

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE 8 Mai 1945 GUELMA

FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET DES  
SCIENCES DE LA TERRE ET DE L'UNIVERS

DEPARTEMENT DE SNV



Mémoire De Master

Domaine : Science de la nature et de la vie

Filière : Biologie

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

---

**Thème: Etude de l'effet antibactérien de l'extrait  
méthanolique de l'ail (*Allium sativum* L)**

---

Présenté par :

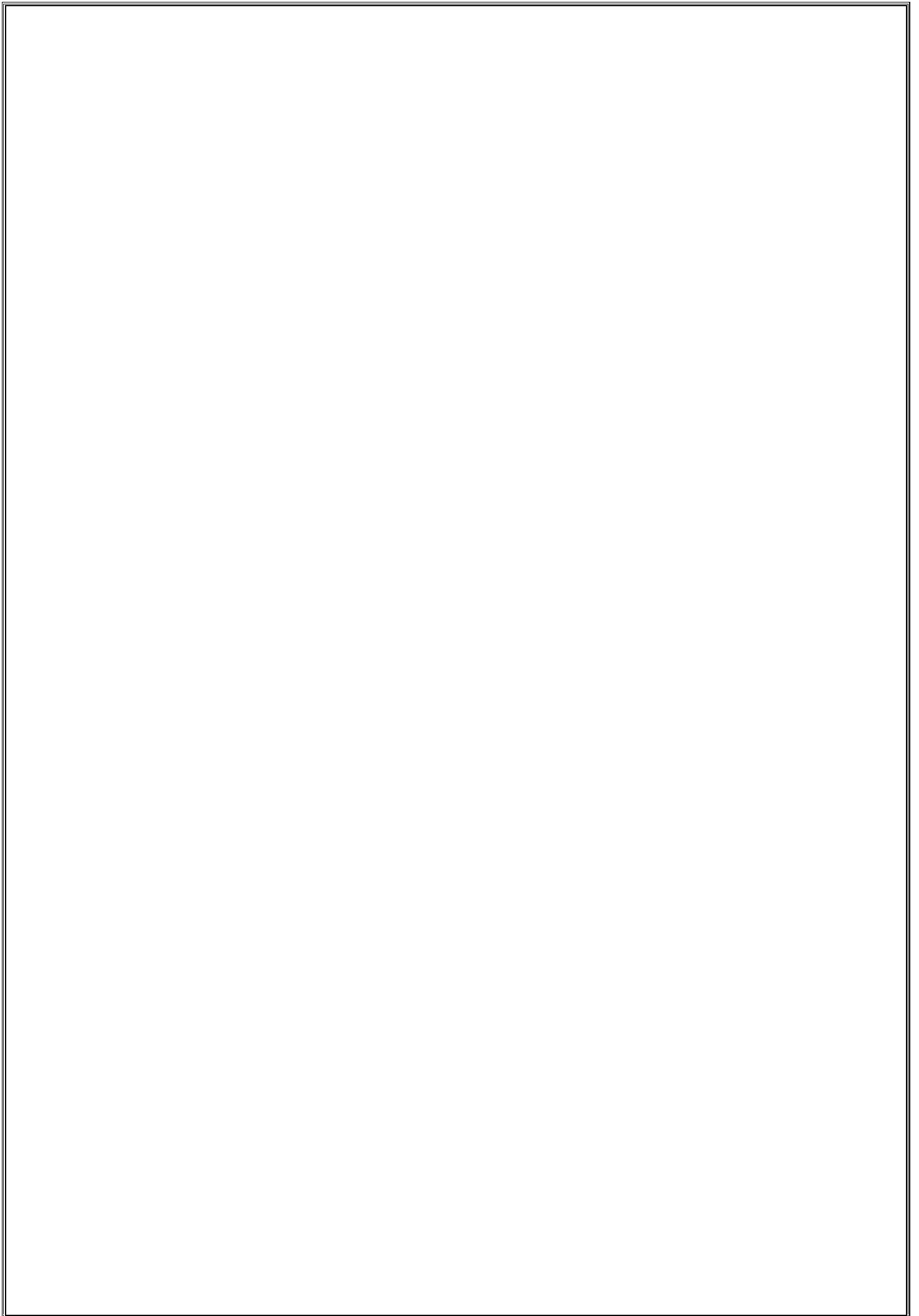
Aissani Fatine

Chouaichia Marwa

Membres de jury :

Présidente : Mme. Merabet Rym	M.A.A	Université de Guelma
Encadreur : Mme. Ayad Hayette	M.A.A	Université de Guelma
Examineur : Mr. Adrar Nassim	M.A.A	Université de Guelma

2014/ 2015



# Remerciements

## Remerciements

Nous remercions notre créateur « الله », Grand et Miséricordieux, le tout puissant pour le courage qu'il nous a donnés pour mener ce travail à terme.

Nous tenons particulièrement à remercier les membres du jury d'avoir accepté de juger ce travail et en être les examinateurs de ce mémoire :

Nous tenons à exprimer notre très grande considération, et notre profond respect au Mme **MERABT.Rym** d'avoir accepté de juger ce modeste travail et de nous faire l'honneur de présider ce jury de Mémoire. Veuillez trouver ici le témoignage de notre profond respect.

Nos vifs remerciements et notre sincère gratitude sont adressés à Mme **AYED. Hayette** (promoteur), Maître assistante de Biochimie à la faculté des SNV et des STU, Université de Guelma, d'avoir accepté de diriger notre travail de recherche avec la rigueur scientifique. Nous vous remercions particulièrement pour votre encouragements, votre soutien constant, pour nous avoir laissé énormément d'autonomie, et nous avoir fait confiance quant à l'avancée de notre recherche. Votre gentillesse et votre pédagogie ont été d'un grand apport. Que vous trouviez ici, l'expression de notre profonde reconnaissance.

Nos sentiments de reconnaissance et nos remerciements vont aussi à Mr **ADRAR.Nassim** d'avoir accepté d'examiner ce travail et de participer aux jurys de ce mémoire. Soyez assurée de notre profonde gratitude.

Nous n'oublions pas de remercier vivement les membres de l'équipe laborantine, en particulier Mme **HIMEUR.Ratiba** technicienne du laboratoire de biochimie, université de Guelma pour son aide et son soutien moral durant notre période de travail ainsi que les techniciennes des laboratoires (**Ghania, Asma, Wafa et Houda**) qui nous ont facilité notre travail.

Nos remerciements s'adressent également au Dr. **BENTORKI.A.Aymen** Médecin chef et au Mr. **SAIDIA.Mohammed.** chef de Service du laboratoire de Bactériologie de l'Hopital Ibn Zohr Guelma pour leurs accueils, leurs aides et le partage de leurs expertises au quotidien. Nos remerciements vont aussi à l'ingénieur de Laboratoire de Chimie Analytique (**Mme Asia**) pour avoir mis à notre disposition le matériel demandé.

Enfin, que tous ceux qui nous ont accordé un soutien, une aide technique ou un conseil, trouvent ici l'expression de notre profonde reconnaissance.



## Dédicace

*A l'aide de Dieu le tout puissant, qui m'a tracé le chemin de ma vie, j'ai pu réaliser ce travail que je dédie :*

- ❖ *A la lumière de mes yeux, l'ombre de mes pas et le bonheur de ma vie ma mère qui m'a apporté son appui durant toutes mes années d'étude, pour son sacrifice et soutien qui m'ont donné confiance, courage et sécurité.*
- ❖ *A mon cher père qui m'a appris le sens de la persévérance tout au long de mes études, pour son sacrifice ses conseils et ses encouragements que dieu les garde, en témoignage de ma profonde affection.*
- ❖ *A ma très chère soeur Ahlèm et sa petite fille Maria*
- ❖ *A mes frères : Anis et Farouk*
- ❖ *A mon très cher fiancé Salah eddine*
- ❖ *À toute ma famille paternelle Aissani et maternelle Khalfallaoui*
- ❖ *A mes amies que j'ai vécu avec eux des beaux moments: Hasna, Sara, Soumia, Lyna, Karima, Fairouz, Houyém, Khadidja, Nouha, Marwa, Hadjer, Houda, Zeineb et Ahlèm.*
  
- ❖ *A mon très cher binome Chouaichia Marwa*
- ❖ *A Tous mes enseignants depuis le primaire Jusqu'à l'université*
- ❖ *A Tous ceux qui m'ont aidé dans la réalisation de ce mémoire*  
*Vous qui m'admirez tant, soyez sûrs que ce travail est le résultat de votre confiance en moi. Soyez-en remerciés.*

*FATINE*



## Dédicace

*Avant toute chose, je remercie **Dieu**, le tout puissant pour m'avoir donné la force, la volonté, et la patience pour atteindre mon objectif  
Je dédie ce modeste travail :*

♣ *A ma Mère,*

*Qu'elle m'a donné la vie, la tendresse et le courage pour réussir. Tous ce que je peux t'offrir ne pourra exprimer l'amour et la reconnaissance que je porte.*

♣ *A mon Père,*

*L'épaule solide, l'œil attentif compréhensif et la personne la plus digne de mon estime et de mon respect.*

*«Aucune dédicace ne saurait exprimer mes sentiments, Que dieu vous préservés et vous procure santé et longue vie».*

♣ *A mes sœurs et mon frère : Hassina, Meriem, Safa, Hawa at Ahmed ;qu'ils trouvent ici l'expression de mes sentiments les plus dévoués et mes vœux les plus sincères*

♣ *A toute ma famille pour l'amour et le respect qu'ils m'ont toujours accordé*

♣ *A mes amies que j'ai vécu avec elles des beaux moments au cours de mon cursus à l'université: Marwa, Fayrouz, Karima, Houyem, Khadija, et Houda.  
Sans oublier : Hasna, Soumia et Marwa.*

♣ *A mon binôme fatine pour la sœur agréable qu'elle était et qu'elle restera pour moi.*

♣ *À tous mes enseignants depuis le primaire Jusqu'à l'université.*

*Et enfin à tous ceux qui m'ont aidé dans l'élaboration de ce travail*

*Que dieu le tout puissant vous préserve tous et vous procure sagesse et bonheur*

..... MARWA .....

# Liste des abréviations

**%** : Pourcentage.

**°C** : Degré Celsius.

**ADN** : Acide Désoxyribonucléique.

**AlCl<sub>3</sub>** : Chlorure d'aluminium.

**ARN**: Acide ribonucléique.

**ATB** : Antibiotique.

**ATCC**: American type culture collection.

**BN** : Bouillon Nutritif.

**CCM** : Chromatographie sur Couche Mince.

**CHCl<sub>3</sub>** : chloroforme ou trichlorométhane.

**cm** : centimètre.

**CMB** : Concentration Minimal Bactéricide.

**CMI** : Concentration Minimal Inhibitrice.

**D.O** : densité optique

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

**EAG/g d'extrait** : équivalent acide gallique par gramme d'extrait.

**EF-G** : Elongation factor- G.

**EQ/g d'extrait** : équivalent quercétine par gramme d'extrait.

**FeCl<sub>3</sub>** : Chlorure Ferrique.

**g** : gramme.

**GSAC**: Glutamyl-S-allylcystéine

**GSMC**: Glutamyl-S-methylcystéine

**GSPC**: Glutamyl-S- propylcystéine

**h**: heure.

**H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>** : peroxyde d'hydrogène ( eau oxygénée)

**H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>**: Acide Sulfurique.



**H<sub>3</sub>PMO<sub>12</sub>O<sub>4</sub>** : Acide phosphomolybdique

**H<sub>3</sub>PW<sub>12</sub>O<sub>40</sub>** : Acide phosphotungstique

**HCL** : Acide chlorhydrique.

**m** : mètre.

**MH** : Mueller Hinton.

**ml** : millilitre.

**Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>**: Carbonate de Sodium.

**NADPH**: Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate-oxidase.

**NaOH** : Hydroxyde de Sodium.

**NH<sub>4</sub>OH** : Hydroxyde d'ammonium.

**nm** : Nanomètre.

**PBP** : Penicillium Binding Protein.

**pH** : Potentiel hydrogène.

**RF**: Rapport Frontal.

**ROS**: Reactive Oxygen Species.

**SOD** : SuperOxyde Dismutase.

**UFC/ml** : Nombre de colonie formant par millilitre

**UV** : Ultra-violet

**UV-Vis** : Ultra-violet Visible

**V/V**: volume par volume.

**VP**: voges-Proskauer.

# Liste des figures

Figure N°	Les listes des figures	N° page
Figure 01	<i>Allium sativum L</i>	9
Figure 02	Récolte de l'ail	12
Figure 03	Structure chimique de l'Alliine	13
Figure 04	Métabolisme de l'Alliine	14
Figure 05	Protocole expérimentale	35
Figure 06	La technique de diffusion en disque (Antibiogramme)	40
Figure 07	Présentation schématique de la concentration minimale inhibitrice et bactéricide	43
Figure 08	Résultats des tests phytochimiques de l'ail	45
Figure 09	Chromatogramme de la poudre d'ail ( <i>Allium sativum L</i> )	46
Figure 10	Courbe d'étalonnage de l'acide gallique	48
Figure 11	Courbe d'étalonnage de la quercétine	49
Figure 12	Comportements des souches testées aux antibiotiques	51
Figure 13	Histogramme de l'aromatogramme de différentes souches testées	53
Figure 14	L'effet de l'extrait méthanolique de l'ail sur <i>E.coli</i> , <i>M.morganii</i> et <i>K.pneumoniae</i>	55
Figure 15	L'effet de l'extrait méthanolique de l'ail sur <i>P.aeruginosa</i> ATCC 27853, <i>S.aureus</i> , <i>S.aureus</i> ATCC 25923 et <i>R.ornithinolytica</i>	56
Figure 16	Présentation de la série de dilutions en milieu liquide des souches testées (détermination de la CMI)	58
Figure 17	Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB)	59

# Liste des tableaux

# Liste des tableaux

<b>Tableaux N°</b>	<b>Les titres des tableaux</b>	<b>N° page</b>
Tableau 01	Situation botanique de <i>l'espèce Allium sativum L</i>	11
Tableau 02	Composition moyenne pour 100g d'ail	15
Tableau 03	Mécanisme d'action de substances antibactériennes étudiées	26
Tableau 04	Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibitions	39
Tableau 05	Screening phytochimique de la poudre d'ail	44
Tableau 06	Le rendement de l'extraction	47
Tableau 07	Les diamètres d'inhibitions des souches testées vis-à-vis des antibiotiques	50
Tableau 08	Diamètres des zones d'inhibitions en (mm) de l'extrait méthanolique <i>d'Allium sativum</i>	53
Tableau 09	Détermination de la CMI et de la CMB de l'extrait méthanolique	57

# INTRODUCTION

**A**u cours des âges, l'homme a pu compter sur la nature pour subvenir à ses besoins de base : nourriture, abris, vêtements et également pour ses besoins médicaux. L'utilisation thérapeutique des plantes pour le traitement de toutes les maladies de l'homme est très ancienne et évolue avec l'histoire de l'humanité. Bien qu'une grande partie du XX<sup>ème</sup> siècle ait été consacrée à la mise au point de molécules de synthèse, la recherche de nouveaux agents pharmacologiques actifs *via* le screening de sources naturelles a conduit à la découverte d'un grand nombre de médicaments utiles qui commencent à jouer un rôle majeur dans le traitement de nombreuses maladies humaines (**Svoboda et Svoboda, 2000**).

La médecine douce, particulièrement la phytothérapie, connaît un succès considérable dans nombreuses régions d'Afrique, d'Asie et d'Europe. Des enquêtes récentes révèlent que 3 à 5% des patients des pays occidentaux (OMS, 2002), 80% des populations rurales des pays en développement et 85% des populations au sud du Sahara utilisent les plantes médicinales comme principal traitement (**Najjaa et al., 2011**).

Dans le domaine des anti-infectieux, la découverte de nouvelles substances est le but de l'homme depuis toujours, car la cause principale des décès autrefois était les maladies infectieuses, malgré les excellentes défenses contre l'infection dont est pourvu le corps humain (**Stanier et al., 1966**). Lorsque la pénicillothérapie fut pratiquée pour la première fois, l'homme a cru avoir gagné la bataille contre les bactéries pathogènes.

Cependant avec l'apparition des bactéries pénicillinorésistantes il a eu l'impression de régression, et avec l'extraction et la synthèse de nouveaux antibiotiques assez puissants, la peur se dispersa devant la volonté humaine de vaincre (**Hamza, 1993**). Mais comme tout médicament, les antibiotiques ne sont pas totalement inoffensifs pour l'organisme et peuvent provoquer, en plus de leur action antibactérienne, un certain nombre d'effets indésirables (**Berche et al., 1989**). Ces antibiotiques, qui ont sauvé des vies et soulagé des souffrances de millions de personnes durant des années et jusqu'à ce jour, sont menacés aussi par l'apparition et la propagation des germes multirésistants [9].

Pour cela, le retour vers le naturel est devenu indispensable et doit suivre certaines conditions en vue de son utilisation dans le monde vaste des anti-infectieux, qui s'élargit d'un jour à l'autre avec des substances plus puissantes, plus toxiques et plus coûteuses. La condition principale pour ce regain, est une étude scientifique rigoureuse et rationnelle de l'activité antimicrobienne des différents extraits naturels.

Depuis des siècles, les espèces *d'Allium* ont acquis, dans de nombreuses civilisations, la réputation de formidables agents prophylactiques et thérapeutiques. L'ail était bon pour tout, et plutôt que de dresser une liste fastidieuse de ses vertus, le plus simple serait d'énumérer ce qu'il ne contribue pas à guérir (**Agnes et Mellouki, 1996**).

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

La présente étude a pour objectif d'extraire les molécules bioactives, avec l'évaluation de la teneur en polyphénols totaux et en flavonoïdes, comme elle vise à tester l'activité antimicrobienne de l'extrait méthanolique des bulbes d'ail sur la croissance in vitro de certains des germes impliqués dans les pathologies.

Notre travail a été divisé en deux parties ; nous aborderons dans une première partie une étude bibliographique qui regroupe trois chapitres dont le premier concerne les métabolites secondaires avec description détaillée de la plante étudiée. Alors que le troisième chapitre traite le monde microbien.

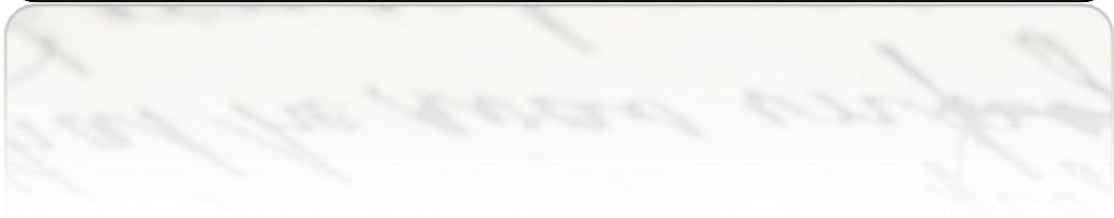
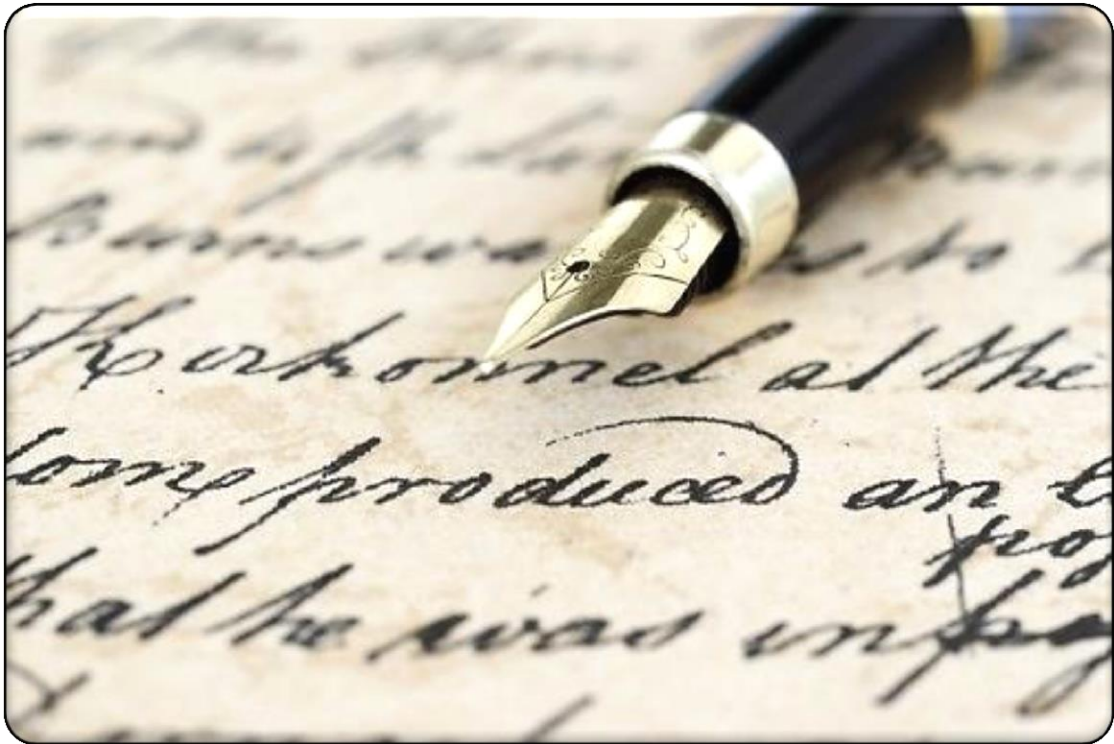
La deuxième partie décrit le matériel et les méthodes utilisées dans ce travail et qui porte sur :

- ✓ Le screening phytochimique des métabolites secondaires existant dans les bulbes de la plante ;
- ✓ La préparation de l'extrait méthanolique de l'ail ;
- ✓ Le dosage des phénols totaux, et des flavonoïdes,
- ✓ 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) et bactéricide (CMB).

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

On appelle phytothérapie, la thérapeutique par les plantes (du grec phyto= plante et therapeia= soin) (**Roux et Catier, 2007**).

La phytothérapie utilise les plantes médicinales ou, mieux, des parties de plantes qu'on appelle « drogue », pour guérir ou prévenir les maladies ; c'est une thérapeutique utilisée par les peuples du monde entier depuis l'origine de l'humanité. Les scientifiques y recherchent et y trouvent toujours des molécules actives (**Bernard, 2012**).

Cette dernière contribue effectivement au bon équilibre d'un organisme momentanément affaibli, en stimulant ses défenses immunitaires naturelles, sans aucune crainte d'effets secondaires si le protocole de soins est correctement mené. Bien choisies, utilisées par des professionnels, les plantes médicinales guérissent ou contribuent à guérir, parfois même très rapidement, des affections courantes et parfois chroniques (arthrose, rhumatismes, infections urinaires, troubles circulatoires, certaines tumeurs, fatigue du vieil âge...) ou tout au moins récidivantes (rhume des foins, conjonctivites, troubles digestifs...) (**B-Morin, 2008**).

L'efficacité des médicaments de phytothérapie repose avant tout sur le choix des plantes qui entrent dans leur composition. Ces plantes rigoureusement contrôlées, subissent une analyse systématique de bactériologie, de radioactivité, de pesticide, ce qui assure la garantie de la prise au sérieux de la santé des patients concernés, humains ou animaux (**B-Morin, 2008**).

Le patient, en recevant la plante sous toutes ses formes, notamment sous forme de tisane (infusés, décoctés..), poudre, suspension, réceptionne en réalité les molécules actives appelées principes actifs ( **Boukhobza et Goetz, 2014**).

### I.1.1 Définition des plantes médicinales

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 Catier, 2007**).

## I.2 Les métabolites secondaires

Chez les plantes, il existe un métabolisme secondaire, c'est une exclusivité du monde végétal. Ces produits, à structure chimique souvent complexe, sont très dispersés et très différents selon les espèces **(Cuendet, 1999)**.

Les métabolites secondaires sont des molécules organiques complexes synthétisées et accumulées en petites quantités par les plantes autotrophes. En général, les termes, métabolites secondaires, xénobiotiques, facteurs antinutritionnels, sont utilisés pour déterminer ce groupe **(Attou, 2010)**.

Il existe plus de 200 000 métabolites secondaires classés selon leur appartenance chimique en l'occurrence, les terpènes, les alcaloïdes, les composés acétyléniques, les cires, et les composés phénoliques **(Cuendet, 1999 ; Vermerris, 2006)**. Ils sont divisés principalement en trois grandes familles: Les polyphénols, les terpènes, les alcaloïdes **(Abderrazak et Joël, 2007)**. Les métabolites secondaires sont reconnus par leurs activités biologiques nombreuses qui comprennent des activités antibactériennes, anticancéreuses, antifongiques, analgésiques, anti-inflammatoires, diurétiques gastro-intestinales, antioxydantes.... **(Harborne, 1989; Akroum, 2011)**.

### I.2.1 Les polyphénols

Les composés phénoliques sont une vaste classe de substances organiques cycliques très variées, d'origine secondaire qui dérivent du phénol ( $C_6H_5OH$ ) **(Attou, 2011)**. Ils constituent un des groupes le plus nombreux et largement distribué des substances dans le royaume des végétaux avec plus de 8000 structures phénoliques présents dans tous les organes de la plante (racines, feuilles, fruits et l'écorce) **(Lugasi et al., 2003)**.

Les composés phénoliques sont des molécules hydrosolubles présentes dans tous les végétaux. Ils ont divers effets sur la physiologie végétale de par leurs actions antibactériennes et antifongiques. Ils participent à la pigmentation des fleurs, des légumes et de quelques fruits (raisins, agrumes, etc...) **(Milane, 2004)**.

Les principales classes de composants phénoliques sont: les acides phénoliques (acide caféique, acide hydroxycinnamique, acide chlorogénique), les flavonoïdes qui représentent plus de la moitié des polyphénols, les tanins, et les coumarines **(Boudjouref, 2011)**.

### I.2.2 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 parfois 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**).

De nos jours, les propriétés des flavonoïdes sont largement étudiées dans le domaine médical où on leur reconnaît des activités antivirales, anti-tumorales, anti-inflammatoires, antiallergiques, antioxydantes et anti-cancéreuses (**Middleton et Kardasnam, 1993**).

### I.2.3 Les tanins

Ce sont des substances d'origine organique que l'on trouve dans pratiquement tous les végétaux, et dans toutes leurs 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 leur origine biogénétique: Les tanins hydrolysables et les tanins condensés (**Bruneton, 1999**).

Les tanins ont la propriété de précipiter les protéines (fongiques ou virales) et les métaux lourds. Ils favorisent la régénération des tissus et la régulation de la circulation veineuse, tonifient la peau dans le cas des rides (**Kansole, 2009**).

### I.2.4 Les coumarines

Les coumarines se trouvent dans la nature soit à l'état libre ou bien combiné avec des sucres. Elles sont responsables de l'odeur caractéristique du foin (**Belyagoubi, 2011**).

Elles se trouvent dans toutes les parties de la plante et notamment dans les fruits et les huiles essentielles des graines. Elles sont capables de prévenir la peroxydation des lipides membranaires et de capter les radicaux hydroxyles, superoxydes et peroxydes (**Boukri, 2014**).

Les coumarines 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 (**Gonzalez et Estevez-Braun, 1997**).

### **I.2.5 Les saponines**

Le nom saponine dérive du mot latin «sapo», qui signifie savon, parce que ces composés moussent une fois agités avec de l'eau. Ils se composent d'aglycones non polaires liés à un ou plusieurs sucres. Cette combinaison d'éléments structuraux polaires et non polaires explique leur comportement moussant en solution aqueuse (**Muanda, 2010**).

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 (**Wallace, 2004**).

### **I.2.6 Les Alcaloïdes**

Un alcaloïde est une substance organique azotée d'origine végétale à caractère alcalin et présentant une structure moléculaire hétérocyclique complexe (**Badiaga, 2011**).

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'anthranilate, la phénylalanine et la tyrosine. Ces acides aminés sont décarboxylés en amines et couplés 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 (morphine, scopolamine) ou comme stimulants (caféine, strychnine,...) (**Badiaga, 2011**).

### **I.2.7 Les isoprénoïdes (Stéroïdes et Terpénoïdes)**

Les terpénoïdes constituent sans doute le plus vaste ensemble connu des métabolites secondaires des végétaux, ce sont des molécules polyéniques qu'on trouve également dans le règne animal. Ils sont trouvés dans tous les organes végétaux : fleurs, feuilles, rhizomes, écorces et fruits ou graines (**Touafek, 2010**).

Les terpénoïdes donnent naissance à de très nombreux métabolites secondaires, mais participe également à la synthèse de composés comme le  $\beta$ -carotène, les chlorophylles, l'ubiquinone ou la plastoquinone (**Harbone, 1998**).

Les terpènes non cycliques sont en grande partie responsables de l'odeur suave des plantes et des fleurs et dont quelques-unes sont employées en parfumerie. Ces substances possèdent aussi des propriétés pharmaco-dynamiques très variées, en relation avec les différentes fonctions liées au squelette terpénique. Exemples : Azulène (anti-inflammatoire), géraniol, linalol, cinéol (antiseptique), ascaridol (vermifuge) (**Touafek, 2010**).

## **I. 3 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 délétères sur la santé humaine) (**García-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 (Jürgen *et al.*, 2009).

#### **I.4 Activité antimicrobienne des polyphénols**

La thérapeutique des infections bactériennes se base principalement sur l'usage des antibiotiques. La prescription à grande échelle et parfois inappropriée de ces agents peut entraîner la sélection de 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 phénoliques 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

## Etude botanique d' *Allium sativum*

## II.1. Description de la plante

D'un point de vue 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* (Bock, 2000-2009).

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* [4,11].

## II.2 Origine et distribution

L'ail 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**).

On considère que ce dernier est originaire d'Asie centrale (Kazakhstan, Ouzbekistan et ouest de la Chine). Cela a été confirmé par des analyses phylogénétiques basées sur des marqueurs moléculaires et biochimiques, qui indiquent également un centre secondaire de diversité dans le Caucase (**Grubben, 2004**).

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 méridionale. Les Romains l'introduisirent en Europe de l'ouest dans les provinces qu'ils conquièrent, dont la Grande-Bretagne. Plus tard, l'ail voyagea 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 [**7, 10**].

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

*Allium sativum* est une plante monocotylédone appartenant à l'ordre des Liliales : groupe de plantes en majorité herbacées, à organes souterrains persistants (bulbe, rhizomes) et à fleurs trimères. Selon certains auteurs, cet ordre comporte deux à dix-sept familles dont la plus représentative du point de vue systématique, numérique et économique et sans doute celle des Liliacées renfermant l'ail et l'oignon. La systématique d'*Allium sativum* est ainsi résumée dans le Tableau (01) (**Saida, 2012**).

**Tableau.01** : Situation botanique de l'espèce *Allium sativum* L (Goetz et Ghédira, 2004).

<b>Règne</b>	<i>Plantae</i>
<b>Sous-règne</b>	<i>Tracheobionta</i>
<b>Embranchement</b>	<i>Magnoliophyta</i>
<b>Sous-embranchement</b>	<i>Magnoliophytina</i>
<b>Classe</b>	<i>Liliopsida</i>
<b>Sous-classe</b>	<i>Liliidae</i>
<b>Ordre</b>	<i>Liliales (asparagales)</i>
<b>Famille</b>	<i>Aliaceae (ex Liliaceae)</i>
<b>Genre</b>	<i>Allium</i>
<b>Espèce</b>	<i>Allium sativum</i> L

### • 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 formes de gros *bulbes* (100 à 130 g). 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 de l'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-Delcourt, 2012**).

## II.4 Condition de culture et récolte

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 en calcaire 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 [5]. 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 [6]. 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 [5].

L'ail est très 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).

- **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).



**Figure.02:** Récolte de l'ail [2].

## 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  $\gamma$ -glutamylcystéine (Amagase et al., 2001).

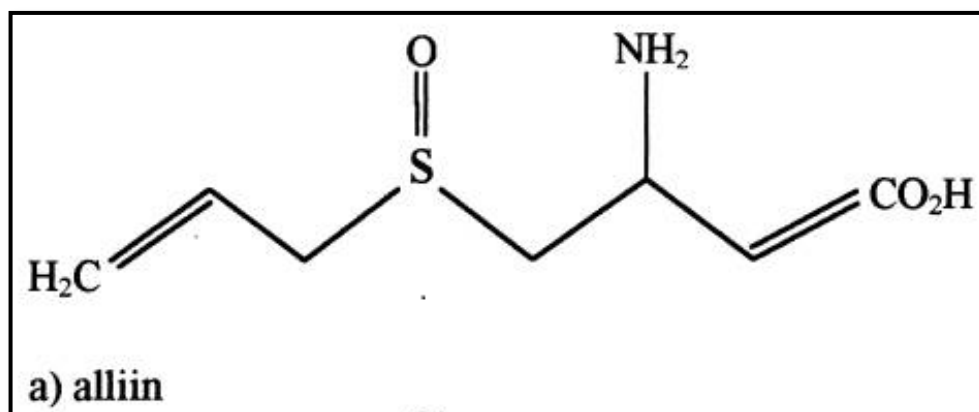
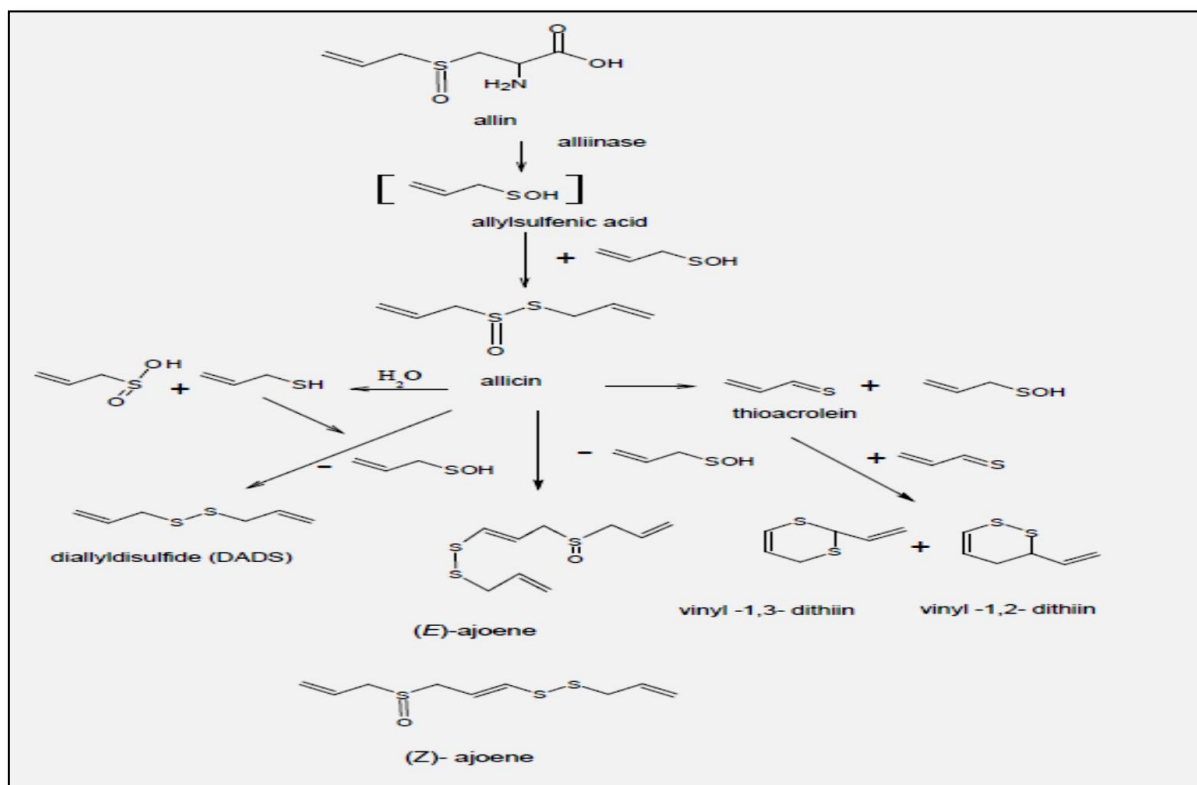


Figure.03 : structure chimique de l'Alliine (O'Gara et al., 2000).

- **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 goût de l'ail cru. L'allicine est elle aussi instable, en particulier à la cuisson et se convertit en disulfure de diallyle, composant principal du goût de l'ail cuit. L'oxydation de l'air de l'allicine conduit au 1,7-dithioocta-4,5diène, connu sous le nom de disulfure de diallyl : c'est le constituant majoritaire de l'«essence» d'ail (Bruneton, 2009).



**Figure.04 :** Métabolisme de l'Alliine (Majewski, 2014).

- **Les peptides  $\gamma$ -glutamylcystéine :**

Un bulbe contient en moyenne plus de 0.9% de  $\gamma$ -glutamylcystéine. Ces peptides constituent une famille de plusieurs dérivés tels que le  $\gamma$ -glutamyl-S-allylcystéine (GSAC), le  $\gamma$ -glutamyl-S-méthylcystéine (GSMC) et le  $\gamma$ -glutamyl-S-propylcystéine (GSPC). Ces peptides sont des intermédiaires de biosynthèse pour les cystéines sulfoxides correspondants (Saida, 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 flavonoides et des acides aminés essentiel (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.02** : Composition moyenne pour 100g d'ail (**Lefief-Delcourt, 2012**).

Valeur énergétique	135kcal	Minéraux et oligo-éléments	Vitamines
<b>Eau</b>	64g	Soufre 200mg	Vitamine C 30 mg
<b>Glucides</b>	27.5g	Phosphore 144mg	Vitamine B6 1.2 mg
<b>Protides</b>	6g	Magnésium 21mg	Vitamine B1 0.2 mg
<b>Lipides</b>	0.1g	Sodium 10mg	Vitamine E 0.1 mg
<b>Fibres</b>	3g	Fer 1.4mg	VitamineB2 0.08mg

## II.6. Propriétés et usage thérapeutique

Plusieurs auteurs (environ 7000 travaux publiés) se sont intéressés à l'étude des substances bioactives de cette plante et leur mode d'emploi. En raison de l'ampleur exceptionnelle de ce corpus d'études, on se limite à quelques notes bibliographiques (**Saida, 2012**).

- **Pharmacologie**

Plusieurs propriétés attribuées traditionnellement à l'ail ont été vérifiées expérimentalement : c'est le cas des activités antibactérienne et antifongique mises en évidence in vitro. L'expérimentation chez l'animal a montré, au cours des vingt dernières années, que des extraits d'ail sont susceptibles de diminuer cholestérolémie et triglycéridémie (lapin, rat) et d'exercer des effets antihypertenseurs (Rat). Par ailleurs, l'ail apparait, in vitro ou chez l'animal, anticoagulant, antioxydant, hypoglycémiant... etc. des propriétés anti-agrégantes plaquettaires, démontrées in vitro, sont liées aux ajoènes, inhibiteurs de la lipoxygénase (**Bruneton, 2009**).

- **Activités antiinfectieuses de l'ail**

Elles sont essentiellement dues aux thiosulfonates et en particulier à l'allicine. Nous pouvons citer :



- une action antibactérienne et plus exactement bactériostatique. Si l'activité de l'allicine sur le *Staphylococcus aureus* n'est que de 1 % par rapport à celle de la pénicilline, elle est en revanche plus active sur le *Bacillus typhosus*. Mais, un des avantages de l'allicine est d'être active à la fois sur les bactéries Gram - et les bactéries Gram + (**Vannereau et Mellouki, 1996**) ; l'étude de l'activité antibactérienne de gousses d'ail frais a été réalisée vis-à-vis de germes pathogènes alimentaires : *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi*, *Escherichia coli* et *Listeria monocytogenes*. L'effet inhibiteur maximal fut observé contre *E.coli*. Le principe actif responsable est l'allicine dont le mécanisme d'action consiste en un changement du profil lipidique de la membrane cellulaire bactérienne (**Goetz et Ghédira, 2012**).

-l'allicine et d'autres thiosulfonates ont également une action antimicrobienne sur le *Mycobacterium avium* qui cause de graves infections pulmonaires sur des sujets atteints du SIDA. Un extrait contenant 1 mg/ml de thiosulfonates est suffisant pour inhiber complètement la croissance du *Mycobacterium* en culture (**Vannereau et Mellouki, 1996**).

- depuis longtemps l'allicine est connue par leur activité antifongique contre les *Candida*, les *Cryptococcus* et certains Dermaphytes et leur activité antivirale qui s'exerce aussi bien sur les virus à ARN que sur les virus à ADN. Il agirait respectivement sur l'enveloppe virale et la membrane cellulaire (**Vannereau et Mellouki, 1996**).

- **Activités antioxydantes**

L'ail est riche en matières actives antioxydantes incluant les composés sulfurés, les flavonoïdes et les phénols capables de piéger les radicaux libres. Il contient également du sélénium indispensable à la glutathion peroxydase. L'allicine est capable d'inhiber la formation du peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) (**Pédraza et al., 2005**).

*Allium sativum* particulièrement cru, stimule la libération des enzymes anti-oxydantes telles que le superoxyde dismutase (SOD), la catalase (CAT) et la glutathion peroxydase (GPX) (**Saida, 2012**).

Cette propriété est incontestable dans la réduction des peroxydes lipidique au niveau du cœur, du foie et des reins (**Banerjee et al., 2001 et 2002**), la diminution du risque des cancers induits chimiquement ou par irradiation (**Borek, 1997**), ainsi que dans la prévention des lésions induites par les ROS au niveau de l'ADN, des lipides et des protéines (**Gutteridge, 1993**).

L'administration concomitante par voie cutanée pendant 4 jours du diallyl disulfure à raison de 50 mg/kg/j avec la gentamycine à raison de 70 mg/kg/j, prévient la diminution d'enzymes anti-oxydantes (**Pedraza et al., 2000**).

- **Action sur le système cardio-vasculaire**

Les résultats d'études menées sur des animaux, et des essais cliniques sur des humains indiquent que l'ail peut offrir une protection cardiovasculaire (**Matsuura, 2001**).

Celle-ci est le résultat de la contribution du principal agent, l'allicine dans la prévention de l'athérosclérose (**Rahman, 2001**), l'hyperlipidémie (**Kann, 1999** ou **Kannar et al., 2001**), le diabète (**Eidi et al., 2006**) ; et dans le maintien de l'élasticité des artères (**Breithaupt-Grogler et al., 1997**) ; la gousse d'ail provoque une inhibition de l'agrégation plaquettaire en réponse à l'administration d'un agent coagulant. Chez l'animal, la plante provoque une diminution du taux de cholestérol modestement et à court terme. Cela étant, il n'a pas de données sur un éventuel effet à plus long terme, pas plus que sur l'impact de la consommation d'ail en termes de morbidité et mortalité cardiovasculaire (**Germosén-Robineau et Tramil, 1999**).

- **Effet préventif des tumeurs cancéreuses**

L'ail prévient la formation de tumeurs malignes : des études épidémiologiques réalisées au Japon et en Chine ont montré qu'une consommation régulière d'ail (ainsi que d'oignon et de ciboulette chinoise) provoque une diminution du risque d'apparitions de cancers de l'estomac ou de l'œsophage. De même, l'ail améliore la photoprotection et diminue les risques de cancers de la peau en réduisant les effets pro-oxydants nocifs des rayons ultra-violets (**Goetz et Ghédira, 2014**).

Quelques études épidémiologiques (surtout des études castémoin) suggèrent sans le démontrer que la consommation régulière d'ail cru et / ou cuit, mais pas celles de suppléments à base d'ail, est inversement corrélée au risque de cancer gastrique et de cancer colorectal. Ces données recueillies chez l'homme confirmeraient donc ce que montre la majorité des expériences conduites sur différents organes de plusieurs espèces animales, en particulier l'inhibition de l'initiation de la cancérogénèse chimio-induite et l'induction de certaines enzymes de phase II par le disulfure d'allyle et d'autres composés soufrés formés à partir des bulbes (**Bruneton, 2009**).

- **Toxicité et effets indésirables**

Le principal effet indésirable signalé au cours des essais est l'odeur que les composés soufrés confèrent à l'haleine et à la sueur. On note également, moins fréquents des troubles digestifs. Quelques cas de saignements et accidents hémorragiques ont été rapportés, notamment comme complication post-opératoire. Ils sont peut être liés à l'activité anti-agrégante plaquettaire. L'ail, ingéré ou inhalé, peut provoquer (rarement) une réaction allergique (réaction cutanée, asthme). Une interaction avec les anticoagulants est envisageable, une observation au moins a d'ailleurs été relatée. Il est sans aucun doute prudent de s'abstenir d'une consommation exagérée d'ail ou de préparations d'ail dans les jours qui précèdent une intervention chirurgicale (**Bruneton, 2009**).

L'usage local d'ail ou d'extrait est susceptible de provoquer une nécrose de la peau (**Goetz et Ghédira, 2014**).

Néanmoins, une consommation massive de préparations à base d'ail frais, en poudre ou en extrait (doses supérieures à 25 ml) peut entraîner des brûlures graves de la muqueuse de l'œsophage et de l'estomac chez l'homme, des irritations des voies urinaires chez les personnes présentant une muqueuse digestive sensible (**Goetz et Ghédira, 2014**).

L'ail en quantité importante est déconseillé aux femmes allaitantes car il donne un goût prononcé au lait qui risque de déplaire au bébé. L'ail peut modifier la glycémie, les personnes diabétiques doivent en tenir compte (**Lacoste, 2014**).

- **Posologie**

Pour faire baisser la tension : mettez 1 gousse d'ail écrasée à macérer le soir dans 1 verre d'eau, buvez le verre d'eau (sans la gousse) le matin à jeun (**Lacoste, 2014**).

Pour désinfecter les plaies : préparez un vinaigre d'ail à garder dans votre armoire à pharmacie. Pilez 30 g d'ail et faites macérer pendant 10 jours dans ½ litre de vinaigre. Filtrez et conservez bouché. Utilisez ce vinaigre sur une compresse pour nettoyer les petites plaies, coupures et écorchures (**Lacoste, 2014**).

Onguent d'ail : broyez quelques gousses d'ail et mélangez-les avec de l'huile ou du saindoux. Avec cet onguent, en massages, vous soulagerez les douleurs musculaires ou les foulures. Si vous avez de l'asthme ou une bronchite, appliquez-le sur la plante de vos pieds (ou faites-le appliquer par un tiers si vous n'êtes pas assez souple) et sur la colonne vertébrale pour dégager votre respiration (**Lacoste, 2014**).

Maux d'oreilles : En cas de douleurs dans les oreilles et après vous être assuré qu'il ne s'agit pas d'une otite à traiter au plus vite, râpez une gousse d'ail que vous mettrez dans une gaze. Introduisez délicatement ce petit « bouchon » dans votre conduit auditif et laissez agir (**Lacoste, 2014**).

# Chapitre III

## Etude bactériologique

# Partie expérimentale



# Chapitre I

## Matériel et Méthodes

## I.1 Situation géographique de la région d'étude

Notre étude a porté sur les bulbes d'ail (*Allium sativum*) qui ont été achetés au marché local sous forme de bulbes frais et il provenait de la région d'EL-Harrouch de la wilaya de skikda (Algérie) durant le mois de février de l'année 2015, ils ont été conservée à l'ombre dans un endroit sec et aéré jusqu'à son utilisation.

A partir de ces dernières, il a été préparé la poudre d'ail qui a servi à la préparation de l'extrait méthanolique, ainsi qu'à la réalisation du criblage phytochimique.

Après broyage, Le résidu obtenu est séché à l'ombre, pendant quinze jours à l'air libre et à une température ambiante. Une fois séché, celui-ci a été réduit en poudre à l'aide d'un moulin électrique. Puis, conservée dans des flacons stériles en verre fermés pour des utilisations ultérieures.

Parmi les critères de choix de cette espèce : son importance majeure en médecine et dans l'usage quotidien dans la cuisine Algérienne d'une part, et le manque de travaux de recherche sur les propriétés biologiques, en particulier le pouvoir antimicrobien de leur extrait d'autre part.

## I.2 Criblages phytochimique

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 chimiques contenus dans un organe végétal. Ce sont des réactions physicochimiques qui permettent d'identifier la présence des substances chimiques (**Boukri, 2014**).

Il permet donc la détection des classes de composés chimiques essentiellement les polyphénols totaux, y compris les flavonoïdes, les tannins, les coumarines, les saponosides, les alcaloïdes, les isoprénoïdes qui renferme les terpénoïdes ...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.2.1 Tests biochimiques préliminaires

### I.2.1.1 Les alcaloïdes

La présence d'alcaloïdes est établie par la précipitation de sels et la révélation à l'aide du réactif de Mayer (solution de tétra-iodomercure de potassium) (Soro *et al.*, 2009). Il a été procédé à une macération sous agitation pendant 24 h de 10 g de la poudre végétale dans 50 ml de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> dilué au 1/10 à une température ambiante. Après filtration sur un papier lavé à l'eau distillée et de manière à obtenir environ 50 ml de filtrat, 1 ml du macéré est introduit dans un tube à essai puis 5 gouttes de réactif de Mayer ont été ajoutés dans le tube. La présence d'une turbidité ou d'un précipité, après 15 minutes indique la présence d'alcaloïdes (Khanoun, 2010).

- **Test de confirmation**

A 5g de poudre d'ail, sont ajoutés 15 ml de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 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 1 ml 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).

### I.2.1.2 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 et Awa, 2003). A 2ml d'extrait, quelques millilitres de soude au 1/10<sup>e</sup> ont été ajoutés 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 (FeCl<sub>3</sub>)**

Les flavonoïdes, du fait de la présence de fonction phénolique dans leur génines, donnent des colorations variées avec des solutions diluées de FeCl<sub>3</sub>.

A 2ml de la solution extractive, 2 à 3 gouttes d'une solution diluée de FeCl<sub>3</sub> à 2% ont été additionnées. Le test positif est révélé par l'apparition d'une couleur verdâtre (Okmu, 2005).

- **Essai II**

A 10g de la poudre sèche, sont ajoutés 150 ml d'HCl à 1%, le mélange est laissé pendant une nuit, puis filtré. 10 ml du filtrat sont rendu basique par l'ajout du NH<sub>4</sub>OH. Un test positif est révélé par l'apparition d'une couleur jaune orangé (Okmu, 2005).

### **I.2.1.3 Les Saponosides**

Ils sont caractérisés par leur pouvoir moussant en solution aqueuse (Mboj, 2003).

Dans une fiole jaugée renfermant 80 ml d'eau distillé bouillante, sont introduites 2g de poudre, l'ébullition sont maintenue de façon modéré pendant 30 min, 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 1 cm = test positif.

Mousse de 1-2 cm = test positif.

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

### **I.2.1.4 Les tanins**

Dans un Erlenmeyer, on disperse 5g de poudre dans 100ml d'eau bouillante. Après infusion pendant 15 mn, le mélange est filtré et complété avec de l'eau distillée jusqu'à 100ml. A 5ml de filtrat, quelques gouttes d'une solution de chlorure ferrique (FeCl<sub>3</sub>) à 2% sont ajoutées, puis le mélange est agité. Le test positif est révélé par l'apparition d'une couleur brun-vert (Karumi et al., 2004).

- **Différenciation des tanins**

#### **-Tanins catéchiqes**

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

### **-Tanins Galliques (Réaction de Stiasny)**

A 30 ml de solution, le réactif de Stiasny (10 ml de formol à 40 % et 5 ml d' HCl concentré), a été ajouté puis le mélange est chauffé au bain-marie à 90°C pendant 15 mn environ. Après filtration, le filtrat a été saturé par 5g d'acétate de sodium. On ajoute 1 ml goutte à goutte d'une solution de FeCl<sub>3</sub> à 1 %. L'obtention d'une teinte bleue noire montre la présence de tanins galliques non précipités par le réactif de Stiasny.

#### **I.2.1.5 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 NH<sub>4</sub>OH 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**).

#### **II.2.1.6 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 5 ml d'acide acétique ensuite dans 5ml de CHCl<sub>3</sub>. Puis y ajouté 1 ml d'H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentré. La formation d'un cercle marron ou violet indique la présence des stérols terpéniques (**Dohou et al., 2003**).

### **I.2 Identification de l'Alliine par chromatographie sur couche mince (CCM)**

#### **-Principe**

La chromatographie sur couche mince (CCM) est une technique analytique rapide, simple et peu coûteuse. Elle repose principalement sur des phénomènes d'adsorption où les molécules à séparer s'adsorbent à la surface d'un support (phase stationnaire) et seront entraînées à travers ce dernier par un éluant (phase mobile), donc la séparation est fonction des différences d'adsorption des composants de l'échantillon sur la phase stationnaire et des différences de leur solubilité dans la phase mobile (**Braithwaite et Smith, 1999**).

#### **-Préparation du solvant de migration**

Pour la séparation de l'alliine, le système solvant utilisé est composé de : Acétate d'éthyle - méthanol - eau distillée (100V : 135V : 10V).

**-Préparation de la cuve**

Le solvant est versé dans la cuve au moins 1 heure avant la mise en place du chromatogramme, de manière à saturer l'atmosphère de cette cuve en solvant utilisé.

NB : la cuve ne doit être ouverte qu'au moment de la mise en place du chromatogramme **(Feddal, 1992)**.

**-Solution à examiner**

Mélanger 1 g de la poudre d'ail avec 5 ml de méthanol, agiter environ 1 min et filtrer. Le filtrat obtenu sert de solution à examiner **(Severing, 2005)**.

**-Dépôt des échantillons**

La ligne de dépôt sur laquelle on applique la solution à analyser se situe habituellement à environ 2cm du bas de la plaque. Le produit est déposé sous forme de spot en bas de la plaque à l'aide d'une micropipette **(Mendham et al., 2006)**, (20 µl de chaque solution à examiner et 10 µl de solution de référence). La distance entre deux taches voisines doit être au moins égale à 2cm. Le volume total doit être effectué en plusieurs dépôts successifs et non en une seule fois, avec un séchage entre 2 dépôts **(Feddal, 1992)**.

**-Migration**

La plaque est placée verticalement dans la cuve contenant un peu de solvant de façon à ce que la plaque trempe sur une hauteur de 0.5 à 1 cm environ. Laisser le solvant monter le long de la plaque par capillarité.

Au cours de son ascension, le solvant va entraîner les différents constituants du mélange déposé en bas de la plaque, les constituants les moins retenus par l'adsorbant étant entraînés le plus facilement. Laisser le solvant migrer sur une distance de 10cm, en général, puis la plaque est séchée **(Publications de l'institut français du pétrole, 1971)**.

**-Révélation**

Au terme de la migration, le chromatogramme est séché soigneusement dans un courant d'air tiède, ensuite le révélateur (Ninhydrine) est pulvérisé sur la plaque de façon homogène. Le révélateur est un réactif approprié permettant de rendre visible les divers constituants déposés, et donc d'apprécier la distance parcourue par chacun d'eux. Les

taches obtenues (spots), correspondent aux plusieurs groupes chimiques caractérisés par leurs rapport frontaux (RF) (**Feddal, 1992**).

Le Rf est défini comme étant le :

$$\frac{\text{Déplacement de la substance entraînée}}{\text{Déplacement du front du solvant}}$$

### I.3 Extraction des composés phénoliques

#### I.3.1 Préparation de l'extrait brut méthanolique

L'extraction a été réalisée au niveau des laboratoires de Biochimie et de chimie analytique de l'université 08 Mai 1945 –Guelma-.

L'extraction des principes actifs est effectuée par la macération, qui est une opération consiste à laisser la poudre du matériel végétal en contact prolongé avec un solvant (méthanol) pour en extraire les principes actifs. Ce type d'extraction est un simple contact entre le support solide et le solvant, La séparation se fait par filtration (**Boukri, 2013**).

En effet, 250g de poudre d'ail, sont recouvertes par une solution d'éther de pétrole. Le mélange est macéré pendant 24 heures et filtré tout en jetant le filtrat. Cette macération est répétée 2 fois avec renouvellement du solvant à chaque fois.

Au quatrième jour, le résidu est additionné de 500ml de méthanol à 85% et laissé macérer pendant 24 heures. Le jour suivant, filtré et cette fois ci conservé le filtrat.

L'extraction est refaite 2 fois avec renouvellement du solvant en ajoutant 250 ml de méthanol à 85% pendant deux jours successifs. Tous les macéras sont recueillis dans un même récipient et évaporés au rota vapeur à 40°C.

Le résidu est récupéré dans des flacons stériles fermés, puis lyophilisé. Le lyophilisat est pesé pour calculer le rendement de l'extraction. Ensuite, l'extrait sec a été conservé sous forme de poudre, à 4 °C, dans des boites fermées et à l'abri de la lumière.

- **Rendement de l'extrait brut :**

Le rendement de l'extrait brut est définit comme étant le rapport entre la masse de l'extrait sec obtenue et la masse du matériel végétal traité. Ce rendement est calculé via l'équation :

$$R \% = (Me/Mv) \times 100$$

**R** % : Rendement en %.

**Me** : Masse de l'extrait après l'évaporation du solvant.

**Mv** : Masse de la matière végétale utilisée pour l'extraction (Harborne, 1998).

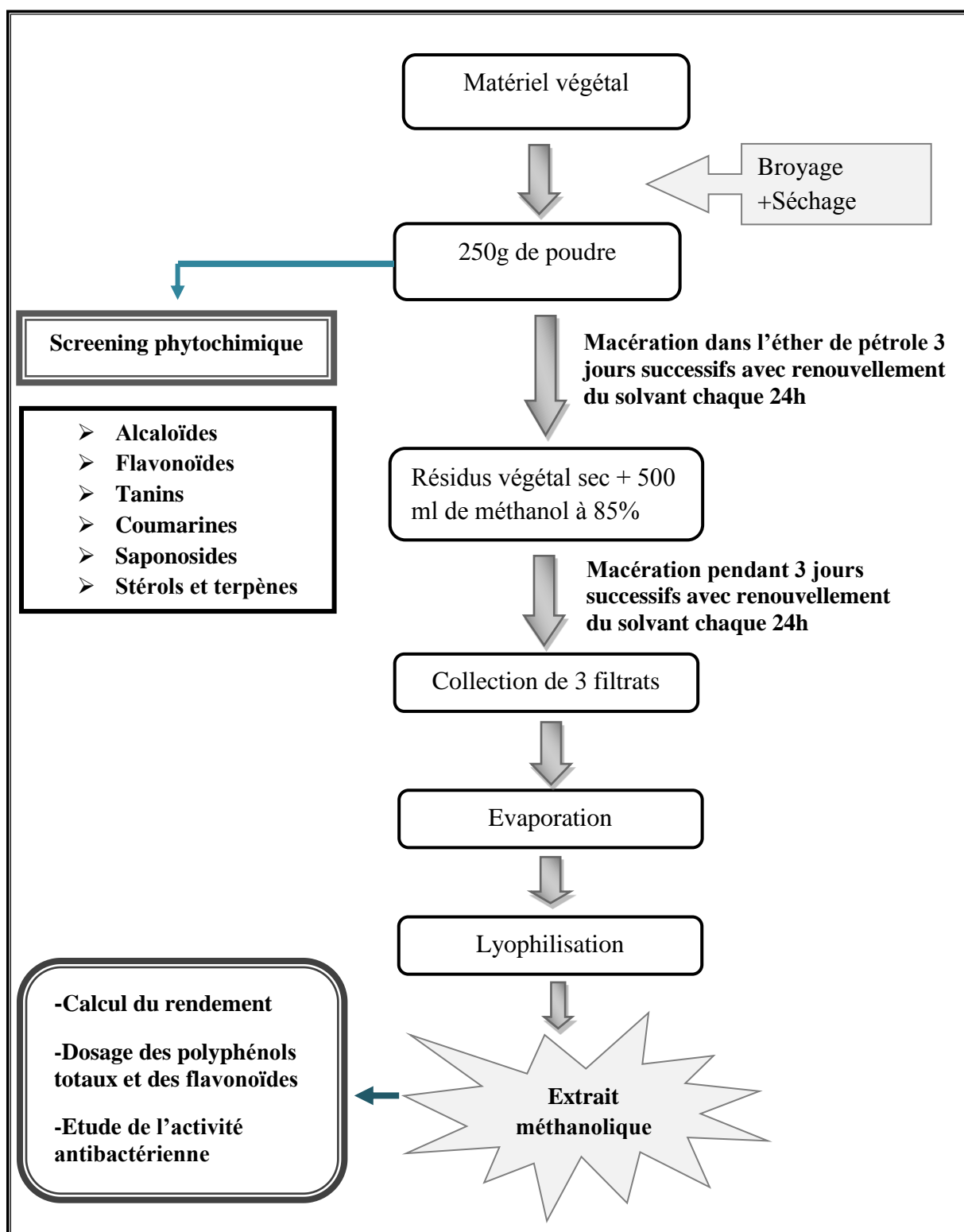


Figure.05 : protocole expérimental

## I.4 Dosages quantitatifs des polyphénols :

### I.4.1 Dosage des polyphénols totaux :

Le dosage des polyphénols totaux a été effectué avec le réactif colorimétrique de Folin-Ciocalteu selon la méthode citée par (Wong *et al.*, 2006).

Ce dosage est basé sur la quantification de la concentration totale de groupements hydroxyles présents dans l'extrait (Yakhlef, 2009). La teneur phénolique totale est habituellement déterminée colorimétriquement avec le spectrophotomètre UV-Vis en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu. Les propriétés colorimétriques de ce réactif sont modifiées lorsqu'il est complexé à certaines molécules. Il réagit avec la fonction -OH des phénols. Ce réactif est formé d'acide phosphomolybdique  $H_3PMO_{12}O_4$  et d'acide phosphotungstique  $H_3PW_{12}O_{40}$  qui sont réduits par l'oxydation des phénols en oxydes bleus de tungstène  $W_8O_{23}$  et de molybdène  $MO_8O_3$ , cette réaction se traduit par le développement d'une coloration bleue foncée (Boukri, 2014).

En effet, Un volume de 200  $\mu$ l de l'extrait est ajouté à 1 ml de réactif de Folin-Ciocalteu (10%). Après 4 min, 800  $\mu$ l de carbonates de sodium  $Na_2CO_3$  (0,75%) sont additionnés. Le mélange est laissé réagir 2 heures à température ambiante, puis la lecture est faite à 765 nm. L'acide gallique (0-200  $\mu$ g/ml) est le standard utilisé pour établir la courbe d'étalonnage à partir de laquelle la concentration des polyphénols totaux des extraits est calculée (Li *et al.*, 2007).

#### -Expression des résultats

La concentration des polyphénols totaux est calculée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage, établie avec le standard étalon l'acide gallique (0-200  $\mu$ g/ml) et exprimée en milligramme d'équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait (mg EAG/g) (Wong *et al.*, 2006). Ces résultats ont permis de donner des estimations sur les quantités des polyphénols totaux contenus dans l'extrait méthanolique de l'ail. Chaque essai a été répété trois fois ainsi que, chaque valeur reportée dans ces tableaux est une moyenne (Boubekri, 2014).

## 4.2. Dosage des flavonoïdes

La méthode du trichlorure d'aluminium est employée pour déterminer la teneur en flavonoïdes totaux dans l'extrait d'*Allium sativum* (Yi et al., 2007).

Le trichlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ ) forme un complexe très stable avec les groupements hydroxydes OH des phénols. Ce complexe jaune absorbe la lumière visible à une longueur d'onde 430 nm. 1 ml de l'extrait et du standard (dissous dans le méthanol) avec les dilutions convenables a été ajouté à un volume égal d'une solution d' $\text{AlCl}_3$  (2% dans le méthanol). Le mélange a été vigoureusement agité et l'absorbance à 430 nm a été lue après 10 minutes d'incubation (Boukri, 2014).

### -Expression des résultats

Une courbe d'étalonnage établie par la quercétine (0-40 $\mu\text{g/ml}$ ), réalisée dans les mêmes conditions opératoires que les échantillons, servira à la quantification des flavonoïdes. La teneur en flavonoïdes est exprimée en milligramme d'équivalent de quercétine par gramme d'extrait (mg EQ/g d'extrait) (Yakhlef, 2010).



# Chapitre II

## Chapitre II

### **Tests de l'activité antibactérienne**

## II.1 Les souches testées

Les tests de l'activité antibactérienne ont été réalisés au niveau du Laboratoire de Bactériologie –hôpital Ibn Zohr guelma, puis au niveau de laboratoire de microbiologie – université guelma. 7 souches bactériennes ont été isolées à partir de prélèvements de malades ayant des infections urinaires (E.C.B.U).

Les germes qui ont été testés pour déceler l'activité antimicrobienne de l'extrait méthanolique de l'ail sont les suivants :

- deux souches de collection internationale ATCC (American type culture collection) : *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853
- cinq souches cliniques isolées de patients hospitalisés pour des infections urinaires : *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *klebsiella pneumoniae*, *Morganella morganii*, et *Raoultella ornithinolytica*.

Ces bactéries sont conservées et maintenues en vie par des repiquages continus, sur divers milieux de culture solides et liquides, selon les espèces.

## II.2 Milieux de culture

Selon les méthodes utilisées dans l'essai et selon les souches, nous avons utilisé les milieux suivants: la gélose nutritive, la gélose Mueller Hinton, bouillon nutritif et milieu Chapman.

## II.3 Test de sensibilité aux antibiotiques (Antibiogramme)

La méthode de diffusion à partir d'un disque solide a été utilisée pour mettre en évidence l'activité antimicrobienne des antibiotiques vis-à-vis des germes pathogènes et la comparer avec les résultats de l'aromatogramme afin d'évaluer le spectre d'inhibition de l'extrait méthanolique contre les micro-organismes analysés.

### II.3.1 Préparation de la suspension bactérienne

A partir d'une culture pure des bactéries à tester sur milieu d'isolement (ayant au maximum 24h), racler à l'aide d'une anse de platine ou d'une pipette pasteur scellée, quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques. Décharger l'anse ou la pipette pasteur dans 5 ml d'eau physiologique stérile à 0.9 %. Bien homogénéiser la suspension bactérienne, son opacité doit être équivalente à 0.5 Mc Farland ou à une DO de 0.08 à 0.10 lue à 625 nm. Ajuster l'inoculum, soit en ajoutant de la culture s'il est trop faible ou l'eau

physiologique stérile, s'il est trop fort. L'ensemencement doit se faire au moins 15 min après la préparation de l'inoculum (**Benzeggouta, 2005**).

### II.3.2 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 le décharger au maximum. Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée de haut en bas en stries serrées. Répéter l'opération deux fois en tournant la boîte de 60 ° 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.3.3 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 90mm de diamètre. Les disques d'antibiotiques doivent être espacés de 24 mm centre à centre. L'incubation dure 18h - 24h à 37°C (**Rahal et al., 2011**).

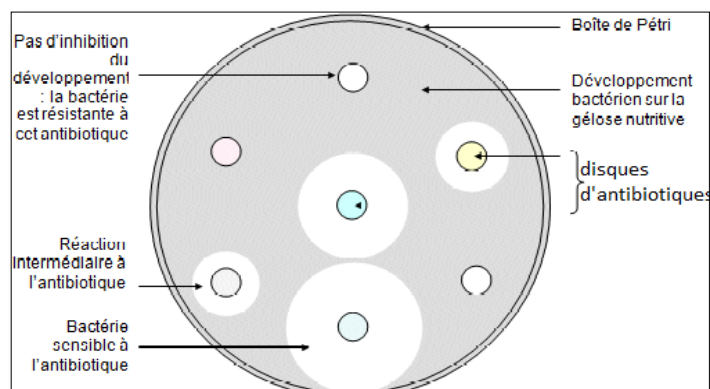
### II.3.4 Lecture

Mesurer en millimètre avec précision les diamètres des zones d'inhibition à l'aide d'un pied à coulisse métallique et comparer les résultats aux valeurs critiques figurant dans la table de lecture (04) (**Rahal et al., 2011**).

**Tableau.04** : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibitions [1].

Antibiotique	Diamètres critiques (mm)	
	S	R
-Pénicilline G (P)	≥29	<18
-Amoxicilline /Ac.Clavulanique (AMX)	≥23	<16
-Chloramphénicol (C)	≥23	<19
-Tétracycline (TE)	≥19	<17
-Acide fusidique (FA)	≥22	<15
-Erythromycine (E)	≥22	<17
- Vancomycine (VA)	≥17	-

Classer la bactérie dans l'une des catégories: sensible, intermédiaire et résistante (**Andrews J.M., 2001**). La figure (06) montre la technique de l'antibiogramme par la méthode de diffusion en Disque.



**Figure.06** : La technique de diffusion en disque (antibiogramme) [8].

## II.4 Méthode de diffusion en milieu gélosé (aromatogramme)

Deux méthodes différentes sont employées pour l'évaluation de l'effet antimicrobien de l'ail : la méthode de diffusion à partir d'un disque de papier qui permet la mise en évidence de l'activité antimicrobienne de l'extrait. Cette technique est identique à celui de l'antibiogramme, la seule différence c'est le remplacement des antibiotiques par des extraits aromatiques, 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).

### II.4.1 Préparation des disques

Les disques sont préparées à partir du papier wattman de 6 mm de diamètre, ensuite elles sont mises 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.4.2 Préparation des précultures

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

Ensuite, 4 à 5 colonies bactériennes identiques sont mises en suspension dans un bouillon nutritif (ou en eau physiologique à 0,9 % NaCl). Puis cette suspension est ajustée au standard Mc Farland 0,5 à l'aide d'un spectrophotomètre, correspondant à une densité optique DO entre 0,08 à 0,1 lue à 625 nm, ce qui correspond à une suspension contenant

environ  $10^8$  UFC/ ml (**Bonnet, 2010**). A partir de l'inoculum ajusté, une dilution au 1/100<sup>ème</sup> a été réalisé, pour avoir une suspension de  $10^6$  UFC/ml (**Akhad, 1998**).

Les disques préalablement préparés sont ensuite imbibés de 20 $\mu$ l 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 géloseensemencée par la souche à tester. La sensibilité des bactéries au méthanol est appréciée selon le même protocole que précédemment, mais avec les disques contenant 20  $\mu$ l 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 24 h (**Belaidi, 2012**).

### II.4.3 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 19 mm.

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

## II.5 Technique de dilutions en milieu liquide

### II.5.1 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 24 h. Sa détermination a été faite par observation du trouble induit par la croissance des germes étudiés dans chaque tube (**Toty et al., 2013**).

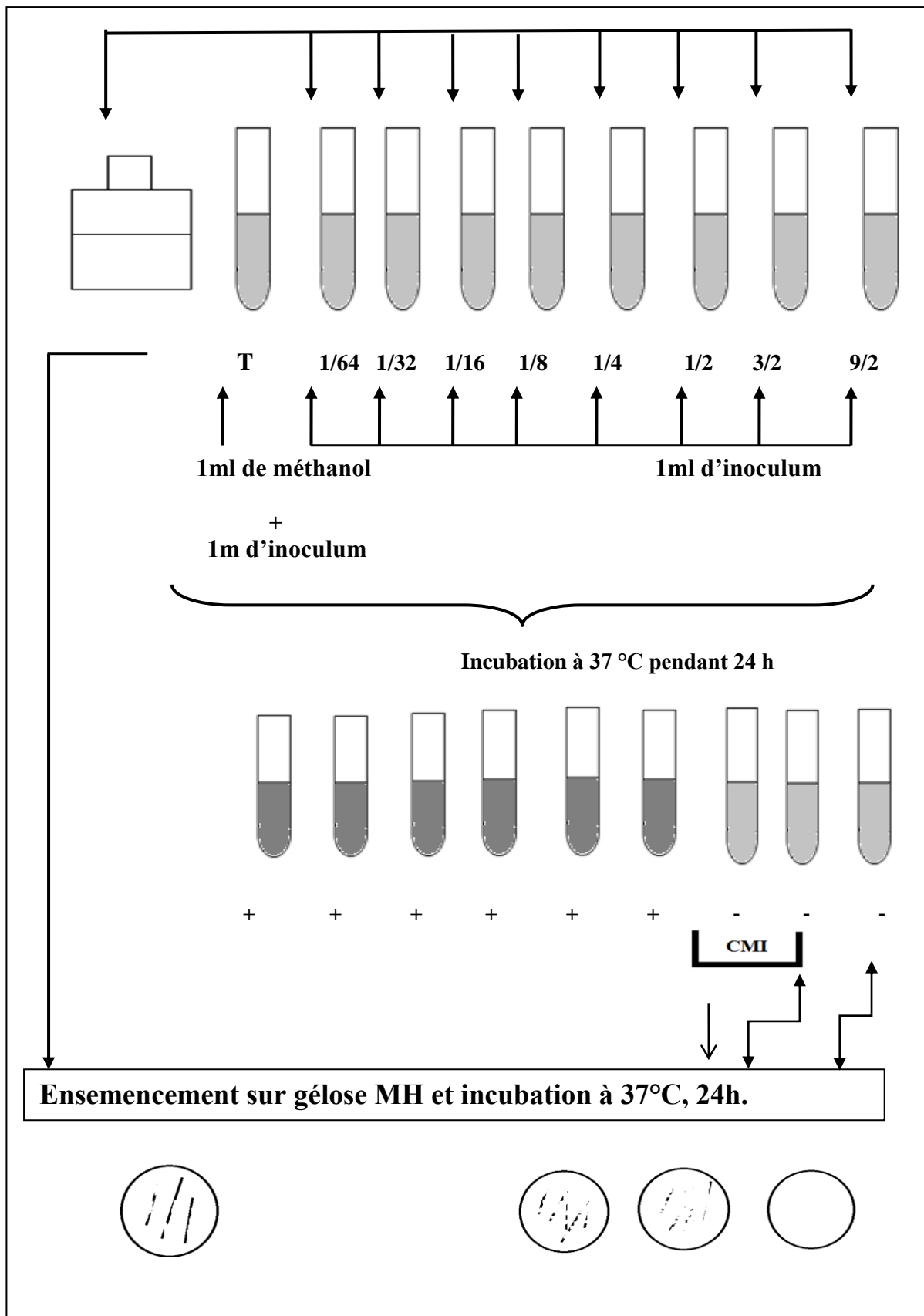
Dans une série de neuf tubes à hémolyse numérotés de C1 à C9, on a introduit 1mL de l'inoculum. Ensuite, on a ajouté dans les tubes, 1ml d'extrait végétal selon la gamme de dilution préparée. Cette répartition d'extrait végétal a été faite de sorte que 1ml d'extrait végétal de 1/64 soit transféré dans 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 24 h (Toty *et al.*, 2013).

### **II.5.2 Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB)**

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 boites ont été incubées à l'étuve à 37 °C pendant 24h (Toty *et al.*, 2013).

La CMB correspond à la concentration minimale pour laquelle toutes les bactéries sont mortes et aucune colonie caractéristique n'est observée sur le milieu (Lalaina et Blandine, 2009).



**Figure.07 :** Présentation schématique de la concentration minimale inhibitrice et bactéricide





# Chapitre III

## Résultats et Discussions

Dans cette partie expérimentale, deux volets ont été envisagés :

Le premier, concerne l'extraction des composés phénoliques par le méthanol et l'eau, suivi par la quantification des teneurs de ces composés. Les dosages obtenus exprimés en mg/ml sont déterminés en utilisant les réactifs suivants : le Folin- Ciocalteu pour les polyphénols, le trichlorure d'aluminium pour les flavonoïdes. Alors que le deuxième consiste à tester l'activité antimicrobienne de l'extrait méthanolique de l'ail.

La synthèse bibliographique entreprise au début de ce travail a permis de constater que les connaissances des composés phytochimiques de l'ail sont très limitées. Par ailleurs, une demande croissante en ingrédients d'origine naturelle a été observée ces dernières années favorisant par conséquent la recherche de nouveaux composés bioactifs.

### III.1 Résultats de l'analyse phytochimique

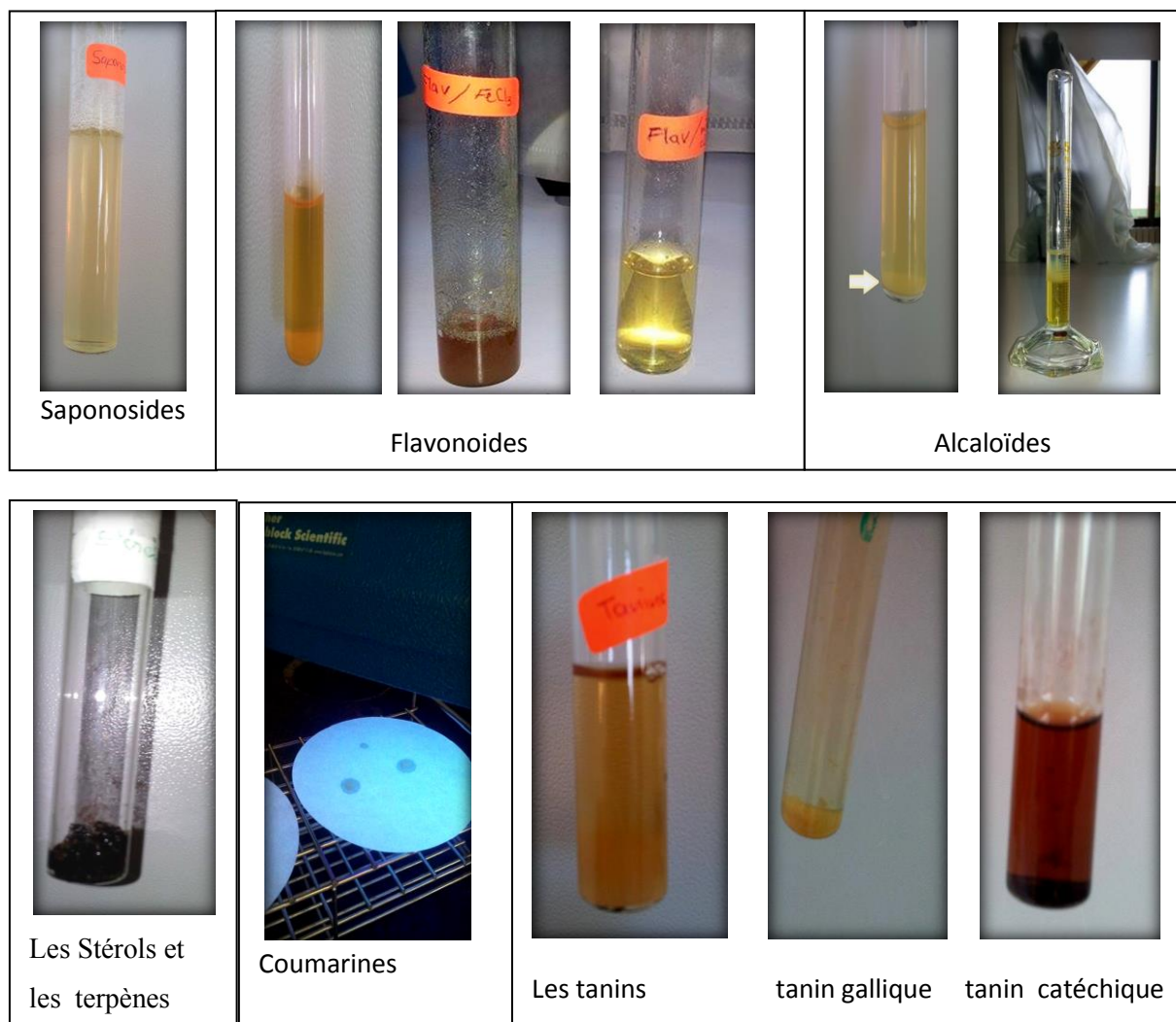
La mise en évidence des différentes classes des métabolites secondaires constituant une plante, a permis d'avoir une bonne idée sur ses activités pharmacologiques. Pour cela le screening phytochimique a été réalisé sur le matériel végétal broyé de l'ail en utilisant des solvants de polarité différente et des réactifs spécifiques de révélation. Les résultats expérimentaux des tests phytochimiques sont mentionnés dans le tableau (05) et la figure (08) ci-dessous.

**Tableau.05** : Screening phytochimique de la poudre d'ail.

La plante	Métabolites secondaires							
	Alcaloïdes	flavonoïdes	Saponosid -es	tanins	Tgal	Tcat	Coumarines	Stérols et terpènes
<b>Allium sativum</b>	+++	+	+++	++	-	++	-	+++

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

(+++) : Présence en quantité importante



**Figure.08** : Résultats des tests phytochimique de l'ail.

Les résultats expérimentaux du criblage phytochimique mentionnés dans le tableau (05) et dans la figure (08), montrent la présence des flavonoïdes, des tanins, des stérols et triterpènes, 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.

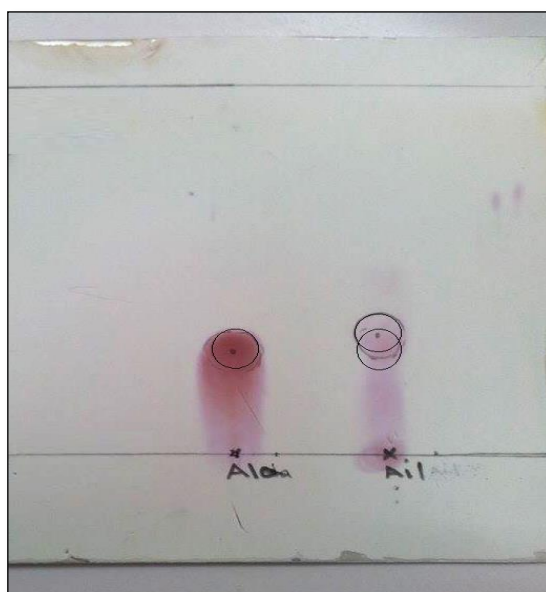
Le test positif des stérols et triterpènes a permis de confirmer leur présence avec une apparition d'un cercle marron ou violet.

De façon générale, les familles chimiques détectées dans notre étude viennent confirmer les travaux de **Sofiane et al., (2011)** et **Hanen 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 à nos résultats, à l'exception des flavonoïdes et des triterpénoïdes qui sont révélées forte.

### III.1.2 résultats de l'analyse qualitative (CCM)

Pour une caractérisation partielle de l'alliine à partir de la poudre d'ail, une chromatographie sur couches minces (CCM) a été réalisée par le biais de témoin (alanine) sur un support en silice en utilisant le système solvant suivant : Acétate d'éthyle - méthanol - eau distillée qui a permis d'avoir une bonne séparation et une visibilité acceptable des spots. Le résultat de chromatographie sur couche mince est illustré dans la figure (09).



**Figure.09** : Chromatogramme de la poudre d'ail (*Allium sativum L.*).

1-solution de référence : Alanine

2-solution à examiner : poudre d'ail

Après révélation de la plaque CCM par le biais d'une solution ninhydrinique, le chromatogramme montre pour la solution de référence (alanine) ; une tache rose violet avec  $RF = 0,22$  alors que la solution à examiner est caractérisée par deux tache (l'alliine) avec  $RF_1 = 0,22$  et  $RF_2 = 0,24$  respectivement.

En comparaison avec la solution de référence (l'alanine), il a été constaté que l'alliine correspondait à la première tâche ayant comme  $RF=0.22$  (tache 1).

L'étude phytochimique effectuée sur le produit, a révélé en plus des métabolites secondaires cités précédemment, la présence de l'alliine. Ce résultat concorde avec celui de **sofian et al., (2011)** sur la même espèce (*Allium sativum*) de provenance de la région de Chefachefa de la wilaya d'El-Taref, et d'une espèce étrangère (chinoise) vendue sur le marché algérien.

### III.2 Rendement de l'extraction

La macération de 250 g de la poudre d'ail dans le méthanol a permis d'obtenir un extrait sec de couleur brune foncée après avoir été lyophilisé.

Le rendement de l'extrait a été déterminé par rapport au matériel végétal sec. Les résultats du calcul des rendements massiques et les pourcentages obtenus sont reportés dans le tableau (06) suivant :

**Tableau.06** : Le rendement de l'extraction.

	Rendement massique	Rendement (%)
<b>Bulbes d'<i>Allium sativum</i></b>	21,18	08,47

Le rendement de l'extrait méthanolique de *l'ail* obtenu dans cette étude, est nettement supérieur à celui obtenu par **Biljana et al., (2008)** et **Dziri et al., (2012)** qui variait de 06,01% et 02,2% respectivement.

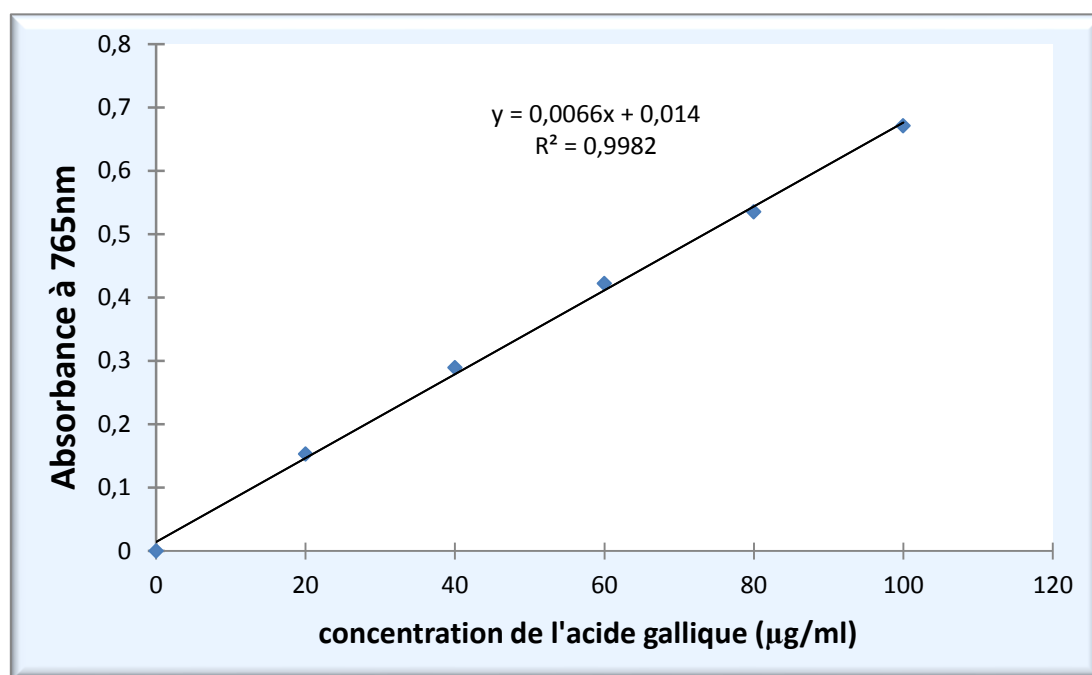
De façon général, Il est difficile de comparer les résultats avec ceux de la bibliographie, le rendement n'est que relatif et dépend de la méthode et des conditions dans lesquelles l'extraction a été effectuée. La méthode d'extraction affecte également tout le contenu total en phénols et flavonoïdes et l'activité antibactérienne (**Lee et al., 2003**).

### III.3 Résultats de dosage quantitatif

#### III.3.1 Dosage des polyphénols totaux

L'étude quantitative de l'extrait méthanolique d'*Allium sativum*, au moyen des dosages spectrophotométriques, avait pour objectif la détermination de la teneur des polyphénols totaux, et des flavonoïdes. L'analyse par le réactif de Folin-Ciocalteu est la méthode colorimétrique la plus utilisée (**Boudjouref, 2011**).

La courbe d'étalonnage (Figure.10) établie à l'aide de différentes concentrations d'acide gallique, nous a permis d'estimer la teneur en composés phénoliques de l'extrait. Elle était exprimée en mg équivalent en acide gallique par mL d'extrait (mg EAG/mL d'extrait) en utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage. ( $Y=0,0066x+0,014$ ,  $R^2=0,9982$ ).



**Figure.10** : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

L'exécution des résultats fait ressortir, la richesse de la plante étudiée en polyphénols avec une valeur de 2,306 mg EAG/g d'extrait.

**Kallel et al., (2014)**, et **Biljana et al., (2008)** ont dosé les polyphénols totaux de l'extrait méthanolique d'*Allium sativum*, la teneur trouvée était 25 mg EAG/g ; 0,05- 0,98 mg EAG/g respectivement. Les résultats de (**Biljana et collaborateurs**) sont relativement inférieur, à celui trouvé par la présente étude.

Ces différences dans les teneurs peuvent être provoquées par la faible spécificité du réactif de Folin-Ciocalteu qui est l'inconvénient principal du dosage colorimétrique. Le réactif est extrêmement sensible à la réduction de tous les groupes d'hydroxyles non seulement celles des composés phénoliques, mais également de certains sucres et de protéines...etc (**Vuorela, 2005 ; Gomez-Caravaca et al., 2006**).

En effet, la teneur phénolique d'une plante dépend également d'un certain nombre de facteurs intrinsèques (génétique) et extrinsèques (conditions climatiques, les pratiques culturelles, la maturité à la récolte et les conditions de stockage) (Falleh *et al.*, 2008 ; Podsdek, 2007).

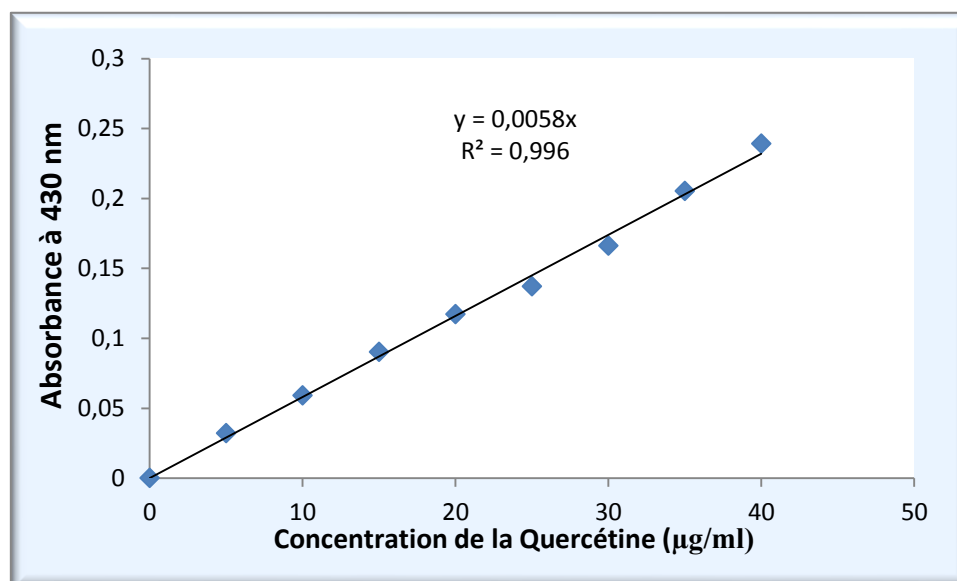
### III.3.2 Dosage des flavonoïdes

Les flavonoïdes représentent la sous classe la plus importante et la plus répondue des polyphénols. Le dosage de ces derniers a été réalisé selon la méthode de trichlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ ) où la quercétine a été utilisé comme étalon (Boudjouref, 2011).

Les résultats obtenus sont représentés dans une courbe d'étalonnage (Figure.11), ayant l'équation:

$$Y = 0,0058x, R^2 = 0,996$$

La quantité des flavonoïdes a été rapportée en milligramme d'équivalent de la quercétine par milligramme de poids sec de l'extrait (mg EQ/mg d'extrait).



**Figure.11** : Courbe d'étalonnage de la quercétine.

L'examen des résultats enregistrés dans le graphe (Figure.11) ci-dessus ont permis de constater que l'extrait méthanolique renferme une quantité de 0,855 mg EQ/g en flavonoïdes.

**Dziri et al., (2012)**, ont déterminé la concentration des flavonoïdes dans l'extrait méthanolique avec une valeur de 18,9 mg QE/100g . Cependant, **Kallel et al., (2014)**, et **Biljana Bozin et al., (2008)** ont estimés une valeur de 0,617mg QE/g , et de 4,16µg QE/g d'extrait respectivement. Ces valeurs sont partiellement inférieures à celle trouvée par ce travail.

### III.4 Résultats du test du pouvoir antimicrobien

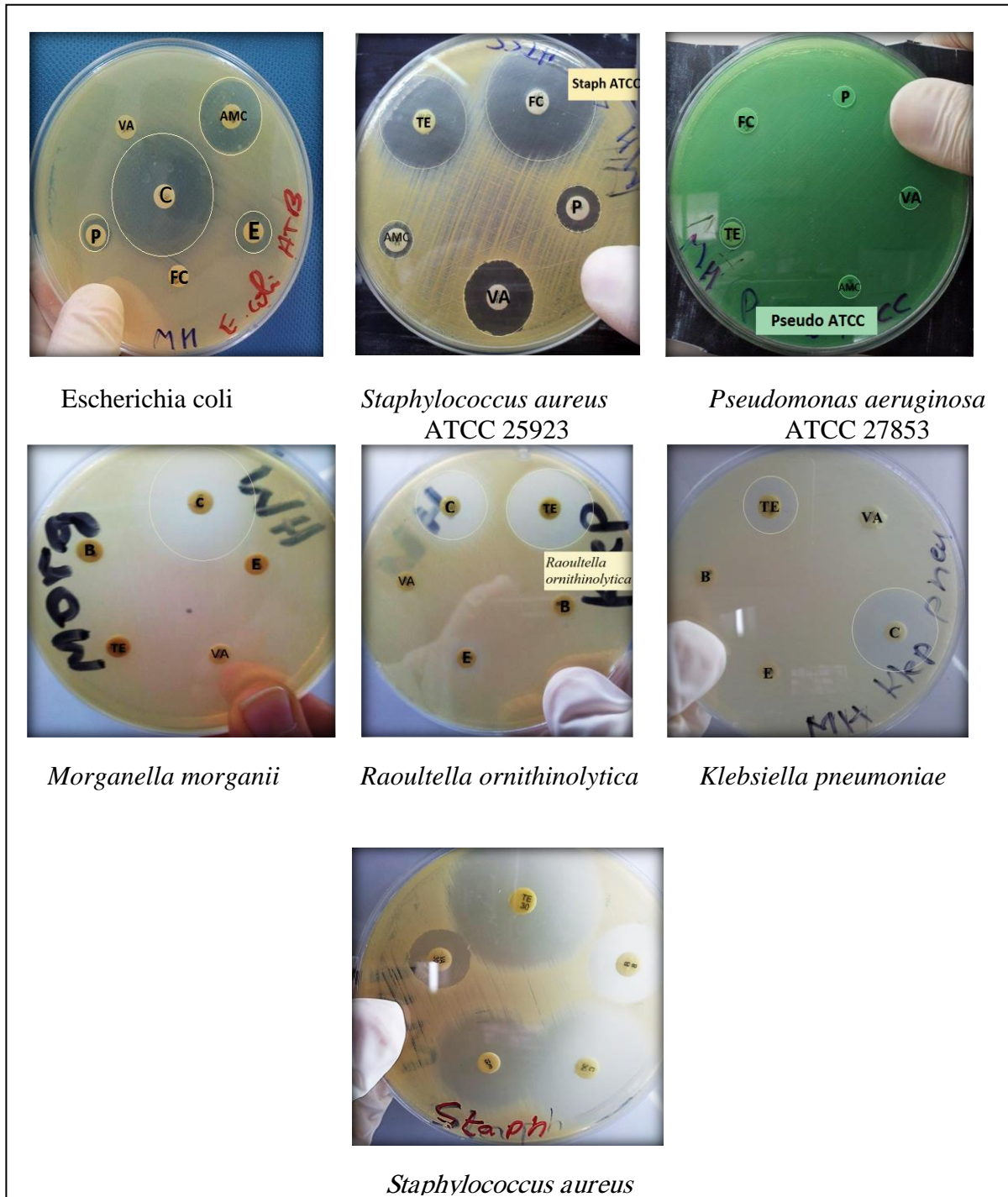
#### III.4.1 Méthode de diffusion en milieu solide (Antibiogramme)

L'antibiogramme consiste à chercher la sensibilité des souches vis-à-vis des antibiotiques, 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:** Les diamètres d'inhibitions des souches testées vis-à-vis des antibiotiques.  
(Diamètre de la zone d'inhibition en mm)

ATB Souches	Diamètres des zones d'inhibitions (mm)							
	C 30µg	TE 30 µg	E 15 µg	VA 30 µg	P 6 µg	FC 10 µg	AMC 30 µg	B 8 µg
<i>S. aureus</i> ATCC 25923		24		19	12	35	10	
<i>S.aureus</i>	33	37	26.5	15				20
<i>P.aeruginosa</i> ATCC 27853		06		06	06	06	06	
<i>E. coli</i>	31		11.5	06	09	06	19	
<i>K.pneumoniae</i>	25	14	06	06				06
<i>R.ornithinolytica</i>	23.5	24	07	06				06
<i>M. morganii</i>	29	06	06	06				06





**Figure.12 :** Comportements des souches testées aux antibiotiques

D'après ces illustrations, on peut observer que les différentes souches de bactéries étudiées réagissent différemment aux antibiotiques testés, même s'il s'agit de deux souches d'une même espèce bactérienne (exemple : *S. aureus* ATCC 25923 et *S. aureus* clinique) ce qui montre le caractère mutagène de ces souches qui leur permet d'acquérir la résistance aux antibiotiques.

Les souches de bactéries à Gram + et à Gram - (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Raoultella ornithinolytica*, *Morganella morganii*) ont montré des sensibilités différentes aux antibiotiques standards testés : AMoxilline + Ac. Clavulanique (AMC), Erythromycine (E), Chloramphénicol (C), Acide Fusidique (FA), Vancomycine (VA), Tétracycline (TE), Pénicilline G (P), Bacitracine (B). Parmi les souches étudiées *Pseudomonas aeruginosa* se révèle multirésistante.

La bactérie *E.coli* est sensible à Chloramphénicol, avec un diamètre de zone d'inhibition de 31 mm, alors qu'elle est résistante à la Vancomycine, acide fusidique avec des diamètres d'inhibitions de 06mm.

La souche *S. aureus* a manifesté une sensibilité vis-à-vis tous les antibiotiques, sauf cet effet est plus faible pour l'antibiotique vancomycine. De même *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 se révèle sensible aux TE (24mm), VA (19mm), FC (35mm) et résistante à l'AMC avec un diamètre d'inhibition de 10mm.

*Klebsiella pneumoniae*, *Morganella morganii*, *Raoultella ornithinolytica* ont montrés une sensibilité à chloramphénicol avec des diamètres de 25mm, 29mm et 24 mm respectivement, alors que ces derniers sont résistantes aux TE, E, VA, et B à l'exception que *Raoultella ornithinolytica* présente une sensibilité au TE (24mm).

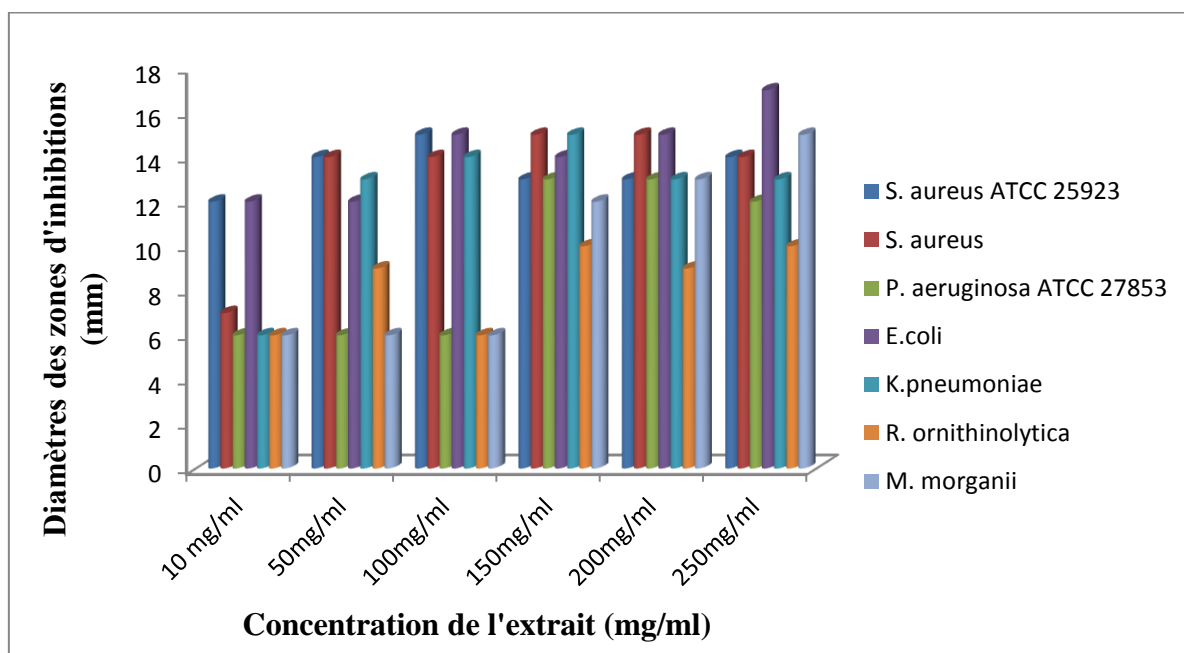
#### III.4.2 Méthode de diffusion en disque (Aromatogramme)

La méthode de diffusion des disques a permis de mettre en évidence le pouvoir antibactérien de l'extrait méthanolique de l'ail vis-à-vis des souches bactériennes 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 a l'extrait (aromatogrammes) sont indiquées dans le tableau (08) et les figures (13, 14, 15). 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	Diamètres des zones d'inhibitions (mm)					
	10mg/ml	50mg/ml	100mg/ml	150mg/ml	200mg/ml	250mg/ml
<i>S.aureus</i> ATCC 25923	12	14	15	13	13	14
<i>S.aureus</i>	07	14	14	15	15	14
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	06	06	06	13	13	12
<i>E. Coli</i>	12	12	15	14	15	17
<i>K.pneumoniae</i>	06	13	14	15	13	13
<i>R.ornithinolytica</i>	06	09	06	10	09	10
<i>M. morganii</i>	06	06	06	12	13	15

**Figure.13 :** Histogramme de l'aromatogramme de différentes souches testées

Pour l'évaluation du potentiel antibactérien de l'extrait méthanolique de l'ail, il a été préféré de le 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 :

La diminution du diamètre des zones d'inhibition correspondant à une diminution de la concentration de l'extrait appliquée.

L'extrait présente des activités importantes, qui s'étendent sur la totalité des souches de la collection.

Les souches de *Pseudomonas aeruginosa*, *Morganella morganii*, et *Raoultella ornithinolytica* possèdent un potentiel de résistance élevé contre l'action antibactérienne de l'extrait par rapport à la totalité des souches testées avec des diamètres d'inhibitions qui varient entre 06 mm et 09mm relatifs aux concentrations 10, 50 et 100 mg/ml. Cependant, L'extrait méthanolique n'a persisté actif qu'après la concentration 150 mg/ml. En comparant avec les résultats d'antibiogramme mentionnés précédemment, elles sont apparues résistante à presque tous les antibiotiques testés. Ce qui prouve que l'extrait méthanolique a une activité antibactérienne plus au moins élevées par rapport aux antibiotiques utilisés.

*S.aureus ATCC 25923*, montrent une sensibilité importante vis-à-vis aux différents concentrations testées avec des auréoles d'inhibitions qui varient entre 12mm-15mm.

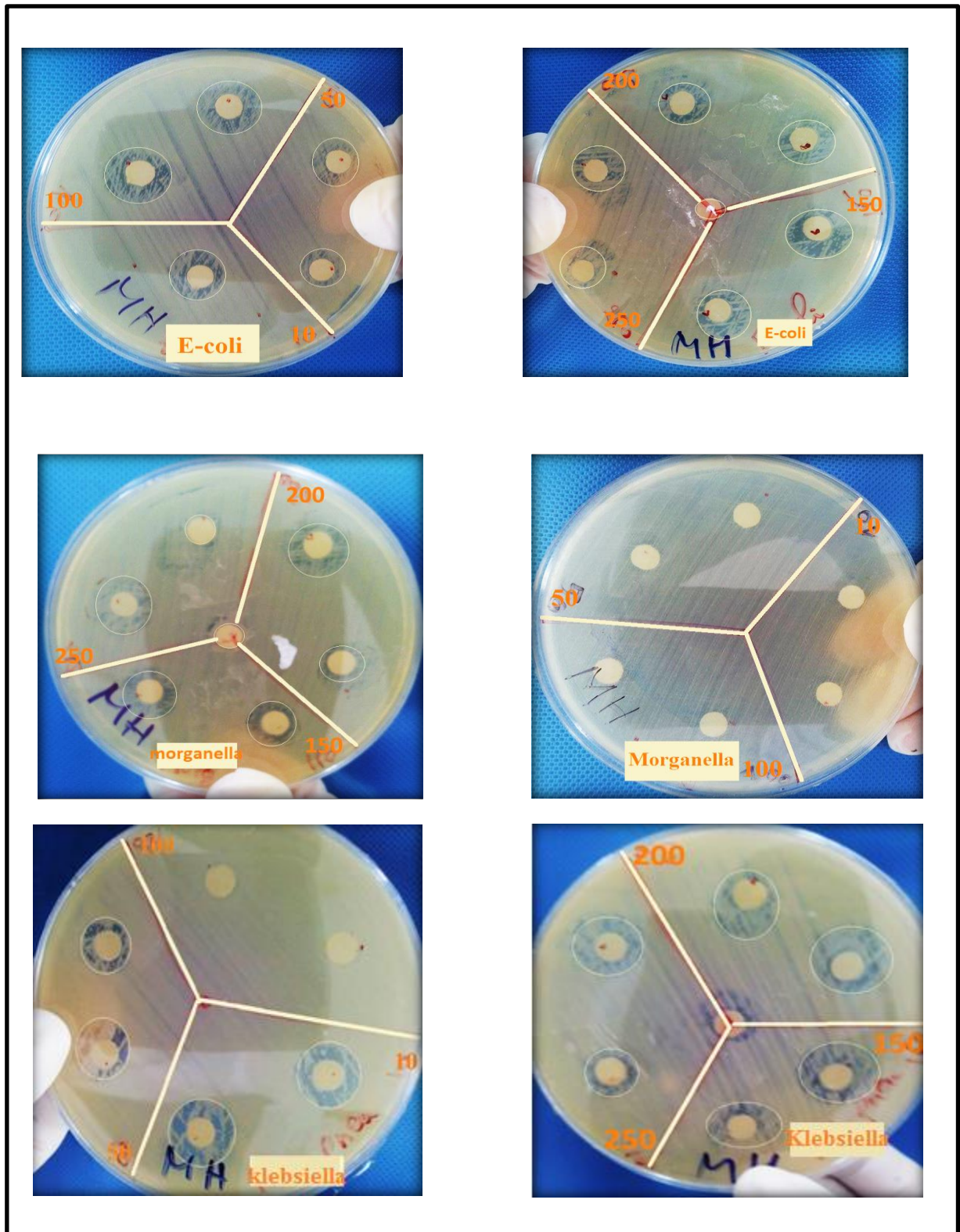
A titre comparatif, il y avait une égalité approximative du diamètre d'inhibition de l'extrait méthanolique (15 mm) et de la Vancomycine (19mm).

Malgré la résistance enregistrée d'*E.coli* aux antibiotiques testés, elle s'est avérée sensible à tous les doses employées avec des halos d'inhibition de 12 mm à 17 mm.

Les bactéries *S.aureus* et *K. pneumoniae* ont manifestées une sensibilité vis-à-vis tous les doses utilisées, sauf cet effet est plus faible pour la concentration minimale (10mg/ml) avec des diamètres de 07mm et 06mm respectivement.

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 étaient plus actifs vis-à-vis de la souche par rapport à l'extrait. Par contre, *K.pneumoniae* n'étaient sensible qu'au chloramphénicol avec un halo d'inhibition de 25mm, alors que l'activité antibactérienne de l'extrait s'est avérée faible avec une zone maximale d'inhibition de 15mm.

En revanche, un test négatif avec le méthanol (20µl) a été effectué afin de montrer que celui-ci n'a aucun effet à la survie des souches.



**Figure.14** : l'effet de l'extrait méthanolique de l'ail sur *E. coli*, *M.morganii* et *K. pneumoniae*

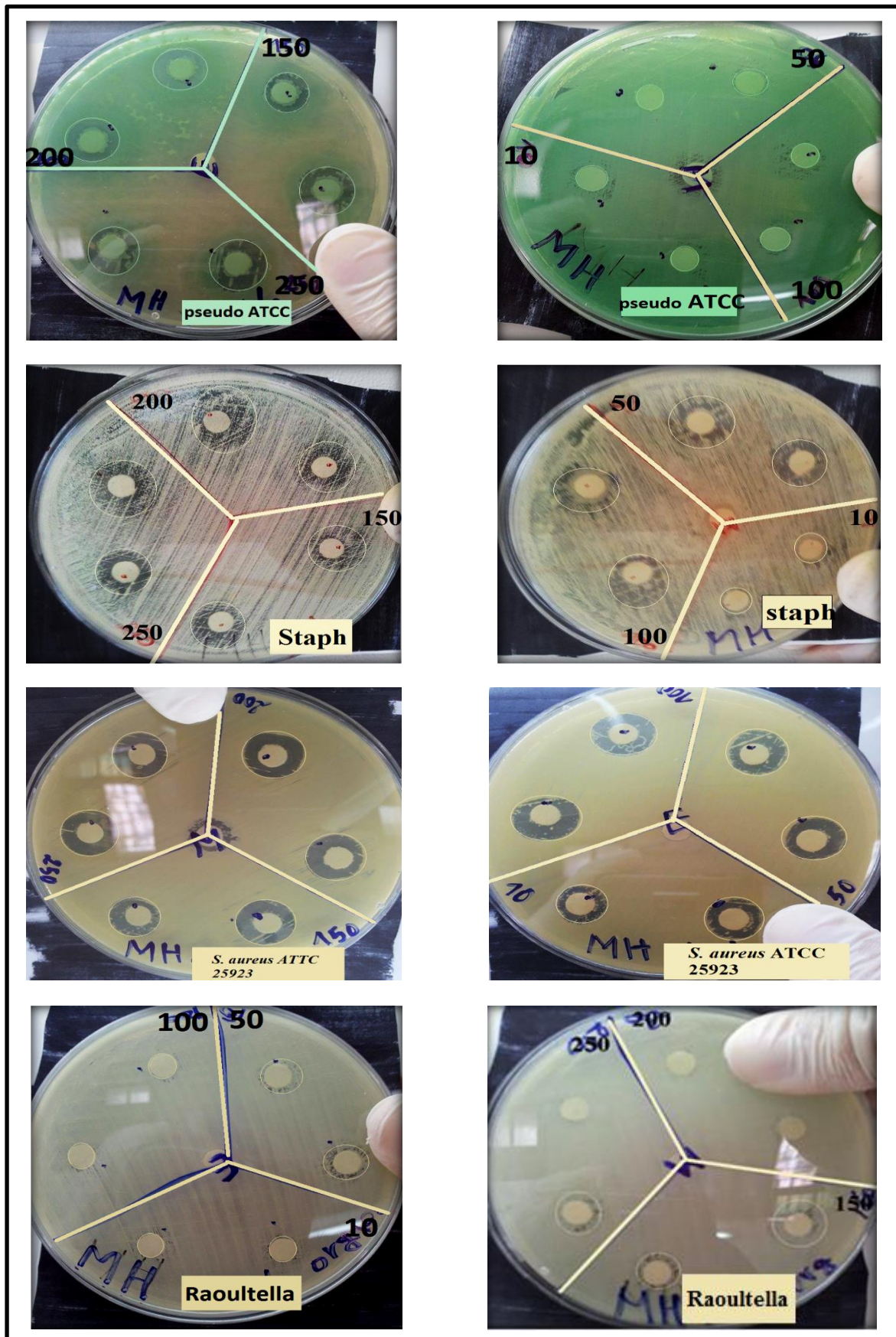


Figure.15 : L'effet de l'extrait méthanolique de l'ail sur *P. aeruginosa* ATCC 27853, *S. aureus*, *S. aureus* ATCC 25923 et *R. ornithinolytica*.

Les résultats obtenus prouvent l'existence d'activité antibactérienne contre les sept souches testés, qui sont des microbes pathogènes. Donc, il est intéressant d'estimer les CMI.

### III.5 Méthode de Macrodilution en milieu liquide

Les résultats obtenus par la méthode de diffusion en disque nous a conduits de faire confirmer quantitativement l'activité antibactérienne de l'extrait vis-à-vis des souches testées. Cette évaluation quantitative a été effectuée par la détermination de la CMI en utilisant la méthode de dilution en milieu liquide.

- **Détermination de la Concentration minimal bactéricide (CMB)**

L'inoculation sur milieu gélosé à partir des tubes sans croissance bactérienne visible où on a pu déterminer une CMI est nécessaire pour déterminer la nature de l'activité antimicrobienne de l'extrait (bactéricide ou bactériostatique).

Les résultats de la CMI et la CMB sont mentionnés dans le tableau (09) et les figures (16, 17) ci-dessous.

**Tableau.09** : Détermination de la CMI et de la CMB de l'extrait méthanolique.

	CMI (v/v)	CMB (v/v)	CMB/CMI
<i>S.aureus</i> ATCC 25923	ND	ND	ND
<i>S.aureus</i>	1/8	1/4	2
<i>P.aeruginosa</i> ATCC 27853	1/2	1/2	1
<i>E.coli</i>	1/2	3/2	3
<i>K.pneumoniae</i>	1/4	1/4	1
<i>R.ornithinolytica</i>	1/4	1/4	1
<i>M.morganii</i>	1/4	3/2	6

La concentration minimale inhibitrice (CMI) a été déterminée pour les différentes souches microbiennes (Tableau.09) La souche *S.aureus* était la plus sensible à l'extrait avec une concentration (CMI) de 1/8, tandis que les trois autres Souches *K.pneumoniae*, *R.ornithinolytica* et *M.morganii* étaient plus au moins résistantes avec des CMI identiques de 1/4, par contre *P.aeruginosa* et *E.coli* semblaient les plus résistantes avec des concentrations similaires de 1/2.



**Figure.16** : Présentation de la série de dilutions en milieu liquide des souches testées (détermination de la CMI).

Il a été difficile de comparer les résultats avec ceux de la bibliographie, du fait que la méthode utilisée pour la détermination de la CMI en milieu liquide (volume/volume) est différente par rapport aux recherches antérieures. En prenant comme exemple, les travaux de **kallel et ses collaborateurs (2014)**, qui ont déterminé les CMI d'extrait méthanolique d'*Allium sativum L* sur sept souches microbiennes, notamment : *S. aureus* (2 mg/ml), *P.aeruginosa*, *K.pneumoniae* et *E.coli* (10mg/ml).



• Concentration minimale bactéricide

D’après les rapports de CMB/CMI indiqués dans le tableau ci-dessus, qui est compris entre 1 et 6, on peut déduire que l’extrait méthanolique possède un pouvoir bactéricide sur la plupart des souches testées.

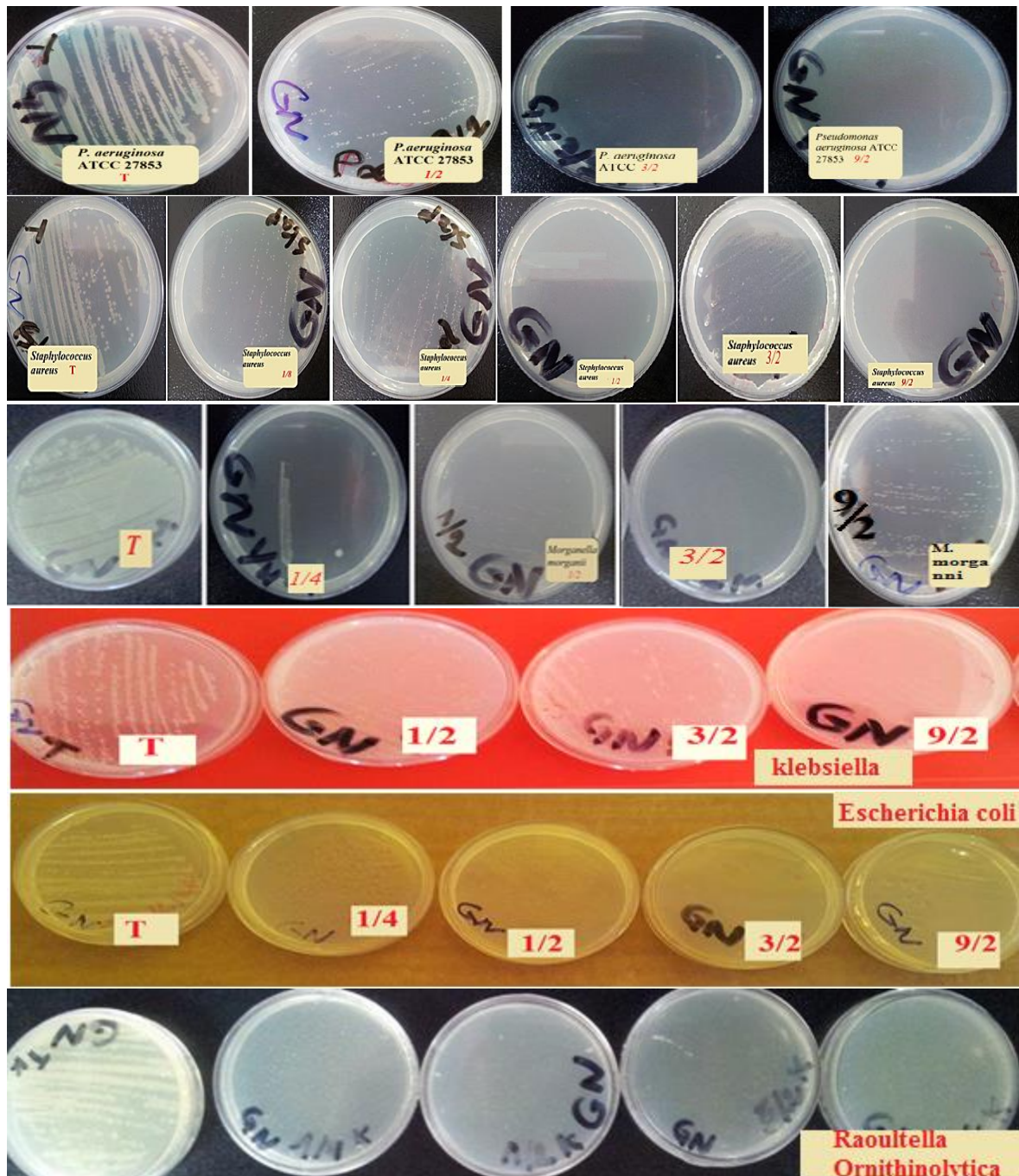


Figure.17 : Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB)

L'extrait méthanolique de l'ail a réagi positivement au moins sur une des souches microbiennes testées ce qui confirme que la plante d'*Allium sativum* est douée de propriétés antimicrobiennes très appréciées et cela justifie son utilisation dans le traitement traditionnelle comme un remède antibactérien.

Les deux souches de *Staphylococcus aureus* à gram positif sont plus sensibles que les autres souches bactériennes testées à gram négatif. L'hypersensibilité de celles-ci peut s'expliquer par la probabilité de sensibilité des bactéries Gram (+) aux changements environnementaux externes, tels que la température, et le pH (Balentine *et al.*, 2006).

En contre partie, les résultats viennent infirmés ceux de Dziri *et al.*, (2012) qui ont trouvé que l'extrait méthanolique de l'ail n'a aucune activité contre *Staphylococcus aureus*.

d'un autre côté, (Tsao *et al.*, 2003 ; Zhou, 2003 et Najjaa *et al.*, 2011) viennent corroborer nos résultats.

Plusieurs auteurs rapportent la faible sensibilité des souches de *Pseudomonas aeruginosa* vis-à-vis de l'ail (Corzo-Martinez *et al.*, 2007 ; Kallel *et al.* 2014 ; Harris *et al.*, 2001). En revanche, Dziri *et al.*, (2012) ont infirmés la sensibilité de cette souche contre l'extrait méthanolique d'*Allium roseum var. odoratissimum*, les résultats obtenus sont beaucoup plus élevés par rapport à ces derniers, cela est dû à plusieurs raisons, premièrement, leurs souches sont peut-être plus résistantes que les nôtres ; deuxièmement, au fait que les échantillons de plante (*Allium sativum*) utilisés sont d'origine géographiques différentes, ce qui fait intervenir le phénomène de polymorphisme chimique.

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* et *K.pneumoniae*. 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*.

Très peu de recherche se sont intéressées à l'étude de l'activité antimicrobienne de l'extrait méthanolique de l'ail vis-à-vis aux deux autres souches testées dans la présente étude qui sont *Morganella morganii* et *Raoultella ornithinolytica*.

Des preuves provenant de plusieurs enquêtes suggère que les fonctions biologiques et médicales de l'ail sont principalement dus à leur teneur élevée en composés organo-soufrés (Augusti et Mathew, 1974). Cependant, certains composés phénoliques peuvent également contribuer à cette activité (Griffiths *et al.*, 2002).

**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**).

L'efficacité optimale d'un extrait peut ne pas être due à un constituant actif majoritaire, mais plutôt à l'action combinée (synergie) de différents composés (**Essawi et Srour, 2000**).

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**).

Selon la littérature, Ces composés bioactifs sont plus puissants sur les bactéries à gram positif que sur les bactéries à gram négatif. Cela peut être expliqué par la différence de la composition chimique de la paroi de deux groupes bactériens. Les bactéries à gram négatif ont une paroi qui ne permet pas la pénétration des molécules hydrophiles à cause de la présence des LPS (lipopolysaccharides), tandis que celles à gram positif ont une paroi constituée essentiellement de peptidoglycane qui laisse passer les molécules hydrophiles (**Benzeggouta, 2005**). En fait, cette dissemblance est relié à la capacité des composés, influencée par leur taille et leur forme, pour atteindre son site d'action (**Kallel et al., 2014**).

Ces données viennent confirmer nos résultats du fait que les bactéries à gram + testées sont plus sensibles que les bactéries a gram (-), à l'exception d'*E.coli* et *K.pneumoniae* qui sont révélées sensibles.

Cette 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-lactamines 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 **Cantwel, (2000)** à propos l'analyse fine des extraits alcooliques d'ail en montrant la présence de produits de condensation de l'alliicine, les 6-Z et les 6E-ajoénes (4, 5, 9-trithiadodéca-1, 6,11-trièn-9-S-oxyde) et de produits de cycloaddition du propènethial ( vinyldithiines)

Ce qui justifie le pouvoir puissant de l'extrait méthanolique contre les souches testées.

La raisons de la résistance de certaines bactéries testées (*Pseudomonas aeruginosa*, *Morganella morganii*, et *Raoultella ornithinolytica*) ne sont pas claires. On suppose que les couches capsulaires hydrophiles ou muqueuses empêchent la pénétration de l'allicine et d'autres métabolites bioactifs dans les bactéries, mais cela doit être étudié de manière plus approfondie (**Ankri et Mirelman, 1999**).

Tout comme les antibiotiques, l'allicine a sa cible au niveau de la bactérie (**Feldberg et al., 1988**). Récemment, plusieurs travaux (**Ankri et al., 1999 ; Harris et al., 2001**) ont étudié le mécanisme d'action des molécules d'allicine pures en détail. Ils ont été trouvés que le principal effet antimicrobien de l'allicine est due à sa réaction chimique avec des groupes thiol de diverses enzymes, par exemple, l'alcool déshydrogénase, la thiorédoxine réductase, et l'ARN polymérase. A des concentrations légèrement plus élevées, l'inhibition partielle de ces enzymes pourrait être mortelle pour le microorganisme (**Ankri et Mirelman, 1999**).

En outre, l'allicine, à des concentrations bactériostatiques a été trouvée pour inhiber partiellement, dans la *Salmonella typhimurium*, la synthèse d'ADN et des protéines, mais l'effet sur la transcription a été immédiat (**Ankri et Mirelman, 1999**).

L'ARN polymérase *d'E-coli*, dans sa sous-unité alpha, contient un groupe sulfhydryle unique qui peuvent réagir avec le dérivé de fluorescéine monomercuric, un réactif spécifique pour les groupes thiol. Ce qui permet de suggérer que l'ARN polymérase peut aussi être une cible principale pour l'action de l'allicin (**Ankri et Mirelman, 1999**). Les constatations qui ont été faite par (**Goltz et Ghedira, 2012**) suggèrent également que l'allicine agit en provoquant un changement du profil lipidique de la membrane cellulaire.

Par ailleurs, la prééminence éminente de l'effet antibiotique des produits de référence sur celui de l'extrait le plus actif de notre étude pourrait s'expliquer par le fait que les substances de référence sont des molécules pures, isolées et de concentrations bien connues. Ce qui n'est pas forcément le cas avec l'extrait méthanolique brut qui lui est un concentré de constituants chimiques variés non purifiés.

# Conclusion et perspective

La majorité des médicaments actuels sont des copies concentrées de remèdes végétaux. L'Algérie est dotée d'une biodiversité végétale immense, qui reste à découvrir et une grande partie de cette flore est constitué par des espèces médicinales y compris la famille des *Alliacées* qui sont toujours connues par leurs propriétés thérapeutiques.

Ce travail avait pour objectifs d'évaluer l'effet antibactérien de l'extrait méthanolique des bulbes d'*Allium sativum L* sur certaines souches bactériennes.

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

Sur le plan phytochimique, les résultats montrent une composition riche et variée en métabolites secondaires. En outre, l'extraction des composés phénoliques de la plante a permis d'obtenir un rendement relativement faible, alors que la teneur en composés phénoliques et en flavonoïdes était conséquente.

L'activité antimicrobienne a été déterminée sur sept souches bactériennes, selon la méthode de diffusion sur disque, Les résultats indiquent que l'extrait possède une activité antimicrobienne sur toutes les souches testées. La méthode de dilution a confirmé les résultats de la méthode de l'aromatogramme. Les CMI obtenues sont comprises entre 1/8 et 1/2. De même, la détermination de la CMB de l'extrait méthanolique de l'ail nous a permis de montrer que l'extrait possède un pouvoir bactéricide sur la plupart des souches testées.

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

Cette action antibactérienne, quoique manifeste sur la majorité des souches cliniques testées, reste tout de même faible comparativement à celle observée avec les substances de référence (antibiotiques).

La plante étudiée se caractérise par un réservoir assez important de métabolites secondaires avec des caractéristiques thérapeutiques et pharmacologiques particulières qui demandent d'être exploitées par les recherches, de cet effet, et comme perspectives on propose de :

- ✓ Faire une étude comparative de l'effet antimicrobien de différents extraits dérivant des autres organes d'*Allium stadium*.

- ✓ Déterminer de nouvelles substances bioactives naturelles pourront répondre aux différents problèmes de la santé et d'être un alternatif des médicaments synthétiques.

- ✓ Orienter les recherches scientifiques vers la réalisation des études approfondies sur l'activité antioxydante des composés polyphénoliques.

- ✓ faire un screening plus complet des principaux groupes chimiques potentiellement actifs, d'identifier et d'isoler le ou les principes actifs, ce qui pourrait, après des études complémentaires, renforcer l'antibiothérapie en pathologie médicale. Cette étude justifie ainsi l'usage traditionnel d'*A.sativum* dans le traitement de bon nombre de maladies.

- ✓ Il serait également intéressant de réaliser d'autres études pour évaluer le potentiel antimicrobien de l'extrait méthanolique de l'ail *in vivo* sur des modèles animales.

Sachant que le but ultime de ce travail est la valorisation de la plante d'*Allium sativum* et la recherche de son intervention dans la phytothérapie humaine, l'évaluation de l'existence d'une éventuelle potentialité génotoxique de cet extrait issu de cette plante serait nécessaire.



# Références bibliographiques

- **Abderrazak M., Joël R.** (2007). La botanique de A à Z. Paris : Dunod, P177.
- **Agnès Vannereau., Fouad Mellouki.** (1996). Quelques exemples d'activités biologiques des substances soufrées des *Allium* utilisées en phytothérapie, *Acta Botanica Gallica*, 143 (2-3), 143-148. DOI: 10.1080/12538078.
- **AkroumSouâd.**(2012). Etude analytique et biologiques des flavonoides naturels en ligne. Thèse de Doctorat en sciences. Constantine: Université Mentouri de Constantine, P112. Disponible sur:<http://umc.edu.dz/buc/theses/biologie/AKR5942.pdf>(consulté le 20.04.2015).
- **Alix Lefief-Delcourt.** (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 : 978-2-84899-473-4.
- **Amagase H., Petesch BL., Matsuura H., Kasuga S., Itakura Y.** (2001) Intake of garlic and its bioactive components. *The Journal of Nutrition*, 131, 955-962.
- **Andrea Lugasi., JuditHóvári., KatalinV.Sági., LajosBíró.** (2003). The role of antioxidant phytonutriments in the prevention of diseases. *ActaBiologicaSzegediensis* [en ligne]. 47(1-4), 119-125. Disponible sur: <http://mail.Encognitive.com/files/Phytonutrients%20in%20the%20Prevention%20of%20Diseases.pdf> (consulté le 03.02.2015).
- **Andrews J.M.** (2001).The development of the BSAC standardization method of disc diffusion testing. *JAC*. Ed: British society for antimicrobial chemotherapy. (48) S129-42.
- **Angela Wilson.** (1987). Flavonoids pigments in chalkhill blue ( *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 19.02.2015).
- **Attou Amina.** (2011).Contribution à l'étude phytochimique et activités biologiques des extraits de la plante *Rutachalepensis*(Fidjel) de la région d'Ain Témouchent. Mémoire de Magister en Biologie. Tlemcen : université ABOU BEKR BELKAID, Tlemcen, P 09. Disponible sur : <http://dspace.univ-tlemcen.dz/bitstream/112/273/1/contribution-a-letudephytochimique-et-activites-biologiques->

[des-extraits-de-la-plante-Rutachalepensis\(fidjel\)de-la-region-dAinTemouchent.Pdf](#)  
(consulté le 10/03/2015).

- **Avril J.L., Dabernat H., Denis F., Monteil H.** (2000). Bactériologie clinique. 3ème édition. Paris : Ellipses, P 195- 602.
- **Bachmann Janet.** (2008). *Garlic Organic Production* [en ligne], National Center for Appropriate Technology, Etats-Unis : une publication d'ATTRA. Disponible sur : [www.attra.ncat.org](http://www.attra.ncat.org). (consulté le 10.02.2015).
- **Balentine C.W., Crandall 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.
- **Banerjee S.K, Maulik M, Mankahanda S.C, Dinda A.K, Das T.K, Maulik S.K.** (2001). Garlic-induced alteration in rat liver and kidney morphology and associated changes in endogenous antioxidant status. *Food Chem Toxicol*, 39, 793-797.
- **Banerjee S.K., Maulik M., Gupta S.K., Mankahanda S.C., Dinda A.K., Maulik S.K.** (2002). Effect of chronic garlic intake of endogenous antioxidants and ischemic-reperfusion injury in isolated rat heart. *Ind J Pharmacol*, 33, 298.
- **Belaidi El-Batoul.** (2012). Etude de l'activité antibactérienne des extraits de *Berberis vulgaris* ( L.) et *Punica granatum* (L.) vis-à-vis de souches bactériennes multirésistantes aux antibiotiques isolées du C.H.U de Tlemcen. Mémoire de Master en Biologie. Tlemcen: Université Abou Bekr Belkaid, Tlemcen, P 31.
- **Belyagoubi Née Benhammou Nabila.** (2011). Activité antioxydante des extraits des composés phénoliques de dix plantes médicinales de l'Ouest et du Sud-Ouest Algérien [En ligne]. Thèse de Doctorat. Tlemcen : université Aboubekrbelkaid, P : 13. Disponible sur : <http://dSPACE.univ-tlemcen.dz/bitstream/112/2006/1/Activite-antioxydante-des-extraits-des-composes-phenoliques.pdf> (consulté le 06.03.2015)
- **Benzeggouta Nairouz.** (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.
- **Berche P., Gaillard J.L., Simonet M.** (1989). Bactériologie: bactéries des infections humaines. Médecine-Sciences Flammarion.
- **Bernard Chemouny.** (2012). Soigner le stress par l'homéopathie et la phytothérapie. Paris: Odile Jacob, P 77. ISBN: 978-2-7381-7823-7.

- **Biljana Bozin., Neda Mimica-Dukic., Isidora Samojlik., Anackov Goran., Ruzica Igic.** (2008). Phenolics as antioxidants in garlic (*Allium sativum L., Alliaceae*). *Food Chemistry*, 111, 925–929.
- **Billing J., Sherman P. W.** (1998). Antimicrobial Functions of Spices: Why Some Like it Hot. *Q. Rev. Biol*, 73, 3-49.
- **Borek C.** (1997). Antioxidants and cancer. *Sci Med*, 4, 51-62.
- **Boudjouefmourad.** (2011). Etude de l'activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits d'*ArtemisiacampestrisL.* Mémoire de Magister en Biochimie. Sétif: Université Ferhat Abbas, Sétif, P 24-31-57.
- **Boukri Nourel Houda.** (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 Kasdimerbah, Ouargla, P 19-20-35-41-45-54.
- **Braithwaite A., Smith F. J.** (1999). *Chromatographic Methods*. 5ème Editions. London: Kluwer Academic Publishers, P 548.
- **Breithaupt-Grogler K., Ling M., Boudoulas H., Belz GG.** (1997). Protective effect of chronic garlic intake on elastic properties of aorta in the elderly. *Circulation*, 96, 2649-55.
- **Bruneton J.** (1999). *Pharmacognose, Phytochimie, Plantes médicinales*. 3ème édition. Paris: Techniques et documentations, P 227-494.
- **Bruneton Jean.** (2009). *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales*. 4ème édition. Paris: Lavoisier (TEC & DOC), P 240-241-243-244. ISBN : 978-2-7430-1188-8.
- **Cantwell M.** (2000). Alliin in Garlic. *Perishables Handling Quarterly*, 102, 5-6.
- **Carole B-Morin.** (2008). *La Phytothérapie pour les animaux*. France: Editions Le Manuscrit, P17-37. ISBN: 978-2-304-00885-2.
- **Chantal Baudry., Huguette Brézellec.** (2006). *Microbiologie, immunologie : Cahiers du préparateur en pharmacie*. 2ème édition. France: Wolters Kluwer France, P 54-55-56. (Prophyre Collection). ISSN: ISBN: 2-915585-26-1
- **ChérifaBoubekri.** (2014). Etude de l'activité antioxydante des polyphénols extraits de *Solanum melongena* par des techniques électrochimiques. thèse de Doctorat en science. Biskra: Université Mohamed Khider, Biskra, P 106.

- **Christian Perronne.**(1999). *Maladies infectieuses, Volume 1, Inter méd.* France: Wolters Kluwer France, P 65-67. ISBN:2-7040-1045-5
- **Cowan M.M.** (1999). Plant Products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews*, 12 (4), 564-582.
- **Cuendet M.** (1999). Recherche de nouveaux composés capteurs de radicaux libres et antioxydants à partir d'une plante d'Indonésie : « *Fagraeablumei* » (Loganiaceae) et de trois plantes d'altitude : « *Bartsiaalpina* » (Scrophulariaceae), « *Loiseleuriaprocumbens* » (Ericaceae) et Camp. Thèse de Doctorat, P 24.
- **Danielle Roux., Odile Catier.** (2007). Botanique, pharmacognosie, phytothérapie Cahiers du préparateur en pharmacie. 3ème édition. France: Wolters Kluwer, P 13-112. ISBN: 978-2-915585-52-0
- **Dellarras Camille.** (2010). Surveillance sanitaire et microbiologique des eaux. 2<sup>ème</sup> Edition. Paris : Lavoisier, P 90. ISBN : 978-2-7430-1211-3.
- **Delmas Catherine.** (2013). Fiche technique Bactériologie : *Raoultella ornithinolytica* [en ligne]. Laboratoire de Bactériologie Hygiène, CHU de Toulouse - Institut Fédératif de Biologie. Toulouse: Association déclarée à la Préfecture de la Haute-Garonne, P 01. Disponible sur: <http://www.ctcb.com/documentation/Fiches%20techniques/Raoultella%20ornithinolytica%20%28Edition%202013%29.pdf> ( consulté le: 25.04.2015)
- **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.
- **Djamal Abdoul AkhadNdaw.** (1998). Activité bactéricide in vitro de différentes molécules d'antibiotiques sur des souches bactériennes d'origine hospitalière. Thèse de Doctorat en pharmacie. Dakar : Université Cheikh antadiop de dakar, P19.
- **Djenadi Fouzia.** (2011). Contribution à l'étude de l'activité antimicrobienne du genévrier (*Juniperus phoenicea*): essai des huiles essentielles et composés phénoliques [en ligne]. Mémoire de Master en Biochimie Appliquée. Béjaia : Université A Mira. Disponible sur : [http://www.memoireonline.com/01/13/6764/m\\_Contribution--l-etude-de-l-activite-antimicrobienne-du-genevrierJuniperus-phoenicea--essai-d4.html](http://www.memoireonline.com/01/13/6764/m_Contribution--l-etude-de-l-activite-antimicrobienne-du-genevrierJuniperus-phoenicea--essai-d4.html) (consulté le : 20.02.2015)

- **Dohou N., Yamni K., Tahrouch S.** (2003). Screening phytochimique d'une endémique ibéro-Marocaine, Thymelaealythroïdes. *Bull Soc Pharm. Bordeaux*, 142, 61-78.
- **E. A. O'Gara., D. J. Hill., D. J. Maslin.** (2000). Activities of Garlic Oil, Garlic Powder, and Their Diallyl Constituents against *Helicobacter pylori*. *Appl Environ Microbiol*, 66(5), 2269–2273.
- **Edeoga1 H.O., Okwu D. E., Mbaebie B.O.** (2005). Phytochemical constituents of some Nigerian medicinal plants. *AfricanJournal of Biotechnology*, 4 (7), 685-68.
- **Eidi A., Eidi M., Esmaeili E.** (2006). Antidiabetic effect of garlic (*Allium sativum L*) in normal and streptozotocin-induced diabetic rats. *Phytomedicine*, 13, 624-9.
- **Eric Dromigny.** (2012). Les critères microbiologiques des denrées alimentaires: Réglementation. Paris: Lavoisier, P 206. ISBN: 978-2-7430-1397-4.
- **Essawi T., Srour M.** (2000). Screening of some Palestinian medicinal plants for antibacterial activity. *J. Ethnopharmacol*, 70, 343-349.
- **Falleh H., Ksouri R., Chaieb K., Karray-Bouraoui N., Trabelsi N., Boulaaba M., Abdely C.** (2008). Phenolic composition of *Cynaracardunculus L.* organs, and their biological activities. *C. R. Biologies*, 331, 372-379.
- **FatmaKallel., DorraDriss., FatmaChaari., Lilia Belghith., FatmaBouaziz., RaoudhaGhorbel., SemiaEllouzChaabouni.** (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.2014.07.047>
- **Feldberg R.S., Chang S.C., Kotik A.N., Nadler M., Neuwirth Z., Sundstrom D.C., Thompson N.H.** (1988). In vitro mechanism of inhibition of bacterial cell growth by allicin. *Antimicrob Agents Chemother*, 32, 1763–1768.
- **Florine Boukhobza., Paul Goetz.** (2014). Phytothérapie en odontologie. *Editions CdP*. France: Initiatives santé, P 06. ISBN: 978-2-84361-244-2.
- **François Denis., Edouard Bingen., Christian Martin., Marie-Cécile Ploy., Roland Quentin.** (2007). Bactériologie médicale, Technique usuelles. 2ème édition. Paris : Elsevier Masson, P 13-331-332-372-374. ISBN :978-2-294-09668-6.
- **François NsemiMuanda.** (2010). Identification de polyphénols, évaluation de leur activité antioxydante et étude de leurs propriétés biologiques [en ligne]. Thèse de Doctorat. Université Paul Verlaine-Metz, P 54. Disponible sur : <http://docnum.univ->

[lorraine.fr/public/UPVM/Theses/2010/Muanda.Francois.Nsemi.SMZ1011.pdf](http://lorraine.fr/public/UPVM/Theses/2010/Muanda.Francois.Nsemi.SMZ1011.pdf)(consulter le 04.03.2015)

- **Garcia-Ruiz A., Bartolomé B., Martinez-Rodriguez A.J., Pueyo E., Martin-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.** Le préparateur en pharmacie - Guide théorique et pratique. 2ème édition. Paris : Lavoisier, P1255. ISBN978-2-7430-1371-4.
- **GHESTEM A., SEGUIN E., PARIS M., ORECCHIONI A.M.** (2001). Le préparateur en pharmacie dossier 2ème Ed TEC&DOC. Paris, P 275. (Cited in DjemaiZoueglache S, 2008).
- **Gomez-caravaca A.M., Gomez-romero M., Arraez-roman D., Segura-carretero A., Fernandez-gutierrez A.** (2006). Advances in the analysis of phenolic compounds in products derived from bees. *J. Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 41, 1220-1234.
- **Gonzalez A.G., Estevez-Braun A.** (1997). Coumarins. *Nat. Prod. Reprod*, 14 : 465-475.
- **GoumniZahira., Salhi Asma.** (2013). Evaluation de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle extrait de la plante *Laurus nobilis* L. Mémoire de Master en Biotechnologie végétale. Ouargla: Université Kasdi Merbah, Ouargla, P 13-24.
- **Griffiths G., Trueman L., Crowther T., Thomas B., & Smith B.** (2002). Onions - a global benefit to health-. *Phytotherapy Research*, 16, 603-615.
- **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
- **Gutteridge J., Quinlan G.** (1993). Antioxidant proection against organic and inorganic oxygen radicals by normal human plasma: the important primary role for iron-binding and iron-oxidising proteins. *Biochem Biophys Acta*, 20(3), 24854.
- **HamidiAbdelrazag.** (2013). Etude phytochimique et activité biologique de la plante *limoniastrumguyonianum*. Mémoire de Magister. Ouargla : université kasdimerbah, P 86.
- **Hamza T.** (1993). Introduction à la biologie moderne. Berti Editions.
- **HanenNajjaa., Sami Zouari., Ingrid Arnault., Jacques Auger., Emna Ammar et Mohamed Neffati.** (2011). Différences et similitudes des métabolites

- secondaires chez deux espèces du genre *Allium*, *Allium roseum*L. et *Allium ampeloprasum*L. *Acta Bot. Gallica*, 158 (1), 111-123.
- **Harborne J.B.** (1989). Recent advances in chemical ecology. *Natural Product Report*, 25 ( 7), 85-109.
  - **Harborne J.B.** (1998). Phytochemical methods. A guide to modern techniques of plants analysis. Third Edition. London : Thomson Science. ISBN: 0-412-57260-5 (HB) and 0-412-57270-2 (PB).
  - **Hemingway R.W.** (1992). Structural variation in proanthocyanidins and their derivatives. In: Lplant polyphenols: synthesis, proprieties, significande . Plenum Press, New York. P 83-107.ISBN : 978-1-4684-7513-5.
  - **J. C Harris., S. L Cottrell., S Plummer ., D Lloyd.** (2001). Antimicrobial properties of *Allium sativum* (garlic) Mini-Review. *ApplMicrobiolBiotechnol*, 57, 282–286. DOI : 10.1007/s002530100722
  - **James R Miller M.D.,Francisco Talavera., John W.King M.D., Burke A. Cunha.M.D.**(2014). Morganella Infections ClinicalPresentation.Medscape Drug &Diseases [en ligne].Disponible sur : [http://emedicine.med\\_scape.com/article/222443-overview](http://emedicine.med_scape.com/article/222443-overview) (consulté le 23.03.2015)
  - **JuddCampbell., Kellogg., Stevens.** (2002). Botanique systématique une perspective phylogénétique. 1ère édition.Paris,Bruxelles: De BoeckUniversité, P84.
  - **Jung Severing.** (2005). Apport des drogues végétales dans la prévention des maladies Cardiovasculaires liées à L'hypercholestérolémie [en ligne]. Thèse de Doctorat en pharmacie. NANCY : Université Henri Poincare, P 21. Disponible sur : [http://docnum.univ-lorraine.fr/public/SCDPHA\\_T\\_2005\\_JUNG\\_SEVERINE.pdf](http://docnum.univ-lorraine.fr/public/SCDPHA_T_2005_JUNG_SEVERINE.pdf) (consulté le 05.04.2015)
  - **Jürgen R., Paul S., Ulrike S., and Reinhard S.**(2009). Essential Oils of Aromatic Plants with Antibacterial,Antifungal, Antiviral, and Cytotoxic Properties an-overview. *ForschKomplementmed*,16 , 79–90.DOI:10.1159/000207196
  - **Kannar D., Wattanapen paiboon N., Savige GS., Wahlqvist ML.** (2001). Hypocholesterolemic effect on an enteric-coated garlic supplement. *J Am Coll Nutr*, 20, 225-31.
  - **KanounKhadidja.** (2011). Contribution à l'étude phytochimique et activité antioxydante des extraits de *Myrtuscommunis*L. (Rayhane) de la région de Tlemcen (Honaine) [En ligne].Mémoire de Magister en Biologie. Tlemcen: Université



AboubakrBelkaid, Tlemcen, P 41. Disponible sur: <http://dSPACE.univ-tlemcen.dz/bitstream/112/268/1/Contribution-a-letude-phytochimique-et-activite-antioxydante-des-extraits-de-Myrtus-communis-L.%28Rayhane%29de-la-region-de-Tlemcen%28Honaine%29.pdf>(consulté le 14.03.2015).

- **Kansole M.M.R.** (2009). Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de quelques lamiaceae du Burkina Faso: cas de *Leucasmartinicansis* (Jacquin) R. Brown, *Hoslundia opposstavahlet Orthosiphon pallidus royle ex benth.* Mémoire pour obtenir un Diplôme d'Etudes Approfondies (D.E.A) en Sciences Biologiques Appliquées, Burkina Faso.
- **Karumi Y., Onyeyili P.A., Ogunbuaja V.O.** (2004). Identification of active principles of *M. balsamina* (balsam Apple) leaf extract. *J. Med. Sci*, 4(3), 179-182.
- **Krief Sabrina.**(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 : <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-00006170/document>(consulté le 15.03.2015).
- **Lacoste Sophie.** (2014). Ma bible de la phytothérapie: Le guide de référence pour se soigner avec les plantes. Quotidien Malin/ Leduc.s, P 32. ISBN: 979-10-285-0508-0.
- **Lahlah Fatima Zohra.** (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 appliquée. Constantine: Université de Mentouri Constantine, P40.
- **Lalaina H., Tsirinirindravo., Blandine Andrianarisoa.**(2009). Activités antibactériennes de l'extrait des feuilles de *Dalechampia clematidifolia* (Euphorbiaceae). International Journal of Biological and Chemical Sciences. Int. J. Biol. Chem. Sci. 3(5), 1198-1202. ISSN 1991-8631.
- **Lansing M., Prescott John., Harley Donald A. Klein.**(2003). Microbiologie. 2ème Edition. Bruxelles : Boeck. P 104-811-818-819.
- **Lee K. W., Kim Y. J., Lee H. J. et Lee C. Y.** (2003). Cocoa Has More Phenolic Phytochemicals and a Higher Antioxidant Capacity than Teas and Red Wine. *J. Agric. Food Chem*, 51, 7292-7295.

- **Li H.B., Cheng K W., Wong C.C., Fan K W, Chen F., Jiang Y.** (2007). Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fractions of selected microalgae. *Food Chemistry*, 102, 771-776.
- **Liang-Liang Zhang., Yi-Ming Lin., Hai-Chao Zhou ., Shu-Dong Wei and Jia-Hong Chen.** (2010). Condensed Tannins from Mangrove Species *Kandeliacandeland Rhizophora mangle* and Their Antioxidant Activity. *Molecules*, 15,420-431. ISSN 1420-3049.
- **Lionel Germosén-Robineau., Tramil.** (1999). *Pharmacopée caribéenne*. France: Emile Désormeaux, P 45. ISBN:2-85275.026.0.
- **Majewski Michal.** (2014). *Allium sativum*: facts and myths regarding human health. *RoczPanstwZaklHig*, 65(1), 1-8
- **MangambuMokoso Jean de Dieu., MushagalusaKasali Félicien., KadimaNtokamunda Justin.** (2014). Contribution à l'étude phytochimique de quelques plantes médicinales antidiabétiques de la ville de Bukavu et ses environs (Sud-Kivu, R.D.Congo). *Journal of Applied Biosciences*,75, 6211– 6220. ISSN : 1997–5902
- **Marfak A.**(2003). Radiolyse gamma des flavonoïdes. Etude de leur réactivité avec les radicaux issus des alcools : formation des depsides. Thèse de Doctorat. Université de Limoges, P 24.
- **Marta Corzo-Martinez., NievesCorzo., Mar Villamiel.** (2007). Biological properties of onions and garlic Review. *Trends in Food Science &Technology*, 18, 609-625. DOI:10.1016/j.tifs.2007.07.011
- **Matsuura H.** (2001). Saponins in garlic as modifiers in the risque of cardiovascular. *Journal of Nutrition*, 131, 1000-1005.
- **Mbojndeye., Awa.** (2003). Etude de l'activité antidiabétique des extraits acétoniques, méthanoliques et hexanique de *vernonia colorata* (willd/drake composées chez des rats wistar).thèse de Doctorat en pharmacie. Dakar: Université Cheikh AntaDiop, Dakar, P 61.
- **Meddleton E., Kardasnam J.C.** (1993).The flavonoids Advances. In: research since 1986. London: J B Harborne, Chapman and Hall, P 617.
- **Medic–Saric M., Jasprica I., SmolicBubaloA., Momar A.** (2003).Optimization of chromatographic conditions in Thin Layer Chromatography of Flavonoids and Phenolic Acids. *CroaticaChemicaActa*, 77 (1-2), 361-366.

- **Mendham J Denney., Barnes., Thomas.** (2006).Analyse chimique quantitative de Vogel. 3èmeEditions. Bruxelles : Boeck &Larcier, P 273.
- **Milane Hadi.** (2004). Quercétine et ses dérivés:molécules à caractère pro-oxydant ou capteurs de radicaux libres, études et applications thérapeutiques [en ligne]. Thèse de Doctorat en sciences. Strasbourg: Université Louis Pasteur, Strasbourg, P 23. Disponible sur: <http://scd-theses.u-strasbg.fr/831/01/Milane2004.pdf> (consulté le 02.02.2015).
- **MoselioSchaechter., Gerald Medoff., Barry I. Eisenstein.**(1999). *Microbiologie et pathologie infectieuse*. Paris, Bruxelles: De Boeck Supérieur, P 87. ISBN:2-8041-1592-5
- **Najjaa H., Zerria K., Fattouch S., Ammar E., &Neffati M.** (2011). 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.
- **Nauciel C.** (2000).Bactériologie médicale : Technique usuelles. Paris : Masson, P 276.
- **Nauciel C., Vildé J.L.** (2005).Bactériologie médicale.2ème édition. Paris : Masson, P 10. ISBN : 2-294-01858-3.
- **Okmu D.E.** (2005). Phytochemicals, vitamins and mineral contents of two Nigerian medicinal plants. *Int J Mol AdvSci*, 1 (14), 375-381.
- **P.Berche., S. Kayal., X.Nassif., C.Poyart .** (2002-2003). *Bactériologie systématique D.C.E.M 1 [en ligne]*, P 12-75. Disponible sur:<http://pharmacie.e-monsite.com/medias/files/bacteriologie-systemique.pdf> (consulté le 10.03.2015)
- **P.Bustany., P.D Chaumet-Riffaud.** (1993). *Internat, nouveau programme. Tome 17: Pharmacologie*. France: Editions Beauchesne, P67. ISBN:2-85385-138-1
- **Patrick Berche., Jean-Louis Gaillard., Michel Simonet.** (1999). *Bactériologie:bactéries des infections humaines*.Flammarion médecine-sciences. (Collection de la biologie à la clinique, volume 5). ISSN 0763-4374
- **Paul G., Engelkirk Janet L., Duben-Engelkirk.** (2008). *Laboratory Diagnosis of Infectious Diseases: Essentials of Diagnostic microbiology*. France: Wolters Kluwer, P 312.
- **Paul Singleton.** (2005). *Bactériologie (pour la médecine, la biologie et les biotechnologies)*. 6ème édition. Paris: Dunod, P 455-464-465-515-517. ISBN : 2100488732.

- **Paul.Goetz., KamelGhédira.**(2012). *Phytothérapie anti-infectieuse*.Paris: Springer Science & Business Media,P 210-212-213-216-217. ISBN: 978-2-8178-0057-8.
- **Pedraza-Chaverri J., Perla D., Medina-Campos ON., Lambardo R., Berenice A., Zunika-Bustos A.B., Orosco-Ibara M.** (2005). Reactive oxygen species scavenging capacity of different cooked garlic preparations. *Life Sciences*, 78,761-77.
- **Pedraza-Chaverri J., Perla D.Medina-Campos ON., FrankaIvonne M., Olivares C., Granados-Silvestre M.L., Ibara-Rubio M.E.** (2000).Garlic ameriolates Gentamycin Nephrotoxicity: Relation to antioxydant Enzymes. *Free Radical Biology & Medicine*,29, 602-611.
- **Pierre et Marie Curie.** (2002-2003). *Bactériologie DCEM1[en ligne]*. Paris: CHU-Pitié Salpêtrière, P 29-30-31-61-69-72. Disponible sur:[http:// www.chups.jussieu.fr/polys/bacterio/bacterio/bacterio.pdf](http://www.chups.jussieu.fr/polys/bacterio/bacterio/bacterio.pdf) (Consulté le 08.04.2015)
- **Podsedek A.** (2007).Natural antioxidants and antioxidant capacity of Brassica vegetables: A review. *LWT*, 40, 1-11.
- **Publications de l'institut français du pétrole.** (1971). Méthodes rapides d'analyse des huiles usagées. Editions : TECHNIP, P 28.
- **Rahal K., Benslimani A., Tali-Maamar H., Missoum M.F.K., Kechih-Bounar S., Ammari H.** (2011). Standardisation de l'antibiogramme en médecine vétérinaires à l'échelle nationale.6 èmeEditions, P 25-26.
- **Rahman K.** (2001).Historical Perspective on Garlic and Cardiovascular Disease. *J Nutr*,131, 977S-979S.
- **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.
- **S.G Santhosha., Prakash Jamuna., S.N Prabhavathi.**(2013). Bioactive components of garlic and their physiological role in health maintenance:A review. *Food Bioscience*, 3, 59–74. DOI : <http://dx.doi.org/10.1016/j.fbio.2013.07.001>

- **Saida MedjeldiMarzougui.** (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.
- **Salima Feddal.** (1992). Travaux dirigés et travaux pratiques de Biochimie. Alger: office des publications universitaire, P 28.
- **Scalbert A.** (1991). Antibacterial properties of tannins. *Phytochemistry*, 30, 3875-3883.
- **Seladji Sidi-Mohamed Chahr-Eddine.** (2013). Etude phytochimique et activités biologiques ( antioxydante et antimicrobienne) des composés phénoliques 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.
- **Selma Dziri., Imed Hassen., Saloua Fatnassi., Yassine Mrabet., Herve' Casabianca., Belgacem Hanchi., Karim Hosni.** (2012). Phenolic constituents, antioxidant and antimicrobial activities of rosy garlic (*Allium roseum* var. *odoratissimum*). *Journal of Functional Foods* , 4, 423 – 432.
- **Serge Ankri., David Mirelman.** Antimicrobial properties of allicin from garlic Review. *Microbes and Infection*, 1999, 2:125–129.
- **Seyoum A., Asres K., El-Fiky F.K.** (2006). Structure– radical scavenging activity relationships of flavonoids. *Phytochemistry*, 67, 2058–2070.
- **Sofiane Bekkai., Sofiane Mazouzi.** (2011). Contribution à l'étude phytochimique et biochimique d'un extrait d'ail (*Allium sativum*) chez le lapin hyperthyroïdien [en ligne]. Mémoire de Master en Biochimie Appliqué. Annaba : Université Badji Mokhtar, Annaba, P42. Disponible sur : <http://www.memoireonline.com/02/12/5370/Contribution--l-etude-phytochimique-et-biologique-des-deux-extraits-dail-allium-sativum-chez.html> (consulté le 03.05.2015)
- **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.
- **Stanier R.Y., Doudoroff M., Adelberg ED. A.** (1966). Microbiologie Générale. Masson et Cie Editeurs.
- **Svoboda K., Svoboda T.** (2000). Secretory structures of aromatic and medicinal plants. Ed: Microscopix publications, P 7-12.

- **Toty A. A., Guessennd N., Bahi C., Kra A. M., Otokore D. A., Dosso M.** (2013). Évaluation *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, 12 – 21.
- **TouafekOuassila.** (2010). Etude phytochimique de plantes médicinales du nord et du sud algériens [en ligne]. Thèse du doctorat. Constantine : Université MENTOURI. P19-20-21. Disponible sur : <http://bu.umc.edu.dz/theses/chimie/TOU5847.pdf> (consulter le 03.03.2015)
- **Tsao S.M., Hsu C.C., Yin M.C.** (2003). Garlic extract and two diallylsulphides inhibits methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection in BALB/cA mice. *Journal of AntimicrobialChemotherapy*, 52, 974–980.
- **Vermerris W.** (2006). Phenolic compound biochemistry. Springer, Dordrecht.. ISBN-10 1-4020-5163-8 (HB).
- **Victoria PulianMorais., MatildeTrigoDaporta., Alberto Fernandez Bao., and Marta Garcia Campello.** (2009). Enteric Fever-Like Syndrome Caused by *Raoultella ornithinolytica* (*Klebsiella ornithinolytica*). *Journal of Clinical Microbiology*, 47(3), 868-869. DOI: [10.1128/JCM.01709-08](https://doi.org/10.1128/JCM.01709-08)
- **Vuorela S.** (2005). Analysis, isolation, and bioactivities of rapeseed phenolics. Helsinki.
- **Wallace R.J.** (2004). Antimicrobial properties of plant secondary metabolites. *Proceedings of Nutrition Society*, 63, 621–629.
- **Ward K.T Augusti., P. T Mathew.** (1974). Lipid lowering effect of allicin (diallyldisulphide-oxide) on long term feeding to normal rats. *Experientia* , 30(5), 468-470. DOI: [10.1007/BF01926297](https://doi.org/10.1007/BF01926297).
- **Wong J.G; Anderson R.A; Graham G.M; Chum.C; Sauer M.V; GuarnacciaM.M ; Lobo R.A.** (2006). The effect of cinnamon extract on insulin resistance parameters in polycystic ovary syndrome: a pilot study. *FertilSteril* 12, 12.
- **YakhlefGhania.** (2010). Etude de l'activité biologique des extraits. Mémoire de Magister en Biochimie Appliqué . Batna: Université El Hadj Lakhdar, Batna, P 40-54-56.
- **Yi Z.-B., Yu Y., Liang Y.Z., Zeng B.** (2007). In vitro antioxidant and antimicrobial activities of the extract of *PericarpiumCitriReticulatae* of a new

Citrus cultivar and its main flavonoids, LWT-Food Science and Technology, 4, 1000-1016.

- **Yves mouton., Edward Bingen., Yves Deboscker., Luc Dubreuil.**(2000). *Antibiotiques, antiviraux, anti-infectieux*. Paris: John Libbey Eurotex, P 52. ISBN:2-7420-0308-8
- **ZhouW.** (2003).Acute lymphangitis treated by moxibustion with garlic in 118 cases. Journal of Traditional Clinical Medicine, 23, 198.

### Site web

1. Comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie. [En ligne]. Disponible sur: [http://www.sfm-microbiologie.org/UserFiles/files/casfm\\_2010.pdf](http://www.sfm-microbiologie.org/UserFiles/files/casfm_2010.pdf) (Consulté le 05.04.2015).
2. Fotolia. (2009). Tresse d'ail [en ligne]. *Photo*. Disponible sur : <http://fr.fotolia.com/id/10083766> (Consulté le 14.03.2015).
3. Le réseau des botanistes francophones. (2000-2009). Base de donnée nomenclaturales de la Flore de France par Benoît Bock. Tela-botanica, le réseau des botanistes francophones[En ligne]. Disponible sur: <http://www.tela-botanica.org/eflore/BDNFF/4.02/nn/3195/export/pdf> (consulté le 03.03.2015).
4. Lessico. Aglio e Cipolla. [en ligne]. Disponible sur : <http://www.summagallicana.it/lessico/a/aglio%20e%20cipolla.htm> (consulté le 24.03.2015).
5. 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 15.02.2015).
6. Oregon State University. *Garlic, Commercial Vegetable Production Guide* [En ligne]. (2004). Disponible sur : <http://hort-develnwrec.hort.oregonstate.edu/ailic.html> (consulté le 15.02.2015).
7. 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 15.02.2015).
8. Travaux personnels encadrés (2010-2011). Pénicilline et résistance bactérienne [en ligne]. Disponible sur : <http://tperesistpenicilline.doomby.com/pages/experiences/antibiogramme-definir-et-realiser-un-antibiogramme.html> (consulté le 24.04.2015).

9. WHO Media centre. (2002). Résistance aux Antimicrobiens. Aide-mémoire N°194. OMS/Genève [en ligne]. Disponible sur : <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs200/fr/> (consulté le 02.05.2015).
10. Wikimedia Fondation. (2010). Wikipédia – L’encyclopédie libre. *Ail cultivé* [en ligne]. Disponible sur: [http://fr.wikipedia.org/wiki/Ail\\_cultiv%C3%A9](http://fr.wikipedia.org/wiki/Ail_cultiv%C3%A9) (Consulté le 20.2.2015).
11. WIKIPEDIA – The Free Encyclopedia. *Garlic* [en ligne]. Disponible sur: <http://en.wikipedia.org/wiki/Garlic> (Consulté le 20.03.2015).



# Annexes

---

## Annexe 1

### 1.1 Matériel screening phytochimique

#### 1.1.1 Les produits Chimique et les réactifs

- Méthanol, éther de pétrole, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, FeCl<sub>3</sub>, HCl, NH<sub>4</sub>OH, Ethanol, la soude, CHCl<sub>3</sub>
- Réactif de Folin, Réactif de Mayer, Réactif de Stiasny, Carbonate de sodium, acide gallique, AlCl<sub>3</sub>, Quercétine, acide ascorbique,
- Acétate d'éthyle, eau distillée, ninhydrine.

#### 1.1.2 Les équipements

- Rotavapor R-215 (Büchi).
- Lyophilisateur (ALPHA 1-2 LD plus)
- Spectrophotomètre (JENWAY 6305)
- Cuve de chromatographie.
- Balance (BB310) et (Sartorius)
- balance de précision (Explorer® Pro)
- Verrerie.
- Agitateur Vortex (snijders 34524)

### 1.2 Matériel bactériologique

#### 1.2.1 Produit utilisés

Méthanol, L'eau physiologique.

Gélose Nutritive, Gélose de Mueller Hinton, Gélose Chapman, Bouillant nutritif.

#### 1.2.2 Les équipements:

Autoclave

Four Pasteur

Etuve

Verrerie

Réfrigérateur

## Annexe 2

### 2.1 Milieux de cultures 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.....	1000 ml

- **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 20 min à 120°C.

#### 2.1.3 Gélose Mueller Hinton

- **Composition**

- Infusion de viande de bœuf.....	4g
- Hydrolysat acide de caséine.....	17,5g
- Amidon de Maïs.....	1,5g
- Agar.....	12g

- **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**

- Peptone .....	10g
- 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 sodium.....	9g
- Eau distillé.....	1000g

- **Préparation**

Après dissolution de Chlorure de sodium dans l'eau distillée, ajuster le pH à 7 et stériliser à l'autoclave à 121°C pendant 30mn.

### 2.4 Préparation de la solution 0.5 Mac Farland

- **Composition**

-BaCl <sub>2</sub> déshydraté à 1% .....	0.5ml
-H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> à 1%.....	99.5ml

- **Préparation**

Mélanger 1% d'une solution de BaCl<sub>2</sub> avec 1% de l'acide sulfurique (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)

**-Solution de BaCl<sub>2</sub> à 1%**

Dissoudre 1g de BaCl<sub>2</sub> dans 100ml d'eau distillée

**-Solution d' H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> à 1%**

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





## Résumé

Les échecs thérapeutiques et les coûts de plus en plus élevés des traitements des infections dues aux bactéries résistantes appellent à trouver d'autres alternatives de soins. Ce travail a été initié dans le but d'évaluer l'activité antibactérienne de l'extrait méthanolique de l'ail (*Allium sativum L*) sur des souches isolées de patients.

L'analyse phytochimique sur le matériel végétal broyé a permis de mettre en évidence la présence des métabolites secondaires : les saponosides, les alcaloïdes, les tanins, les flavonoïdes, les stérols et terpènes ainsi que l'alliine qui est le précurseur de l'allicine par chromatographie sur couche mince.

L'extrait méthanolique a été obtenu par macération en utilisant le système solvant méthanol/eau. Cette extraction a permis d'obtenir un rendement de 08,47%.

Quantitativement, l'évaluation du contenu des polyphénols totaux en adoptant la méthode de Folin-Ciocalteu révèle la présence des quantités moyennement importantes en polyphénols. De même, les flavonoïdes ont été dosés par la méthode d' $AlCl_3$  ce qui nous mène à conclure que cette plante contient une quantité considérable de flavonoïdes.

Les méthodes de la diffusion en milieu gélosé et en milieu liquide ont été utilisées pour tester l'activité antibactérienne de l'extrait méthanolique et la détermination de la CMI et de la CMB. Les différents tests ont été effectués sur sept souches dont deux sont des souches de référence. Les concentrations minimales inhibitrices de l'extrait varient entre 1/8 et 1/2 et les concentrations minimales bactéricides entre 1/4 et 3/2. La plus faible valeur de CMI et de CMB a été observée avec *S. aureus* tandis que la plus grande valeur de ces mêmes paramètres a été obtenue sur *E.coli*. Cet extrait a exercé une activité bactéricide sur la plupart des souches testées à l'exception *Morganella morganii*. Ceci pourrait justifier l'utilisation d'*Allium sativum* dans le traitement de diverses infections.

**Mots clés :** *Allium sativum L*, activité antimicrobienne, Allicine, l'extrait méthanolique, Alliine.

## Abstract

Treatment failures and costs of higher and higher treatment of infections due to resistant bacteria induced to find other alternative treatments. This study was initiated to evaluate the antibacterial activity of the methanol extract of garlic (*Allium sativum L*) on bacterial strains isolated from patients.

Phytochemical analysis of the crushed plant material has allowed to highlight the presence of secondary metabolites: the saponins, alkaloids, tannins, flavonoids, sterols and terpenes and alliin which is the precursor of Allicin by thin layer chromatography.

The methanolic extract was obtained by maceration using methanol / water solvent system. This extraction enables a yield of 08.47%.

Quantitatively, evaluating the content of total polyphenols by adopting the Folin-Ciocalteu method reveals the presence of medium amounts of polyphenols. Similarly, flavonoids were determined by the method of  $AlCl_3$  which leads us to conclude that this plant contains a considerable amount of flavonoids.

The methods of disk diffusion and liquid medium were used for testing the antibacterial effect of methanolic extract and the determination of the MIC and MBC respectively. The different tests were performed on seven strains which two are reference strains. The minimum inhibitory concentrations of the extract varied between 1/8 and 1/2 and the minimum bactericidal concentrations are between 1/4 and 3/2. The lower value of MIC and MBC was observed with *S. aureus* while the greatest value of these parameters was obtained on *E. coli*. This extract exerted a bactericidal activity against the most bacterial strains except *Morganella morganii*. This might justify the use of *Allium sativum* in the treatment of various infections.

**Keywords:** *Allium sativum L*, antimicrobial activity, Allicin, the methanol extract, Alliine.

## المخلص

فشل وتكاليف العلاج العالية من الالتهابات الناجمة عن البكتيريا المقاومة ادى إلى البحث عن علاجات بديلة أخرى. انجز هذا العمل من اجل تقييم النشاط المضاد للجراثيم باستعمال المستخلص الميثانولي للثوم (*Allium sativum L*) على السلالات البكتيرية المعزولة من المرضى.

اظهر التحليل الكيميائي النباتي على المادة النباتية المسحوقة وجود المركبات الثانوية: الصابونين، قلويدات، التانينات، الفلافونيدات والترابين وايضا الأليين الذي هو مصدر الأليسين بواسطة التحليل الكروماتوغرافي على الطبقة الرقيقة.

تم الحصول على المستخلص الميثانولي بالنقع في النظام المذيب ميثانول / ماء. هذا الاستخلاص مكننا من الحصول على عائد يقدر ب 08.47%. التقييم الكمي لمحتوى البوليفينول الكلي من خلال اعتماد طريقة الفولين كشف عن وجود كمية متوسطة من مادة البوليفينول. وبالمثل، تم تحديد فلافونيدات من خلال طريقة ثلاثي كلوريد الألمنيوم وهو ما يقودنا إلى استنتاج أن هذا النبات يحتوي على كمية معتبرة من الفلافونيد.

وقد تم استعمال طريقة الانتشار في وسط جيلوزي وطريقة التخفيف في وسط سائل من اجل اختبار القدرة المضادة للنشاط البكتيري للمستخلص الميثانولي وايضا تحديد الحد الأدنى للتركيز المثبط (CMI) و الحد الأدنى للتركيز المبيد للجراثيم (CMB) لسبعة أنواع من البكتيريا من ضمنهم نوعين من البكتيريا المرجعية. تركيزات الحد الأدنى للتركيز المثبط للمستخلص تتراوح ما بين 8/1 و 2/1 أما تركيزات الحد الأدنى للتركيز المبيد فهي بين 4/1 و 2/3. وقد لوحظ انخفاض قيمة CMI و CMB مع *S.aureus* في حين تم الحصول على أكبر قيمة من هذه الثوابت مع *E.coli*. هذا المستخلص مارس نشاطا مبيدا على معظم الجراثيم باستثناء *M.morganii* ، ما قد يبرر استخدام الثوم

(*Allium sativum*) في علاج الالتهابات المختلفة.

**كلمات المفتاح :** *Allium sativum*، النشاط المضاد للبكتيريا، الأليسين، المستخلص الميثانولي، الأليين.

