibitions correspondant à une diminution de la concentration de l'extrait appliquée.

* *E.coli* ATCC 25922, montre une sensibilité importante vis-à-vis aux différentes concentrations testées avec des auréoles d'inhibitions qui varient entre 13mm- 22mm. Il a été observé une égalité approximative du diamètre d'inhibition de l'extrait méthanolique (18mm) et de la Gentamicine (20mm).

Les mêmes résultats (diamètres d'inhibitions) ont été obtenus avec *E.coli* clinique.

* *S.aureus* à montrer une sensibilité importante vis-à-vis les différentes concentrations testées avec des halos d'inhibitions entre 9mm- 16mm. Les souches de référence de genre *Staphylococcus*, se sont révélées plus sensibles avec des zones d'inhibitions de 12 mm- 15mm.

* la levure *C.albicans* s'est avérée sensible à l'extrait méthanolique de l'ail avec des zones d'inhibitions de 18mm-23mm.

Nombreuses études concentrées sur l'effet des différents extraits d'ail (extrait aqueux, extrait méthanolique) sur *candida* ont montré l'action antifongique avec des zones variant entre 15-35mm (**Berbaoui et al., 2009**).

En ce qui concerne les antibiotiques, quelques zones d'inhibitions importantes ont été enregistrées avec *S.aureus*, ce qui permet de constater que les antibiotiques testés (Gentamicine, Triméthoprime + Sélphaméthoxazole) étaient plus actifs vis-à-vis de la souche par rapport à l'extrait. Par contre, *E.coli* n'était sensible que chloramphénicol avec un halo d'inhibition de 34mm, alors que l'activité antibactérienne de l'extrait s'est avérée moyenne avec une zone maximale d'inhibition de 22mm.

* Un contrôle négatif était réalisé par le méthanol.

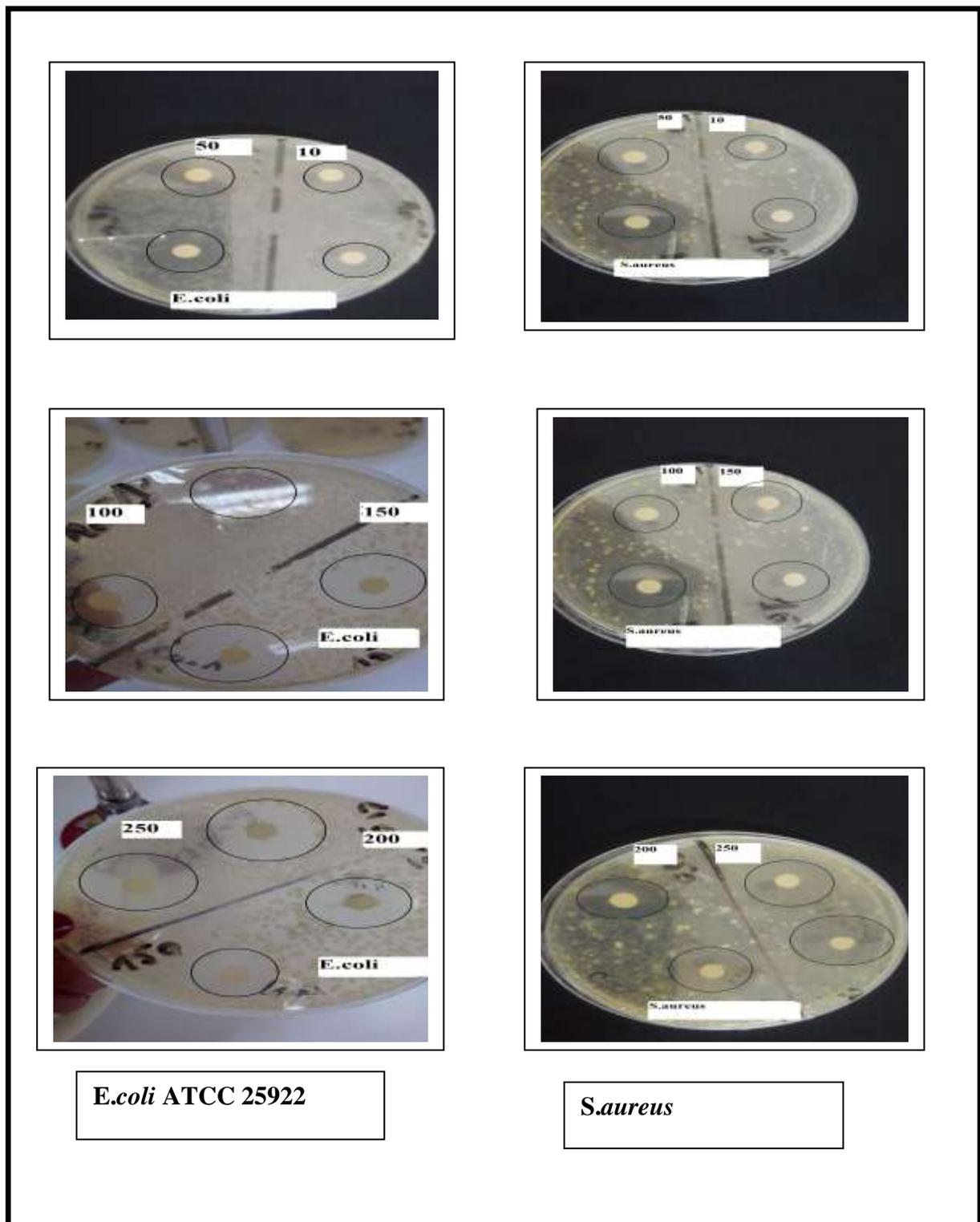
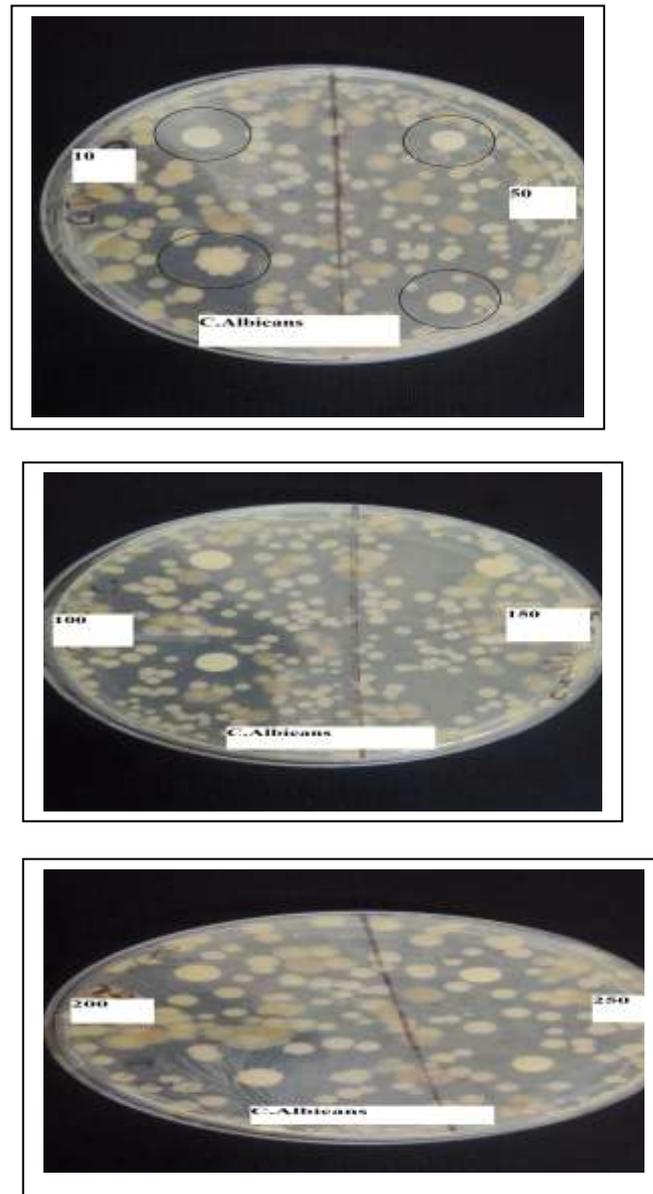


Figure.09 : Effet de l'extrait méthanolique de l'ail sur *E. coli* ATCC 25922 et *S. aureus*.



C. albicans

Figure.10: Effet de l'extrait méthanolique de l'ail sur *C. albicans*.

Les résultats obtenus prouvent l'existence d'une activité antimicrobienne (antibactérienne + antifongique). Donc il est intéressant d'estimer les CMI.

III.3 Méthode de macrodilution en milieu liquide

Les résultats de la CMI et la CMB ou CMF sont mentionnés dans le tableau (09) et les figure (11) ci-dessous.

Tableau.09: Valeurs des CMI et de la CMB ou CMF de l'extrait méthanolique sur les microorganismes étudiées.

	CMI (V/V)	CMB (V/V)	CMB/CMI
<i>E.coli ATCC 25922</i>	1/32	1/32	1
<i>S.aureus</i>	1/8	1/4	2
	CMI (V/V)	CMF (V/V)	CMF/CMI
<i>C.albicans</i>	1/8	1/8	1

Le tableau (09) donne les résultats de la CMI, la CMB et la CMF. La souche *E.coli* était la plus sensible à l'extrait avec une concentration (CMI) de 1/32, tandis que la souche *S.aureus* était moins sensible à l'extrait avec une CMI de 1/8, et *C.albicans* était plus sensible à l'extrait avec une CMI de 1/8.



Figure.11 : Présentation de la série de dilutions en milieu liquide des souches testées (détermination de la CMI).

- **Concentration minimale bactéricide (CMB)**

D'après les rapports de CMB/CMI indiqués dans le tableau ci-dessus, qui est compris entre 1 et 2, on peut déduire que l'extrait méthanolique possède un pouvoir bactéricide sur les deux souches testées.

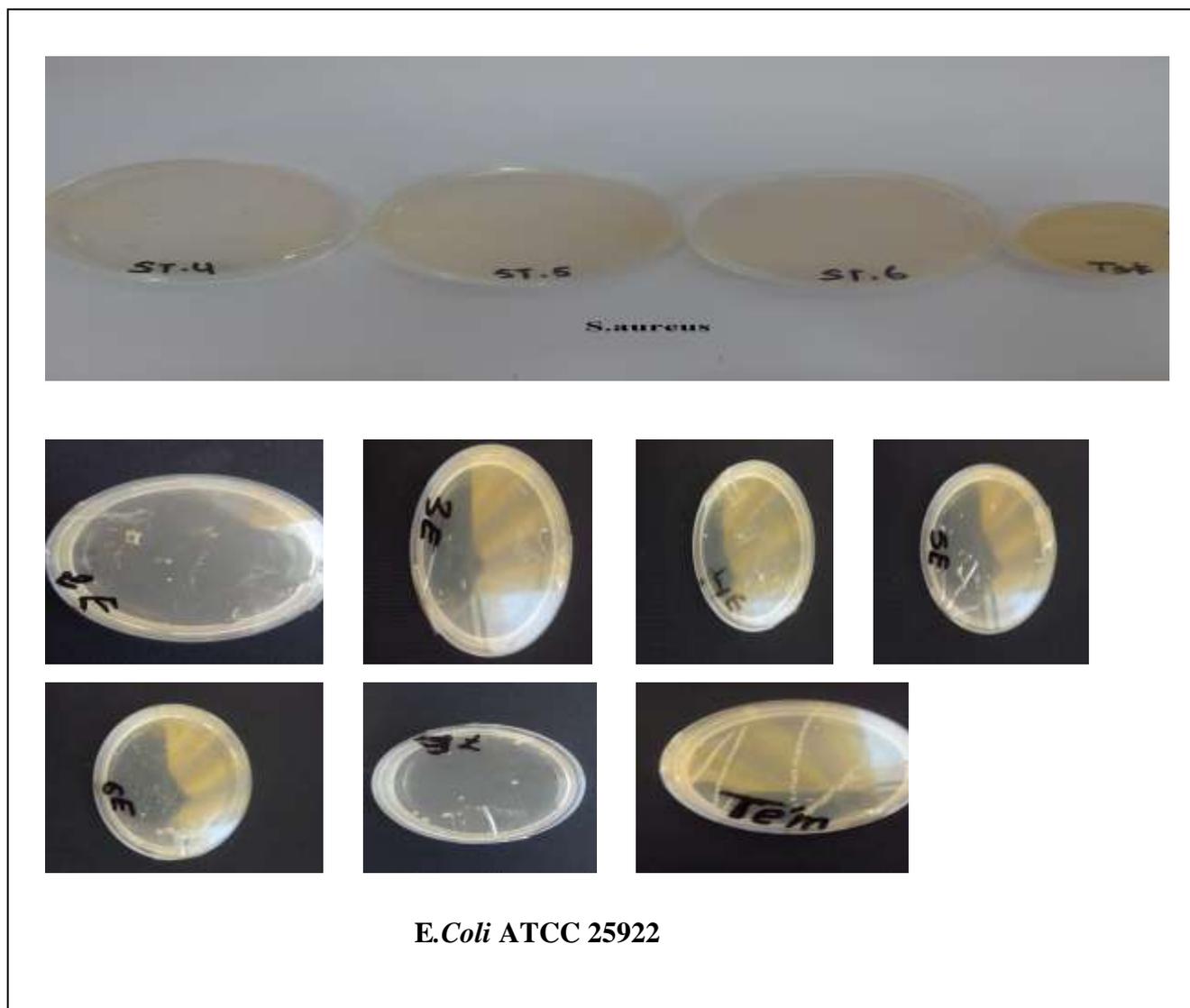


Figure.12 : Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB).

- **la concentration minimale fongicide (CMF)**

La reprise de la croissance traduit un effet fongistatique et l'absence de croissance un effet fongicide. D'après le rapport CMF/CMI indiqué dans le tableau (09), qui est égale à 1, on peut déduire que l'extrait méthanolique possède un pouvoir fongicide sur *c.albicans*.

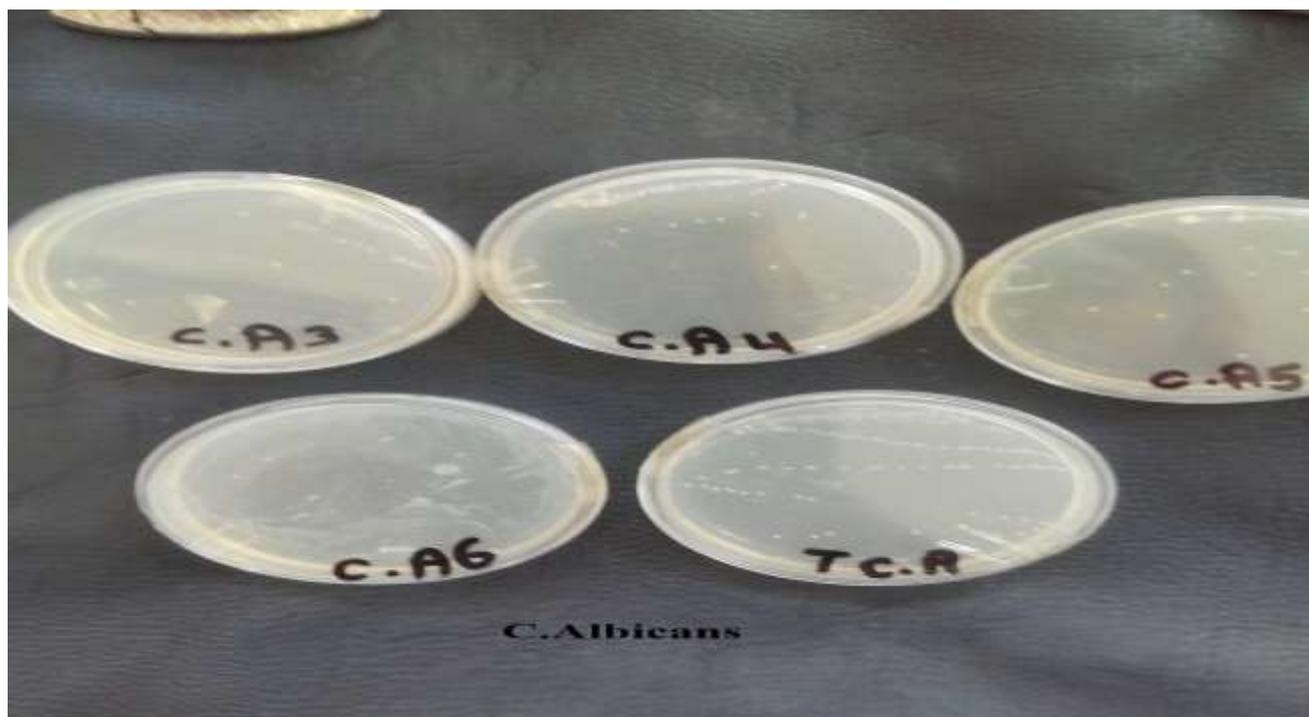


Figure .13 : Détermination de la concentration minimale fongicide (CMF).

La plante d'ail (*Allium sativum*) est douée de propriétés antimicrobiennes très appréciées et cela justifie son utilisation dans le traitement traditionnelle comme un remède antibactérien et antifongique.

Les deux souches d'*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* étaient plus sensibles à l'extrait. L'hypersensibilité de celle-ci peut s'expliquer par la probabilité de la sensibilité aux changements environnementaux exercés par l'extrait, tel que le pH (Balentine et al., 2006). Tsao et al., 2003 ; Zhou, 2003 et Najjaa et al., 2011 Viennent confirmer nos résultats.

Les résultats obtenus concordent avec ceux de plusieurs auteurs notamment (Ankri et al., 1999 ; Santhosha et al., 2013 et Reuter,1995) qui ont indiqué une activité considérable contre *E.coli*. En revanche, ils s'opposent aux résultats de (Dziri et al., 2012 ; Kallel et al., 2014) qui ont démontré une faible activité contre *E.coli* et un effet négatif contre *staphylococcus*. La sensibilité de diverse bactéries aux préparations pures d'allicine est très significative (Rabinkov et al., 1998). Mirelman et al., 1987 ont montré que l'allicine présentait un large spectre d'action. En effet, diverses préparations d'ail ont montré une gamme étendue d'activité antibactérienne contre les bactéries Gram (-) et Gram (+).

La souche *Candida albicans* est plus sensible à l'extrait méthanolique de l'ail, autres résultats obtenus par (Farhat Ali Khan et al., 2014) qui ont indiqué que Les extraits de l'ail (*Allium sativum* L.) et l'oignon (*Allium cepa* L.) contient des substances antimicrobiennes volatiles qui ont un effet d'inhibition sur *Aspergillus flavus*, *A.parasiticus*, *candida albicans*, *Cryptococcus*, *Penicillium*, *Rhodotorula*, *Saccharomyce*, *Torulopsis*, et *Trichosporonspp*. Le composé majeur qui a présenté une activité antifongique est l'allicine (Davidson, 1997 ; Ahmed et al., 2012). D'autres études sur l'extrait aqueux d'ail Egyptien (*Allium sativum* L.) ont montré une action contre *Aspergillus flavus* et *Candida albicans*. La concentration minimale inhibitrice (CMI) est 3,60 mg/ml.

D'après Irkin and Korukluoglu (2007), la capacité antifongique des extraits d'*allium sativum* est due à la présence de substances chimiques telles que l'allicine, l'alline à différentes concentrations. L'activité antimicrobienne de huiles essentiels et des jus des plantes peut être expliquée par l'interaction de ces composés avec les biomembranes (Veldhuizen et al., 2006). Pour les mycéliums fongiques, la croissance peut être réduite ou totalement inhibée (Cristani et al., 2007).

Les résultats obtenus concordent avec celle de Berbaoui et al (2009), qui ont indiqué que le macérât d'*Allium sativum* a un effet antifongique sur le *Candida albicans* avec un diamètre d'inhibition (23mm). L'antifongique utilisé par la population locale a montré sur 100% du *candida albicans* nosocomiaux testés, avec des zones d'inhibitions allant de 15 mm à 35 mm pour *Allium sativum*. Cowan, (1999) a rapporté que les différentes classes de polyphénols essentiellement les tanins et les flavonoïdes peuvent augmenter la toxicité des extraits envers les microorganismes. Cette toxicité est fonction du site et du nombre de groupements hydroxyles présents sur le composé phénolique. En outre, il est évident que l'augmentation de l'hydroxylation conduit à une augmentation de la toxicité. L'effet antimicrobien de ces phénols peut être expliqué par l'inhibition de la croissance bactérienne suite à leur adsorption sur les membranes cellulaires, l'interaction avec les enzymes ou la privation en substrats et ions métalliques (Dhaouadi et al., 2010). La caractérisation chimique récente sur les composés soufrés de l'ail a permis d'indiquer qu'ils sont les principaux agents antimicrobiens actifs (Rose et al., 2005). L'allicine est l'un des principes actifs de broyats d'ail fraîchement écrasé. C'est une molécule instable, peu miscible dans des solutions aqueuses et qui a l'odeur typique de l'ail. L'oxydation à

l'air de ce dernier conduit au disulfure de diallyle (DADS), sulfure de diallyle (DAS), trisulfure de diallyle (DTS) et de dioxyde de soufre (Bruneton, 2009).

La sensibilité peut être due à l'incapacité de la plupart des souches à développer une résistance à l'allicine parce que le mode d'action de ce dernier est totalement différent de celui des autres substances synthétiques. Il a été proposé que le développement de la résistance aux antibiotiques bêta-lactamine soit 1000 fois plus facile que le développement de la résistance à l'allicine (Ankri et Mirelman, 1999). Selon Cantwell, (2000) de fortes variations dans les activités biologiques de la poudre d'ail, sont observées en fonction de leur mode de préparation. Sachant que l'allicine est partiellement soluble dans l'eau étant plus soluble dans l'alcool. Bruneton, (2009) a également confirmé les données de Cantwell, (2000) à propos l'analyse fine des extraits alcooliques d'ail en montrant la présence de produits de condensation de l'allicine, les 6-Z et les 6E-ajoènes (4, 5, 9-trithiadodéca-1, 6, 11-trièn-9-S-oxyde) et de produits de cycloddition du propèthial (vinyldithiines). Ce qui justifie le pouvoir puissant de l'extrait méthanolique contre les souches testées. L'allicine, l'un des principes actifs de broyats d'ail fraîchement écrasé, a une variété d'activités antimicrobiennes. L'allicine dans sa forme pure a été trouvé pour présenter:

- une activité antibactérienne contre une large gamme de bactéries Gram-négatives et Gram- positives, y compris les souches multi-résistantes enterotoxigenic d'*Escherichia coli*;
- une activité antifongique, en particulier contre *Candida albicans* (Ankri et al., 1999).

Par ailleurs, l'ajoène possède une activité antifongique contre: *Scedosporium prolificans* (Davis et al., 2003), *Aspergillus niger* et *Candidas albicans* (Yoshida et al.,1998 ; Nagnawa et al., 1996).

Conclusion et perspectives

De nos jours, l'utilisation des plantes médicinales en phytothérapie a reçu un grand intérêt dans la recherche biomédicale et devient aussi importante que la chimiothérapie. Ce regain d'intérêt vient d'une part du fait que les plantes médicinales représentent une source inépuisable de substances et de composés naturels bioactifs et d'autre part du besoin de la recherche d'une meilleure médication par une thérapie plus douce sans effets secondaires.

Les plantes médicinales restent toujours la source fiable des principes actifs connus par leurs propriétés thérapeutiques. Dans ce travail nous avons entrepris une étude phytochimique et biologique sur l'extrait méthanolique de l'*Allium Sativum L.*

Dans la présente étude, différents aspect d'*Allium sativum* ont été étudiés :

Sur le plan phytochimique, les résultats montrent une composition riche et variée en métabolites secondaires.

L'activité antimicrobienne a été déterminée sur deux souches bactériennes et une souche de levure, selon la méthode de diffusion sur disque, les résultats indiquent que l'extrait a une activité antibactérienne sur toutes les souches testées et une activité antifongique sur la souche *C.albicans*. La méthode de dilution a confirmé les résultats de l'aromatogramme. Les CMI obtenues sont comprises entre 1/32 et 1/8. De même, la détermination de la CMB de l'extrait méthanolique de l'ail nous a permis que l'extrait possède un pouvoir bactéricide sur les deux souches testées comme il y a un pouvoir fongicide sur la levure.

Les résultats obtenus au terme de la présente étude apportent une confirmation quant à l'existence d'une activité antimicrobienne inhérente à l'*Allium sativum L.*

Alors, la poudre et l'extrait ont bien gardé leurs:

- ❖ Qualité —————> Par les tests phytochimique
- ❖ Action antimicrobienne

A la suite de ces résultats, il serait donc intéressant de continuer ce travail sur plusieurs aspects :

- ✚ Elargir l'action de cet extrait sur d'autres souches de bactéries, et des levures.
- ✚ Déterminer la concentration de la composition des molécules bioactifs présentes dans cet extrait, ainsi qu'un screening plus complet des principaux groupes chimiques potentiellement actifs.

Références bibliographiques

- **Ahmed A; Ismaiel; Gamal H; Rabie; Saied E.M; Kenawey; Marwa A.** (2012): Efficacy of aqueous garlic extracts on growth, aflatoxin b1 production, and cyto morphological aberrations of aspergillus flavus, causing human ophthalmic infection: topical treatment of a. *Flavus keratitis*. *Brazilian Journal of Microbiology*, 29:1355-1364.
- **Ahmed M., Djebli N., Meslem A., Aissat S.** (2012). Antibacterial activity of various honey types of Algeria against pathogenic Gram-Negative Bacilli: *Escherichia coli* and *pseudomonas aeruginosa*. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 211-214.
- **Akhad Ndaw D.A.** (1998). Activité bactéricide in vitro de différentes molécules d'antibiotique sur des souches bactériennes d'origine hospitalière. Thèse de Doctorat en pharmacie. Dakar : Université Cheikh antadiop de Dakar, P 19.
- **Amagase H., Petesch B.L., Matsuura H., Kasuga S., Itakura Y.** (2001). Intake of garlic and its bioactive components. *The journal of Nutrition*, 131, 955- 962.
- **Andrews J .M.** (2001). The developement of the BSAC standardization method of disc diffusion testing . *JAC*. Ed: British society for antimicrobial chemotherapy. (48) S129-42.
- **Ankri S., Mirelman D.** (1999). Antimicrobial properties of allicin from garlic Review. *Microbes and infection*. 2, 125-129.
- **Ariga T., Tsuji K., Seki T., Moritomo T., Yamamoto J.** (2000). Antithrombotic and antineoplastic effects of phyto-organosulfur compounds. *Biofactors*, 13 (1-4): P 251-255.
- **Atik bekkara. F., Bousmaha L., Taleb bendiab S.A., Boti J.B., Casanova J.** (2007). Composition chimique de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* L poussant à l'état spontané et cultivé de la région de Tlemcen. *Biologie & Santé*. 7: 6-11.
- **Bachmann J.** (2008). Garlic Organic Production [en ligne], National centre for appropriate technology Etats-Unis, une publication d'ATTRA. Disponible sur : www.attra.ncat.org. (consulté le 10.03.2016).
- **Balentine C.W., Crandal P.G., O'Bryan C.A., Duong D.Q., Pohlman F.W.** (2006). The pre-and post-grinding application of rosemary and its effects on lipid oxidation and color during storage of ground beef. *Meat Science*, 73(3), 413-421.

- **Barasch A., Griffin A.V.** (2008). Miconazole revisited: new evidence of antifungal efficacy from laboratory and clinical trials. *Future Microbiology*. 3: 265-269.
- **Bekkai S., Mazouzi S.** (2011). Contribution à l'étude phytochimique et biochimique d'ail (*Allium sativum*) chez le lapin hyperthyroïdien [en ligne]. Mémoire de Master en Biochimie Appliquée. Annaba : Université Badji Mokhtar, Annaba, P 42. Disponible sur : <http://www.memoireonline.com/02/12/5370/contribution--1-etude-phytochimique-et-biologie-des-deux-extraits-dail-allium-sativum-chez.html> (consulté le 12.03.2016).
- **Belaidi E.B.** (2012). Etude de l'activité antibactérienne des extraits de *Berberis Vulgaris* (L) et *Punica granatum* (L) vis-à-vis de souches bactériennes multi-résistantes aux antibiotiques isolées du C.H.U de Tlemcen. Mémoire de Master en Biologie. Tlemcen : Université Abou Bakr Belkaid, Tlemcen, P : 31.
- **Benhamza L.** (2008). Effets biologiques de la petite centaurie UREE *Erythraea centaureum* (L.) pers. Anatomie pathologique/pharmacologique. Thèse de doctorat. Université Mentouri-Constantine. Algérie, P : 130.
- **Benzeggouta N.** (2005). Etude de l'activité antibactérienne des Huiles Infusées de Quatre plantes médicinales connues comme Aliments. Mémoire de Magister en Pharmacochimie, Constantine : Université Mentouri de Constantine, P 95-131.
- **Berbaoui H., Gherdine A., Cheriti A., & Belboukhari N.** (2009). Comparaison de l'effet de deux antifongiques usuels et deux antifongiques utilisés en médecine traditionnelle à Bechar. P 9-11. *Publication Académique*. ISSN : 1112-6604 Fondée en 2004, numéro 5. Direction des Annales, Université de Bechar. Disponible sur : <http://www.univ-bechar.dz/hawliyat.html> (consulté le 16.02.2016).
- **Berch P., Kayal S., Nassif X., Poyart C.** (2003). *Bactériologie systématique D.C.E.M I[en ligne]*, P: 12-75. Disponible sur : <http://pharmacie.e-monsite.com/medias/files/bactériologie-systemique.pdf> (consulté le 10-03-2016).
- **Billing J., Sherman P.W.** (1998). Antimicrobial Function of Spices: Why Some Like it Hot. *Q. Rev. Biol*, 73, 3-49.
- **Block E., Naganathan S., Putman D., Zhao S. H.** (1992). Allium chemistry: HPLC analysis of thiosulfonates from onion, garlic, wild garlic, leek, scallion,

- shallot, elephant garlic, and Chinese chive. Uniquely high allyl to methyl ratios in some garlic samples. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 40: 2418–2430.
- **Bossche V.H., Engelen M., Rochette F.** (2003). Antifungal agents of use in animal health – chemical, biochemical and pharmacological aspects. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*. 26: 5-29.
 - **Boukri N.** (2014). Contribution à l'étude phytochimique des extraits bruts des épices contenus dans le mélange Ras-el- hanout. Mémoire de Master en Biochimie Appliqué. Ouargla : Université Kasdi merbah, Ouargla, P : 19-20-35-41-45-54.
 - **Bousseboua H.** (2001, 2006). *Eléments de microbiologie générale*. 32, P 160-167.
 - **Bruneton J.** (1999). *Pharmacognosie : Photochimie, plantes médicinales*. 3^{ème} édition. Paris : Techniques et documentations, P : 227-494.
 - **Bruneton J.** (2009). *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales*. 4^{ème} édition. Paris : Lavoisier (TEC& DOC), P 240-241,243-244. ISBN : 978-2-7430-1188-8.
 - **Callery E.** (1998). *Le grand Livre des herbes : le guide pratique de la culture, du séchage et des vertus de plus de 50 herbes*. Allemagne : P 32-33. ISBN : 3-8290-0873-2.
 - **Cantwell M.** (2000). Alliin in Garlic. *Perishables Handling Quarterly*, 102, 5-6.
 - **Cavallito C.J., Bailey J.H.** (1944). Allicin, the antibiotic principle of *Allium sativum*.
 - **Chiang Y., Jen L., Su H., Lii C., Sheen L., Liu C.** (2006). Effects of garlic oil and two of its major organosulfur compounds, diallyl disulfide and diallyl trisulfide, on intestinal damage in rats Injected with endotoxin. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 213 (1): P 46-54.
 - **Chung L.Y.** (2006). The antioxidant properties of garlic compounds: allyl cysteine, alliin, allicin, and allyl disulfide. *Journal of Medicinal Food*. 9 (2): P 205-213.
 - **Cowan M.M.** (1999). Plants products as antimicrobial agents, *clinical Microbiology Reviws*, 12(4), 564-582.
 - **Cristani M., D'Arrigo M., Mandalari G., Castelli F., Sarpietro M.G., Micieli D., Venuti V., Bisignano G., Saija A., Trombetta D.** (2007). Interaction of four monoterpenes contained in essential oils with model membranes: implications for their antibacterial activity. *J. Agric. Food Chem.* 55: 6300-6308.

- **Curie M., Pierre.** (2002-2003). *Bactériologie DCEM 1 [en ligne]*. Paris : CHU-Pitié Salpêtrière, P 29-30-31-61-69-72. Disponible sur : <http://www.chups.jussieu.fr/polus/bacterio/bacterio.pdf> (Consulté le 05.03.2016).
- **Daif N.** (1993). L'ail, *Allium sativum L.* (Liliacées) : de la tradition à ses perspectives en thérapeutique moderne Thèse De Doctorat: Pharm. Nancy : 112,104 f.
- **Damrau F., Ferguson E.A.** (1949). The Modus Operandi of Carminatives: The Therapeutic Value of Garlic in Functional Gastrointestinal Disorders. *The American Journal of Gastroenterology*. 16 (5): P 411-419.
- **Davidson P.M.** (1997). Chemical preservatives and natural antimicrobial compounds. In: Doyle, M.P., Beuchat, L.R. & Montville, T.J. (Eds.). *Food Microbiology-Fundamentals and Frontiers*. Washington D.C., ASM Press: 520-556.
- **DAVIS L. E; JINKUN, S; ROYER R. E.** (1994). "In vitro synergism of concentrated *Allium sativum* extracts and amphotericin B against *Cryptococcus neoformans*", *Planta Medica*, 60(6) : 546-549.
- **Dennis F., Marie C.** (2013). *Bactériologie médicale*. 2^{ème} édition. Paris : Elsevier Masson, P : 126-336.
- **Dethier B.** (2010). Contribution à l'étude de la synthèse de l'alliine de l'ail. Mémoire de master : bioingénieur en chimie. Liège : université de liège, P 238.
- **Dhaouadi K., Raboudi F., Estevan C., Barrajon E., Vilanovéa E., Hamdaoui M., Fattouch S.** (2010). Cell Viability Effects and Antioxidant and Antimicrobial Activities of Tunisian Date Syrup (Rub El Tamer) Polyphenolic Extracts. *J. AGRIC. Food Chem*, 59, 402-406.
- **Djenadi F.** (2011). Contribution à l'étude de l'activité antimicrobienne du genévrier (*Juniperus phoenicea*): essai des huiles essentielles et composés phénolique [en ligne], Mémoire de Master en Biochimie Appliqué, Bejaia, Université A Mira .Disponible sur : http://www.memoireonline.com/01/13/6764/m_Contribution--1-etude-de-l-activite-antimicrobienne-dugenevrier-juniperus-phoenicea--essai-d4.html consulté le (20-02-2016).
- **Dohou N., Yammik K., Tahrouch S.** (2003). Screening phytochimique d'une endémique ibéro-Marocaine, *Thumelae alythroides*, *Bull Soc Pharm, Bordeaux*, 142, 61-78.

- **Du W.X., Olsen c.w., Avena-bustillos R.J., Mchugh T.H., Levin C.E., Mandrell R., Friedman M.** (2009). Antibacterial Effects of Allspice, Garlic, and Oregano Essential Oils in Tomato Films Determined by Overlay and Vapor- Phase Methods. *Journal of Food Science*, 74 (7): M390-M397.
- **Dziri S., Hassen I., Fatnassi S., Mrabet Y., Casabianca H., Hanachi B., Hosni K.** (2012). Phenolic Constituents. Antioxidant and antimicrobial activities of rosy garlic (*Allium roseum* var. *odoratissimum*). *Journal of functional Foods*, 4, 423-432.
- **Edeogal H.O., Okwu D.E., Mbaebie B.O.** (2005). Phytochemical constituents of some Nigerian medicinal plants. *African journal of Biotechnology*, 4(7), 685-686.
- **Effendi L., Yajun Y., Hana T.k.** (2008). Functional expression of flavonoid hydroxylase for the biosynthesis of plant-specific hydroxylated flavonols in *Escherichia coli*. *Metab. Eng*, 8, p: 172-181.
- **Elnima EI., Ahmed SA., Mekkawi AG., & Mossa JS.** (1983). The antimicrobial activity of Garlic and onion extracts. *Pharmazie*, 38 (11), P: 747-748.
- **Farhat A.K., Mohammad Z.** (2014). Preservation of poultry feed by using different powdered plants. *Life Sci J*; 11(1s): [9-14]. (ISSN: 1097-8135). <http://www.lifesciencesite.com>.
- **Fromtling R.A.** (1988). Overview of medically important antifungal azole derivatives. *Clinical Microbiology Reviews*. 1 : 187-217.
- **Garcia-Ruiz A., Bartolomé B., Martínez- Rodriguez A.J., Pueyo E., Martín-Alvarez P.J., Moreno-Arribas M.V.** (2008). Potential of phenolic compounds for controlling lactic acid bacteria growth in wine. *Food Control*, 19, 835-841.
- **Gazengel Jean-Marie., Orecchioni Anne-Marie.** (2013). *Le préparation- Guide théorique et pratique 2éme Ed.* Paris: Lavoisier, P275 .ISBN: 978-2-7430-1371-4.
- **Ghestem A., Seguin E., Paris M., Orecchioni A.M.** (2001). *Le préparateur en pharmacie dossier 2ème Ed TEC&DOC.* Paris, P 275. (Cited in Djemai Zoueglache S, 2008).
- **Girre L.** (2001). *Les plantes et les médicaments: l'origine végétale de nos médicaments.* Paris: Delachaux et Niestlé, P 253.
- **Goetz P., Ghédira K.** (2012). *Phytothérapie anti-infectieuse.* Paris : Springer Science& Business Media, P 210-212-213-216-217. ISBN : 978-2-8178-0057-8.

- **Gorinstein S., Leontowicz H., et al.** (2006). Raw and boiled garlic enhances plasma antioxidant activity and improves plasma lipid metabolism in cholesterol-fed rats. *Life Sci*, 78(6): 655-63. 7.
- **Goumni Z., Salhi A.** (2013). Evaluation de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle extrait de la plante laurus nobilis L. Mémoire de Master en biotechnologie végétal. Ouargla : Université Kasdi Merbah, Ouargla, P : 13-24.
- **Greathead H.** (2003). Plants and plant extracts for improving animal productivity. *Proceedings of the Nutrition Society*, P: 62,279-290.
- **Grubben G.J.H.** (2004). Légumes, volume 2 de ressources végétales de l'Afrique tropicale. Wageningen, Pays-bas : PROTA, P 61-63-64-65. ISBN : 90-5782-149-4.
- **Grun-Thomas.** (1998). Stéphanie Etude de trois plantes médicinales et condimentaires : l'ail, le safran, le romarin Th. : Pharm. : Nancy 1 : 63,137 f.
- **Guiraud J.P.** (1998). Microbiologie alimentaire. Ed. Dunod. P 71-75.
- **Hamidi A.** (2013). Etude phytochimique et activité biologique de la plante *Limoniastrum guyonianum*. Mémoire de magister. Ouargla : Université Kasdi Merbah, P 86.
- **Harenberg J., Giese C., Zimmermann R.** (1988). Effects of dried garlic on blood coagulation, fibrinolysis, platelet aggregation, and serum cholesterol levels in patients with hyperlipoproteinemia. *Atherosclerosis*. 74: P 247-249.
- **Hart K.J., Yanez-Ruiz D.R., Duval S.M., Mcewan N.R. & Newbold C.J.** (2008). Plant extracts to manipulate rumen fermentation. *Animal Feed Science and Technology*, P : 147 : 8-35.
- **Hemingway R.W.** (1992). Structural variation in proanthocyanidins and their derivatives. In: *Plant polyphenols: synthesis, properties, significance*. Plenum Press, New York. P 83-107. ISBN: 978-1-4684 -7513-5.
- **Hopkins W.G.** (2003). Physiologie végétale. 2^{ème} édition. Américaine, De Boeck et Lancier S A, Paris, P : 514.
- **Hubbard G.P., Wolfram S., Lovegrove J.A., Gibbins J.M.** (2004). Ingestion of quercetin inhibits platelet aggregation and essential components of the collagen-stimulated platelet activation pathway in humans. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. 2: P 2138-2145.
- **Igor Passi L.B.** (2002). Etude des activités biologiques de Fagara Zanthoxyloïdes, lam (Rutaceae). Thèse de pharmacie, Bamako, P : 133.

- **Irkin R., Korukluoglu M.** (2007). Control of *Aspergillus niger* with garlic, onion and leek extracts. *African Journal of Biotechnology* 6(4): 384-387.
- **Iserin P.** (2001). Larousse Encyclopédie des plantes médicinales, Ed. Larousse, P: 10-17 & P: 132.
- **Judd C., Kellogg., Stevens.** (2002). Botanique systématique une perspective phylogénétique. 1ère édition. Paris, Bruxelles : De Boeck Université, P : 84.
- **Jung S.** (2005). Apport des drogues végétales dans la prévention des maladies cardiovasculaires liées à l'hypercholestérolémie. Thèse de Doctorat en Pharmacie. Nancy : Université Henri Poincaré_nancy1, P 149.
- **Jürgen R., Paul S., Ulrike S., & Reinhard S.** (2009). Essential oils of aromatic plants with Antibacterial, Antifungal, Antiviral, and Cytotoxic Properties an-overview. *Forsch Komplementmed*, 16, 79-90. DOI : 10.1159/000207196.
- **Kallel F., Driss D., Chaari F., Belghith L., Bouaziz F., GHorbel R., CHaabouni S.E.** (2014). Garlic (*Allium sativum L*) husk waste as a potential source of phenolic compounds: Influence of extracting solvents on its antimicrobial and antioxidant properties. *Industrial Crops and Products*, 62, 34-41. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.04.047>.
- **Kanoun K.** (2011). Contribution à l'étude phytochimique et activité antioxydante des extraits de *Myrtus communis L.* (Rayhane) de la région de Tlemcen : Université Abou bakr Belkaid, Tlemcen, P 41. Disponible sur : [http://dspace.univ-tlemcen.dz/bistream/112/268/1/Contribution-a-letude-phytochimique-et-activite-antioxydante-des-extraits-de-Myrtus-communis-L.%28Rayhane %29 de-la-region-de-Tlemcen%28Honaine%29.pdf](http://dspace.univ-tlemcen.dz/bistream/112/268/1/Contribution-a-letude-phytochimique-et-activite-antioxydante-des-extraits-de-Myrtus-communis-L.%28Rayhane%29-de-la-region-de-Tlemcen%28Honaine%29.pdf) (Consulté le 14.02.2016).
- **Kansole M. M. R.** (2009). Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de quelques lamiaceae du Burkina Faso : cas de *leucas martinicensis* (Jacquin) R. Brawn, *Hoslundia oppossta vahl* et *Orthosiph onpallidus royle ex benth*. Mémoire pour obtenir un diplôme d'Etudes approfondies (D.E.A) en Sciences Biologiques Appliquées, Burkina Faso, p : 240.
- **Karumi Y., Onyeyili P.A., Ogugbuaja V.O.** (2004). Identification of active principles of *M. balsamina* (balsam Apple) leaf extract. *J. Med. Sci*, 4(3),179-182.
- **Kreif S.** (2003). Métabolites secondaires des plantes et comportement animal, thèse doctorat, muséum national d'histoire naturelle : surveillance sanitaire et

- observations de l'alimentation de chimpanzés en Ouganda. Activités biologiques et étude chimique de plantes consommées. Thèse de Doctorat. P 32. Disponible sur : <http://tel.archives-ouvertes.fr/tel-00006170/document> (consulté le 15.03. 2016).
- **Lahlah F.Z.** (2008). Extraction des flavonoïdes par le butanol et le chloroforme à partir de silybum marianum et étude de leur activité antimicrobienne. Mémoire de Magister en Microbiologie appliqué. Constantine : Université de Mentouri Constantine, P : 40.
 - **Lansing M., Prescott J., Harley Donald A., Klein,** (2003). Microbiologie 2ème Edition. Bruxelles : Boeck. P: 104-811-818-819.
 - **Leclerc H.** (1976). Précis de phytothérapie: essai de thérapeutique par les plantes françaises Paris: Masson, p 363.
 - **Leclerc H., Gaillard JL., Simonet M.** (1995). Microbiologie générale, la bactérie et le monde bactérien. Doin Editeurs. Paris. P : 130.
 - **Lefief-Delcourt A.** (2012). L'ail malin : les 1001 secrets de cet ingrédient magique pour la santé, la maison et la cuisine. LEDUC.S, P 24-25-34. ISBN : 978-2-884899-473-4.
 - **Les recommandations du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CASFM).** (2009) Documents pdf téléchargeables à http://www.sfmmicrobiologie.org/UserFiles/file/CASFM/casfm_2009.pdf et http://www.sfmmicrobiologie.org/UserFiles/file/CASFM/casfm_2010.pdf
 - **Leung A Y.** (1980). Encyclopedia of common natural ingredients used in food drugs and cosmetics. Wiley-Interscience Publication New York, P: 15-18.
 - **Liang-liang Z., Yi-Ming Lin., Hai-Chao Zhou., Shu-Dong Wei., & Jia-Hong Chen.** (2010). Condensed Tannins from Mangrove Species *Kandeliacandeland Rhizophora mangle* and Their Antioxidant Activity. *Molecules*, 15, 420-431.ISSN: 1420-3049.
 - **Liu X.C., Lu X.N., Liu Q.Z., Liu Z.L.** (2014). Evaluation of insecticidal activity of the essential oil of *Allium chinense* G. Don and its major constituents against *Liposcelis bostrychophila* Badonnel. *Journal of Asia-Pacific Entomology* 17(4): 853–856.
 - **Mangambu M.J.D., Mushagalusa Kasali.F., Kadima N.J.** (2014). Contribution à l'étude phytochimique de quelques plantes médicinales antidiabétique de la ville de

- Bukavu et ses environs (Sud-Kivu, R.D.Congo). *Journal of Applied Biosciences*, 75, 6212-6220. ISSN : 1997-5902.
- **Mbojndeye A.** (2003). Etude de l'activité antidiabétique des extraits acétoniques, méthanoliques et hexaniques de *vernonia colorata* (willd/drake composées chez des rats wistar). thèse de Doctorat en pharmacie. Dakar : Université Cheikh Anta Diop, Dakar, P : 61.
 - **Medic-Saric M., Jasprica I., Smolcic Bubalo A., Momar A.** (2003). Optimization of chromatographic conditions in Thin layer Chromatography of Flavonoids and Phenolic Acids. *Croatica Chemica Acta*, 77 (1-2), 361-366.
 - **Medjeldi Marzougui S.** (2012). Peroxydase d'origine végétale : purification, caractérisation biochimique, immobilisation et application dans la détermination des peroxydes au niveau des aliments conservés. Thèse de Doctorat en Biochimie Appliqué. Annaba : Université Badji Mokhtar, Annaba, P : 14-15-17-19.
 - **Mirelman D., Monheit D., Varon S.** (1987). Inhibition of growth of *Entamoeba histolytica* by Allicin, the active principle of garlic extract (*Allium sativum*), *J. Infect. Dis.* 156 (1987) 243–244.
 - **Mohammedi Z.** (2013). Etude phytochimique et activités biologiques de quelques plantes médicinales de la région nord et sud-ouest de l'Algérie. Substances naturelles, activités biologiques et synthèses. Université Abou Bakr Belkaid, Tlemcen, p : 155.
 - **Mohammedi Z.** (2006). Etude de pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et des flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen. Thèse magistère, Université Abou Bakr Belkaid, Tlemcen, P : 170.
 - **Naganawa R., Iwata N., Ishikawa K., Fukuda H., Fujino T., Sukuzi A.** (1996). Inhibition of microbial growth by ajoene, sulfur-containing compound derived from garlic. *Appl. Environ, microbiol*, 62: 4238-4242.
 - **Nair R., Chanda S.** (2005). Anticandidal activity of *Punica granatum* exhibited in different solvents. *Pharmaceutical Biology*. 43: 21-5.
 - **Najjaa H., Zerria K., Fattouch S., Ammar E., & Neffati M.** (2010). Antioxidant and antimicrobial activities of *Allium roseum L.* "Lazoul", a wild edible endemic species in North Africa. *International Journal of Food Properties*, 14, 371-380.
 - **Najjaa H., Zouari S., Ingrid A., Auger J., Ammar E., & Neffati M.** (2011). Différences et similitudes des métabolites secondaires chez deux espèce de genre

- Allium*, *Allium roseum* L. et *Allium ampeloprasum* L. Acta Bot. Gallica, 158(1), 111-123.
- **Nauciel C., Vildé J.L.** (2005). Bactériologie médicale. 2ème édition. Paris : Masson, P : 10. ISBN : 2-294-01858-3.
 - **Odds F. C.** (1988). Candida and Candidosis (Baillere Tindall, London). p : 68-92
 - **O'gara EA, Hill DJ., & Maslin DJ.** (2000). Activities of garlic oil, garlic powder and their Diallyl constituents against *Helicobacter pylori*. *Applied and Environmental Microbiology*, 66: P: 2269-2273.
 - **Ohta R., Yamada N., Kaneko H., Ishikawa K., Fukuda H., Fujino T., & Suzuki A.** (1999). *In vitro* inhibition of the growth of *Helicobacter pylori* by oil-macerated garlic constituents. *Antimicrobial Agents and chemotherapy*. 43, P: 1811-1812.
 - **Okmu D.E.** (2005). Phytochemicals, vitamins and mineral contents of two Nigerian medicinal plants. *Int J Mol AdvSci*, 1(14), 375-381.
 - **Perry J., Staley J., Lorry S.** (2002). Microbiologie. Cours et question de révision. P : 159.
 - **Quatresooz P., Vroome V., Borgers M., Cauwenbergh G., Pierard G.E.** (2008). Novelties in the multifaceted miconazole effects on skin disorders. *Expert Opinion on Pharmacotherapy*. 9 : 1927-1934.
 - **Rabinkov A., Wilchek M., Mirelman D.** (1998). Alliinase (alliin lyase) from garlic (*Allium sativum*) is glycosylated at ASN146 and forms a complex with a garlic mannospecific lectin, *Glycoconj. J.* 12. 690–698.
 - **Rahal et al.** (2005). Standardisation de l'antibiogramme en médecine humaine à l'échelle nationale .selon les recommandations de L'OMS. 4^{ème} édition. P7-P8.
 - **Rahal K., Benslimani A., Tali-Maamar H; Missoum M.F.K., Kechih-Boumar S., Ammari H.** (2011). Standardisation de l'antibiogramme en médecine vétérinaires à l'échelle nationale. 6ème Edition, P 25-26.
 - **Reuter H.D.** (1995). *Allium sativum* and *Allium ursinum*: Part 2 Pharmacology and Medicinal Application. *Phytomedicine*, 2(1), 73-91.
 - **Rizk A.M.** (1982). Constituents of plants growing in Qatar. *Fitoterrapia*, 52(2), 35-42.
 - **Rose P., Whiteman M., Moore P.K., Zhu Y.Z.** (2005). Bioactive S-alk(en)yl cysteine sulfoxide metabolites in the genus *Allium* : the chemistry of potential therapeutic agents. *Natural Product Reports*, 22,351-368.

- **Ross Z.M., O'gara EA., Hill DJ., Sleightholme HV., & Maslin DJ.** (2001). Antimicrobial Properties of garlic oil against Human enteric bacteria: Evaluation of methodologies and comparisons with garlic oil sulfides and garlic powder. *Applied and Environmental Microbiology*, 67, P: 475-480.
- **Roux D., Catier O.** (2007). Botanique, pharmacognosie, phytothérapie Cahiers du préparateur en pharmacie. 3ème édition. France: Wolters Kluwer, P 13- 112. ISBN: 978-2-915585-52-0.
- **Santhosha S.G., Prakash J., Prabhavathi S.N.** (2013). Bioactive components of garlic and their physiological role in health maintenance: A review. *Food Bioscience*, 3, 59-74. DOI: <http://dx.doi.org/1016/g.fbio.2013.07.001>
- **Sarni-manchado P., Cheynier V.** (2006). Les polyphénols en agroalimentaire. Ed Lavoisier et Tec &Doc, Paris : 300-398.
- **Sarni-Manchado P., Veronique C.** (2006). Les polyphénols agroalimentaires. Collection sciences et techniques agroalimentaires, ED. TEC et DOC, Paris, P : 398.
- **Satiadev S.** (1998). L'ail condiment et médicament. *PROSI Magazine* – N° 351.
- **Scalbert A.** (1999). Antimicrobial properties of tannins. *phytochemistry*, 30, 3875-3883.
- **Schauenberg P.** (1977). Guide des plantes médicinales Paris: Delachaux et Niestlé, P 396.
- **Seladji Sidi-Mohamed Chahr-Eddine (2013).** Etude phytochimique et activités biologiques (antioxydante et antimicrobienne) des composés phénolique des extraits de la partie aérienne de *Pituranthos chloranthus* (Guezzeh) de la région de Biskra. Mémoire de Master Académique en biologie. Tlemcen : Université Abou Bekr Belkaid, Tlemcen, P : 31-45.
- **Sendl A., Schliack M., Löser R., Stanislaus F., Wagner H.** (1992). Inhibition of cholesterol synthesis *in vitro* by extracts and isolated compounds prepared from garlic and wild garlic. *Artherosclerosis*. 94 (1), P : 79-85.
- **Seyoum A., Asres K., EL-Fiky F.K.** (2006). Structure-radical scavenging activity relationships of flavonoids. *Phytochemistry*, 67, 2058-2070.
- **Shaath N.A., Flores FB., Osman M., Abd-El Aal M.** (1995). The essential oil of *Allium sativum L*, Liliaceae (Garlic). In Charalambous G (Ed.), Food Flavors: Generation, Analysis and Process influence. Elsevier Science.

- **Silagy C.A., Neil H.A.** (1994). A meta-analysis of the effect of garlic on blood pressure. *Journal of Hypertension*.12 (4), P: 463-468.
- **Silagy C.A., Neil H.A.** (1994). Garlic as a lipid lowering agent: a meta-analysis. *Journal of the Royal College of Physicians of London*. 28: P: 39-45.
- **Singleton P.** (2005). Bactériologie pour la Médecine, La Biologie et les biotechnologies. 6ème édition. Paris : Dunod, P : 455-464-465-515-517. ISBN : 2100488732.
- **Soro T.Y., Traoré F., Sakande J.** (2009). Activité analgésique de l'extrait aqueux de *Ximénia Americana* (Linné) (Olacaceae).C.R.Biologies, 332,371-377.
- **Tattelman E.** (2005). Health effects of garlic. *Am Fam Physician*, 72(1):103-6.
- **Toty A.A., Guessenn N., Bahi C., Kra A.M., Otokore D. A., Dosso M.** (2013). Evaluation in-vitro de l'activité antibactérienne de l'extrait aqueux de l'écorce de tronc de *Harunganamadagascariensis* sur la croissance de souches multi-résistantes. Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège, 82, P : 12-21.
- **Tsao S.M., Hsu C.C., Yin M.C.** (2003). Garlic extract and two diallylsulphides inhibits methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection in BALB/c Amice. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 52, 974-980.
- **Tsao SM., Yin MC.** (2001). In-vitro activity of garlic oil and four diallyl sulphides against antibiotic-resistant *Pseudomonas aeruginosa* and *Klebsiella pneumoniae*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 47, P : 667-670.
- **Veldhuizen E.J.A., Hendriks H.G., Hogenkamp A., van Dijk A., Gaastra W., Tooten P.C., Haagsman H.P.** (2006). Differential regulation of porcine betadefensins 1 and 2 upon *Salmonella* infection in the intestinal epithelial cell line IPI-2I. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 114: 94–102.
- **Vermerris W.** (2006). Phenolic compound biochemistry, Springer, Dordrecht. ISBN-101-4020- 5163-8 (HB).
- **Weber ND., Andersen DO., North JA., Murray BK., Lawson LD., & Hughes BG.** (1992). *In vitro* virucidal effects of *Allium sativum* (garlic) extract and compounds. *Planta Medica*, 58, P : 417-423.
- **Wichtl M., Anton R.** (2009). Plants thérapeutiques tradition, pratique officinale, science et thérapeutique. Ed. Lavoisier. Paris, P : 130.

- **Wichtl Max., Anton R.** (2003). Plantes thérapeutiques: tradition, pratique officinale, science et thérapeutique, 2^{ème} édition Paris: Ed. Tee & doc-Lavoisier; Cachan: Ed. Médicales Internationales. P: 692.
- **Wilson A.** (1987). Flavonoids pigments in chalkhill bleu (*Lysandra coridonpoda*) and other lycaenid butterflies. *Journal of Chemical Ecology* [en ligne]. 13 (3), 473-493. Disponible sur : <http://link.springer.com/article/10.1007%2FBF01880094> (consulté le 10.03.2016).
- **Winkler G., Iberl B., & Knobloch K.** (1992). Reactivity of Allicin and its transformation products with sulfhydryl groups, disulfide groups and human blood. *Planta Medica*, P: 58.
- **Yakhlef G.** (2010). Etude de l'activité biologique des extraits. Mémoire de Magister en Biochimie Appliqué. Batna : Université El Hadj Lakhdar, Batna, P : 40-54-56.
- **Ye C.L., Dai D.H. & Hu W.L.** (2013). Antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil from onion (*Allium cepa* L.). *food control* 30(1): 48–53.
- **Yoshida H., Iwata N., Katsuzaki H., Naganawa R., Ishikawa K., Fukuda H., Fujino T., & Suzuki A.** (1998). Antimicrobial activity of a compound isolated from an oil-macerated garlic extract. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 62(5): P: 1014-1017.
- **Yoshida H., Katsuzaki H., Ohta R., Ishikawa K., Fukuda H., Fujino T., & Suzuki A.** (1999). Antimicrobial activity of the thiosulfates isolated from oil-macerated garlic extract. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 63(3): P: 591-594.
- **Zaghad N.** (2009). Polyphénolique deux plantes médicinales d'intérêt économique (*thymus vulgaris*, *rosmarinus officinalis*) et évaluation de leur activité antibactérienne. *Biotechnologie végétale, université mentouri Constantine*. P : 41-42.
- **Zaika L.** (1988). Spices and Herbs, Their Antimicrobial Activity and Its determination. *Journal of Food Safety*. 9(2): 97-118.
- **Zhou W.** (2003). Acute lymphangitis treated by moxibustion with garlic in 118 cases. *Journal of Traditional Clinical Medicine*, 23, 198.

Site Web

1. International Research Institute of the Tibetan Medicine (Tibetan medicine encyclopedia, [En ligne]. Disponible sur : http://www.doctorgarma.com/rst/allium_sativum/ (page consultée le 02.03.2016).
2. Stéphane Lenfant. (1997). Historique. *Ail* on line – Le seul site reconnaissable à son odeur. Disponible sur : <http://home.nordnet.fr/slenfant/ail/index.shtml> (consulté le 13.02.2016).
3. Wikimedia Fondation. (2010). Wikipédia – L'encyclopédie libre. *Ail* cultivé [en ligne]. Disponible sur : http://fr.wikipedia.org/wiki/ail_cultiv%C3%A9 (Consulté le 18.02.2016).
4. Ministère de l'agriculture, de l'alimentation et des affaires rurales (OMAFRA) [En ligne]. Fiche technique : La culture de l'ail. (2002). Disponible sur : <http://www.omafra.gov.on.ca/french/crops/facts/97-008.htm> (Consulté le 14.02.2016).
5. Oregon State University. Garlic, Commercial Vegetable Production Guide [En ligne]. (2004). Disponible sur : <http://hort-develnwrec.hort.oregonstate.edu/garlic.html> (Consulté le 15.02.2016).
6. Filière des plantes médicinales biologiques du Québec. *Allium sativum*, Guide de production sous régie biologique [en ligne]. Edition 2009. Disponible sur : «<http://www.agrireseau.qc.ca/agriculturebiologique/documents/guide-ail.pdf>». (Consulté le 20.02.2016).

Annexes

Annexe 1

1.1 Matériel screening phytochimique

1.1.1 les produits chimiques et les réactifs

- H_2SO_4 , $FeCl_3$, HCl , NH_4OH , $NaOH$.
- Réactif de Mayer, Réactif de stiasny, Acétate de sodium.
- Eau distillée.

1.2 Matériels bactériologique

1.2.1 Produits utilisés

- Méthanol, l'eau physiologique.
- Gélose Nutritive, Gélose de Mueller Hinton, Gélose Chapman, Gélose Sabouraud, Bouillon nutritif, Bouillon Sabouraud.

1.1.2 Les équipements

- Autoclave.
- Four pasteur.
- Etuve.
- Bain marré.
- Réfrigérateur.
- Balance.
- Balance de précision.
- Agitateur Vortex.
- Spectrophotomètre.

Annexe 2

2.1 Milieux de culture solides

2.1.1 Gélose nutritive

* Composition

- Extrait de viande de bœuf.....5 à 10g
- Peptone.....10g
- Chlorure de sodium.....5g
- Agar.....15g
- Eau distillée.....1000ml

* Préparation

- Après dissolution de tous les ingrédients dans l'eau distillée, ajuster le pH à 7,4 et stériliser à 120°C pendant 20 min.

2.1.2 Gélose Chapman

*Composition

- Extrait de viande.....1g
- Extrait de levure.....3g
- Tryptone.....5g
- Peptone bactériologique.....10g
- Chlorure de sodium.....70g
- Mannitol.....0,025g
- Agar.....15g

* Préparation

- Après dissolution de tous les ingrédients dans l'eau distillée, ajuster le pH à 7,4 et stériliser à l'autoclave 20min à 120°C.

2.1.3 Gélose Mueller Hinton

*Composition

- Infusion de viande de bœuf.....4g
- Hydrolysate acide de caséine17,5g
- Amidon de maïs.....1,5g
- Agar12g

*Préparation

- Après dissolution de tous les ingrédients dans l'eau distillée, ajuster le pH à 7,3 et stériliser à l'autoclave 15 min à 121°C.

2.2. Milieux de culture liquides

2.2.1 Bouillon nutritif

* Composition

- Peptone10g
- Chlorure de Sodium.....5g
- Extrait de bœuf.....5 à 10g
- Eau distillée.....100ml

*Préparation

- Après dissolution de tous les ingrédients dans l'eau distillée, ajuster le pH à 7,3 et stériliser à l'autoclave 15 min à 121°C.

2.3 Préparation de l'eau physiologique

* Composition

- Chlorure de sodium9g
- Eau distillée1000g

***Préparation**

- Après dissolution de chlorure de sodium dans l'eau distillée, ajuster le pH et stériliser à l'autoclave à 121°C pendant 30min.

2.4 Préparation de la solution 0.5 Mac Farland

*** Composition**

- BaCl₂ déshydraté à 1%.....0,5ml
- H₂SO₄ à 1%.....99 .5 ml

***Préparation**

- Mélanger 1% d'une solution de BaCl₂ dans 1% de l'acide sulfurique (H₂SO₄)

- Solution de BaCl₂ à 1%

Dissoudre 1 g de BaCl₂ dans 100ml d'eau distillée.

- Solution d'H₂SO₄ à 1%

Prélever 1ml d'acide sulfurique et compléter le volume jusqu'au 100 ml par l'eau distillée.

2.5 Préparation de bouillon de sabouraud

***Composition**

- Tryptone.....5g/L
- Peptone pepsique de viande..... .5g/L
- Glucose.....20g/L

PH du milieu prêt à l'emploi à 25°C :5,7+/- 0,2

***Préparation**

- Mettre en solution 30 grammes de milieu déshydraté dans 1litre d'eau distillée ou déminéralisée.
- Agiter lentement, jusqu'à dissolution complète.

- Répartir en tube ou en flacons stériliser à l'autoclave à 121°C pendant 15minutes
- Tenir le flacon soigneusement fermé entre +2 et +30°C usage in vitro. Ne pas ingère, Ne pas inhaler.

Résumé

Afin de valider l'utilisation traditionnelle des plantes dans le traitement de certaines maladies causées par des germes pathogènes, *Allium sativum L*; une plante utilisée en médecine traditionnelle dans le traitement de ces maladies a été investiguée pour ses propriétés antimicrobiennes (antibactérienne, antifongique). Le screening phytochimique sur la poudre d'ail a permis de mettre en évidence la présence des métabolites secondaires : les saponosides, les tanins, les flavonoïdes, les stérols et les terpènes ainsi que l'aliine qui est le précurseur de l'allicine. Les méthodes de la diffusion en milieu gélosé et en milieu liquide ont été utilisées pour tester l'activité antimicrobienne de l'extrait méthanolique et la détermination de la CMI, CMB et la CMF. Les différents tests ont été effectués sur trois souches dont deux souches bactériennes et une levure. Les Concentrations minimales inhibitrices de l'extrait variant entre 1/32 et 1/8, les concentrations minimales bactéricides entre 1/32 et 1/4 et la Concentration minimale fongicide est égale à 1/8. La plus faible valeur de CMI et de CMB a été observée avec *S.aureus*. Tandis que la plus grande valeur de ces mêmes a été obtenue sur *E.coli*, et une grande valeur de CMF a été obtenue sur *C.albicans*. Cet extrait a exercé une activité bactéricide et fongicide sur toutes les souches testées. Ceci pourrait justifier l'utilisation de l'ail dans le traitement de diverses infections.

Mots clés : *Allium sativum L*, activité antibactérienne, activité antifongique, l'extrait méthanolique, Allicine, Aliine.

Abstract

To validate the traditional use of plants in the treatment of certain diseases caused by pathogens germs, *Allium sativum L*; a plant used in traditional medicine in the treatment of these diseases has been investigated for its antimicrobial properties (antibacterial, antifungal). The phytochemical screening of garlic powder has allowed to highlight the presence of secondary metabolites : the saponins, alkaloids, tannins, flavonoids, sterols and terpenes and allin which is the precursor of Allicin. The methods of disk diffusion and liquid medium were used for testing the antimicrobial effect of methanolic extract and the determination of the MIC, MBC and MFC respectively. The different tests were performed on three strains which two are bacterial strains and yeast. The minimum inhibitory concentrations of the extract varied between 1/32 and 1/8, the minimum bactericidal concentrations are between 1/32 and 1/4 and the minimum fungicidal concentration is 1/8. The lower value of MIC and MBC was observed with *S.aureus* while the greatest value of these parameters was obtained on *E.coli*, and a great value of MFC was obtained on *C.albicans*. This extract exerted a bactericidal and fungicidal activity against all strains tested. This might justify the use of *Allium sativum* in the treatment of various infections.

Keywords : *Allium sativum*, antibacterial activity, antifungal activity, the methanol extract, allicin, aliin.

المخلص

للتحقق من صحة الاستخدام التقليدي للنباتات في معالجة الأمراض الناجمة من الجراثيم. *Allium sativum L*؛ نبتة تستخدم في الطب التقليدي في علاج هذه الأمراض للتحقق بأنها مضادة للميكروبات (مضاد للجراثيم، مضاد للفطريات). يظهر الفحص الكيميائي النباتي لمسحوق الثوم وجود المركبات الثانوية: الصابونين، قلويدات، التانينات، الفلافونويدات، والترابين وأيضا الأليين الذي هو مصدر الأليسين. وقد تم استعمال طريقة الانتشار في وسط جيلوزي وطريقة التخفيف في وسط سائل من أجل اختبار القدرة المضادة للنشاط الميكروبي للمستخلص الميثانولي وأيضا تحديد الحد الأدنى للتركيز المثبط (CMI) والحد الأدنى للتركيز المبيد للجراثيم (CMB) والحد الأدنى للتركيز المبيد للفطر (CMF) لثلاثة أنواع من السلالات من بينهم سلالتين بكتيرية وفطر. تركيزات الحد الأدنى للتركيز المثبط للمستخلص تتراوح ما بين 1/32 و 1/8، أما تركيزات الحد الأدنى للتركيز المبيد فهي بين 1/32 و 1/4 والحد الأدنى للتركيز المبيد للفطر تساوي 1/8. وقد لوحظ انخفاض قيمة CMI و CMB مع *S.aureus* في حين تم الحصول على أكبر قيمة من هذه الثوابت مع *E.coli*، و تم الحصول على قيمة كبيرة مع *C.albicans*. هذا المستخلص مارس نشاطا مبيدا على جميع السلالات التي تم اختبارها. وهذا ما يبرر استخدام الثوم (*Allium sativum L*) في علاج الالتهابات المختلفة.

الكلمات المفتاحية: *Allium sativum L*، النشاط المضاد للبكتيريا، النشاط المضاد للفطريات، المستخلص الميثانولي، الأليسين، الأليين.