

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

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 SCIENCES DE LA TERRE ET
DE L'UNIVERS
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



Mémoire de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Biologie

Spécialité/Option : Biologie moléculaire des procaryotes

Thème : Contribution à l'étude de l'activité antibactérienne de l'ail

(Allium sativum L)

Présenté par :

Bacar Elia

Meskine Hanane

Devant le jury composé de :

Présidente	: M ^{me} Merabet R	M.A.A	Université de Guelma
Examinatrice	: M ^{elle} Hamdikhane M	M.A.A	Université de Guelma
Encadreur	: M ^{me} Ayad H	M.A.A	Université de Guelma

Juin 2014

REMERCIEMENTS

Nos sincères remerciements vont en premier lieu à **Dieu**, le tout puissant, le tout miséricordieux, pour nous avoir guidés vers la connaissance et le savoir, par sa grâce on a réussi à mener à bien ce travail.

Nous adressons nos sincères remerciements et notre gratitude la plus profonde à tous ceux qui nous ont aidés à l'accomplissement de ce Travail. En particulier :

On remercie vivement l'ensemble des membres du jury :

Madame **Merabet Rym** qui nous a fait l'honneur de présider le jury de soutenance.

Madame **Hamdikhane M** pour l'intérêt qu'elle a accordé à ce travail en acceptant de l'évaluer. Qu'elles trouvent ici le témoignage de notre respectueuse gratitude.

A madame **Khadri Sihem**, madame **Benalli Samira**, madame **Bouacha Mabrouka**, madame **Tarfa Souad** et **Tabet Mouna** pour leurs aides précieuses et leurs disponibilités

À Madame **Ayad Hayat**, pour la confiance qu'elle nous a témoigné en dirigeant ce travail, sa rigueur scientifique, sa qualité humaine, son optimisme, ainsi que ses connaissances, nous ont permis d'avancer sereinement. On vous remercie également pour votre disponibilité, votre patience et vos précieux conseils.

A tous les membres et techniciennes des laboratoires du département de biologie en particulier à madame **Himer Ratiba**, madame **Boughazi Ghania**, madame **Houria** et **Bahia** pour leurs gentillesse et leurs disponibilités permanente.

Une grande pensée est adressée à l'ensemble des enseignants du département de Biologie, qui ont su nous donné une formation honorable durant notre cursus.

Sommaire

SOMMAIRE

Résumé

Liste des abréviations

Liste des Figures

Liste des tableaux

Introduction.....01

Etude Bibliographie

Chapitre I : L'ail (*Allium sativum L*)

I-Description de plante.....02

I.1-Origine de la plante..... 02

I.2-Classification..... 03

II-Aspect botanique.....04

II.1-Facteurs de l'environnement.....06

II.1.1-Les exigences climatiques.....06

II.1.2-Sol, nutrition minérale et alimentation hydrique.....06

III-Composition chimique de l'ail.....07

IV-Utilisations et propriétés.....11

IV.1-Culinaire.....12

IV.2-Pharmacologique.....12

IV.2.1-Propriétés antimicrobiennes.....12

IV.2.2-Propriétés anti oxydantes.....12

IV.2.3-Propriétés anti-inflammatoires.....13

IV.2.4-Propriétés préventives vis-à-vis du cancer.....13

IV.2.5-Inhibition de l'agrégation plaquettaire et propriétés
Antithrombiques.....13

IV.2.6-Propriétés hypocholestérolémiantes, diminution du taux de lipides sanguins et de
l'athérosclérose.....13

IV.2.7-Effet sur la digestion.....	14
IV.2.8-Propriétés hypoglycémiantes.....	14
IV.2.9-Autres propriétés.....	14
V-Eléments actifs des plantes.....	15

Chapitre II : Bactériologie

I-Morphologie et Structure fine des bactéries.....	17
II-Les bactéries étudiées et leurs rôles pathologiques.....	21
II.1-Bactéries à Gram négatifs.....	21
II.1.1-Genre <i>Pseudomonas</i>	21
II.1.2-Famille des Entérobactéries.....	22
II.1.2.1-Genre <i>Escherichia</i>	22
II.2-Bactéries à gram positif.....	22
II.2.1-Genre <i>Staphylococcus</i>	22
III-Mécanismes de défense contre les bactéries.....	23
IV-Les antibiotiques.....	24

Etude expérimentale :

Matériels et méthodes :

I- matériel.....	26
I.1-matériel végétal.....	26
I.2- microorganismes utilisés.....	26
II-méthodes.....	26
II.1-Etude phytochimique de la plante.....	27
II.1.1- test préliminaire de la composition chimique.....	27
II.1.2-Identification de l'alliine par chromatographie sur couche mince (CCM).....	28
II.2-Etude bactériologique.....	30
II.2.1.-Etude des caractères cultureux	30
II.2.1.1-Etude macroscopique.....	30

II.2.1.2-Etude microscopique.....	30
II.2.2-Tests biochimiques	31
II.2.2.1-recherche de la catalase.....	31
II.2.2.2-Recherche de l'oxydase	31
II.2.2.3-Mise en évidence de la production des pigments spécifiques	32
II.3-Préparation des extraits.....	33
II.3.1-Préparation de l'extrait brut (jus de l'ail).....	34
II.3.2-Préparation de l'extrait méthanolique	34
II.3.3-Préparation de l'extrait aqueux.....	34
II.4-Test de sensibilité aux antibiotiques: antibiogramme par la méthode de diffusion ou des disques.....	34
II.4.1-Mode opératoire.....	34
II.5-Etude de l'activité antibactérienne de l'ail(<i>allium sativum L</i>).....	38
II.5.1-Méthode de diffusion en disque : l'aromatogramme.....	38
II.5.1.1-Mode opératoire.....	38
Chapitre IV : résultats et discussions.....	41
Conclusion et perspectives.....	59

Références bibliographiques

Annexes

Listes des figures

Chapitre I: l'ail (*Allium sativum L*)

Figure I.1: la plante d'ail.....	03
Figure I.2: Photographie de l'ail (plante entière) et des fleurs.....	04
Figure I.3 : le bulbe d'ail.....	05
Figure I.4 : l'ail (<i>Allium sativum L</i>).....	05
Figure I.5: Différentes vues et coupes de la structure de l'ail.....	07
Figure I.6 : Composé principal de l'ail coupé.....	08
Figure I.7 : Constituant majeur de l'ail intact.....	09
Figure I.8 : Transformation de l'alliine en allicine et de l'allicine en disulfure d'allyle.....	10
Figure I.9 : Récapitulatif des principales molécules présentes dans l'ail.....	10
Figure I.10 : Différents traitements appliqués à l'ail et produits obtenus.....	11

Chapitre II : Bactériologie

Figure II.1: Morphologie bactérienne.....	18
Figure II.2 : Structure d'une cellule bactérie.....	19
Figure II.3 : Schéma de la paroi des bactéries à gram négatif.....	20
Figure II.4 : Schéma de la paroi des bactéries à gram positif.....	20
Figure II.5 : Cibles de l'action des antibiotiques.....	25

Chapitre III : Matériel et Méthodes

Figure III.1 : Dépôt pour une CCM.....	28
Figure III.2 : cuve de CCM.....	29
Figure III.3 : filtration de l'ail broyé.....	33
Figure III.4 : filtration du résidu additionné à 500ml de méthanol à 85% après 24h de macération et l'extrait obtenu après passage au rota vapeur.....	34
Figure III.5 : technique de l'antibiogramme par la méthode de diffusion ou de disques.....	35
Figure III.6 : schéma simplifié du principe de la méthode de l'aromatogramme.....	38

Figure III.7 : illustration de la méthode des aromatoigrammes sur boîte de pétri.....40

Chapitre IV : Résultats et Discussions

Figure IV.1 : chromatogramme de la poudre de l'ail (*allium sativum*).....42

Figure IV.2 : chromatogramme de l'ail (*allium sativum L*) avec illustration des distances parcourues.....42

Figure IV.3 : Aspect des colonies d'*E. Coli* sur gélose.....43

Figure IV.4 : Aspect macroscopique de *P.aeruginosa* sur gélose nutritive.....43

Figure IV.5 : Aspect macroscopique de *S.aureus* sur gélose chapman.....44

Figure IV.6 : effet de l'extrait brut sur *E.coli*.....46

Figure IV.7 : effet de l'extrait méthanolique sur *E.coli* ainsi que le témoin1.....47

Figure IV.8 : effet de l'extrait aqueux sur *E.coli* ainsi que le témoin2.....47

Figure IV.9 : l'antibiogramme de la souche *E.coli*.....47

Figure IV.10 : Présentation graphique des différents produits testés sur *E.coli*.....48

Figure IV.11 : effet de l'extrait brut sur *P.aeruginosa*.....49

Figure IV.12 : effet de l'extrait méthanolique sur la souche *P.aeruginosa* ainsi que le témoin1.....50

Figure IV.13 : Effet de l'extrait aqueux sur *P.aeruginosa* ainsi que le témoin2.....50

Figure IV.14 : antibiogramme de la souche *P.aeruginosa*.....50

Figure IV.15 : présentation graphique des produits testés sur *P.aeruginosa*.....51

Figure IV.16 : effet des trois extraits sur la souche *S.aureus* ainsi que les témoins.....52

Figure IV.17 : l'antibiogramme de *S.aureus*.....53

Figure IV.18 : présentation graphique des produits testés sur *S.aureus*.....53

Liste des tableaux

Chapitre I: l'ail (*Allium sativum L*)

Tableau I.1: Classification de l'ail commun.....	03
Tableau I.2 : Précurseurs aromatiques de l'ail et de l'oignon.....	09
Tableau I.3 : résumé quelques principes actifs des plantes médicinales.....	16

Chapitre II : Bactériologie

Tableau II.1 : Cible d'action des principaux antibiotiques.....	25
--	----

Chapitre III : Matériel et Méthodes

Tableau III.1 : Concentrations et diamètres critiques pour les diverses classes d'antibiotiques selon la SFM 2013 (société française de microbiologie).....	36
--	----

Chapitre IV : Résultats et Discussions

Tableau IV.1 : criblage photochimique de l'ail.....	41
Tableau IV.2 : Résultats de l'examen microscopique après coloration de Gram.....	45
Tableau IV.3 : Résultat des tests biochimiques.....	45
Tableau IV.4 : Diamètres d'inhibitions des produits testés et des antibiotiques chez <i>E. coli</i>	46
Tableau IV.5 : Diamètres d'inhibitions des produits testés et des antibiotiques chez <i>P.aeruginosa</i>	49
Tableau IV.6 : Diamètres d'inhibitions des produits testés et des antibiotiques chez <i>S.aureus</i>	52

Liste des abréviations

ADN : Acide désoxyribonucléique.

ARN: Acide ribonucléique.

CCM :chromatographie sur couche mince.

CMB :concentration minimale bactéricide.

CMI :concentration minimale inhibitrice.

DO: Doxycycline.

E. coli: *Escherichia coli*.

E.A :Extrait aqueux.

E.B :Extrait brut d'ail.

E.M :Extrait méthanoïque.

FA : Acide fusidique.

GM: Gentamicine.

NCCLS: National committee for clinical laboratory standards.

PH : Potentiel hydrogène.

P.aeruginosa : *Pseudomonas aeruginosa*.

RA : Rifampicine.

RF : rapport frontal

S.aureus : *staphylococcus aureus*.

TE : Tétracycline.

Introduction

Depuis des temps reculés, L'homme s'approvisionne dans l'impressionnante réserve de plantes que regorge la nature. L'utilisation de ces dernières et de leurs extraits comme traitements, est une pratique très ancienne.

Cependant, la phytothérapie connaît de nos jours un succès considérable dans des nombreuses régions d'Afrique, d'Asie et d'Europe (Najja et al., 2010).

Des enquêtes récentes révèlent que 3 à 5% des patients des pays occidentaux, 80% des populations rurales des pays en développement et 85% des populations au sud du Sahara utilisent les plantes médicinales comme principal traitement (Najja et al., 2010). Même si, il y a quelques années de cela la médecine à base de plantes a connu un déclin et a été reléguée à un second rang en faveur de la médecine moderne (Salton et Tomasz, 1974).

Cette dernière soulage les patients de manière indéniable et sauve de nombreuses vies, toutefois malgré les énormes progrès réalisés par cette médecine, la phytothérapie offre de multiples avantages notamment dans le cas où l'efficacité des antibiotiques qui sont considérés comme la solution quasi universelle aux infections décroît vu que les bactéries se sont peu à peu adaptées à ces agents antibactériens et leur résistent de plus en plus, ainsi que les effets secondaires induits par les produits pharmaceutiques inquiètent les utilisateurs qui se tournent vers des soins moins agressifs pour l'organismes (Larousse, 2001 ;Fernandez, 2003) .

Certains extraits de plantes sont utilisés à la manière des antibiotiques ou d'autres préparations chimiques pour leurs fortes actions antimicrobiennes, fongicides et virucides (Belaiche, 1979). L'*Allium sativum* communément nommé ail, est une plante herbacée bulbeuse de la famille des *Alliaceae*, utilisé depuis plusieurs centaines d'années pour traiter divers problèmes de santé. Ce sont ses molécules naturelles bioactives qui lui confèrent plusieurs vertus thérapeutiques (Reuter et al., 1996).

L'objectif de la présente étude est d'évaluer l'effet antibactérien des différents extraits d'ail à savoir l'extrait brut ou jus d'ail ; l'extrait aqueux et l'extrait méthanolique sur les souches suivantes : *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* et *staphylococcus aureus*.

Ce manuscrit comporte deux parties d'étude ; une étude bibliographique qui traite l'ail et le monde microbien, et une partie expérimentale décrivant d'une part les méthodes qui ont été utilisées pour préparer les différents extraits d'ail et d'autre part la méthode utilisée pour évaluer l'effet antibactérien de ces derniers.

ETUDE
BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I

L'ail

Introduction

L'ail est une plante aromatique connue depuis l'antiquité. Bien que de nos jours elle soit principalement utilisée pour ses vertus culinaires, en prêtant sa saveur piquante à divers mets, on lui a attribué diverses fonctions au cours du temps. Bon nombre de propriétés pharmacologiques et thérapeutiques lui sont encore aujourd'hui attribuées. Il est intéressant de revenir sur son histoire pour comprendre l'origine de ces croyances, mais aussi d'observer ce que la science a pu mettre en évidence [13].

I-Description de la plante

I.1-Origine de la plante

L'ail provient à l'origine d'Asie centrale, mais ayant été introduit très tôt dans de nombreuses civilisations, beaucoup en revendiquent la paternité. Plus précisément, on suppose que son berceau serait situé dans les plaines à l'Est de la mer Caspienne (Kazakhstan, Ouzbékistan et Turkménistan), régions où il pousse encore à l'état sauvage. Il aurait été introduit en Chine par les tribus nomades et se serait propagé jusqu'en Asie du sud-est [13].

Il y a environ 10 000 ans, il s'est répandu progressivement en Extrême-Orient, en Arabie, en Égypte et dans le Bassin méditerranéen, transporté par les marchands au gré des routes commerciales. Ce bulbe est sans doute l'un des légumes les plus anciennement cultivés par l'homme qui l'utilisait autant pour son alimentation que pour sa santé [7]. Sa capacité à être cultivé aussi bien dans un climat tempéré que dans un climat chaud a joué un rôle majeur dans cet essor.

Un lointain ancêtre, *Allium longicuspis*, croît encore dans les steppes sauvages en Afghanistan et en Iran. L'ail des bois ou trilobé, *Allium tricoccum*, une espèce indigène en Amérique du Nord, pousse en colonies dans les érablières et les sous-bois. À la suite d'une récolte commerciale intensive, il est devenu de plus en plus rare. Au Québec, il bénéficie d'une protection juridique, à titre d'espèce vulnérable. Du côté de l'Europe et de l'Asie, l'ail des ours, *Allium ursinum*, se rencontre aussi à l'état sauvage. Cependant, l'ail cultivé, *Allium sativum*, ne dérive pas directement des espèces sauvages, mais plutôt d'une très lente évolution génétique issue d'un travail de sélection par l'homme. Son nom viendrait du mot celtique « all » qui signifie chaud, brûlant [7].

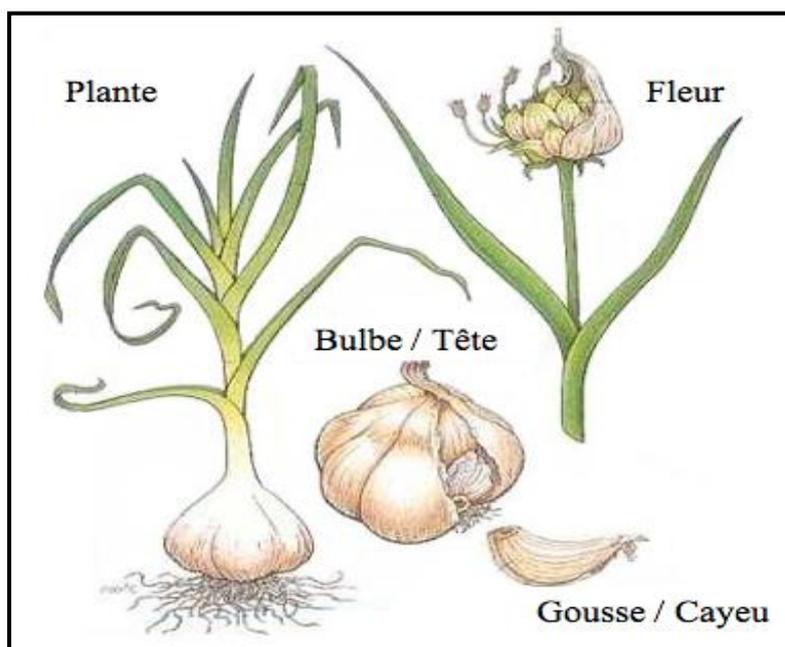


Figure I-1: la Plante d'ail (Dethier, 2010).

I.2-Classification

La classification de l'ail est exposée dans le tableau 1. Celle-ci fit récemment l'objet d'une modification toujours sujette à controverse, certains scientifiques classant le genre *Allium* dans la sous-famille des *Liliaceae*, voire des *Amaryllidaceae*, et non dans une famille à part entière, celle des *Alliaceae* (Lambinon et *al.*, 2004).

Tableau I-1: Classification de l'ail commun (Lambinon et *al.*, 2004).

Règne	<i>Plantae</i>
Embranchement	Spermatophytes
Sous-embranchement	Angiospermes
Classe	Liliopsides
Sous-classe	<i>Lilidae</i>
Ordre	Liliales
Famille	<i>Alliaceae</i>
Genre	<i>Allium</i>
Espèce	<i>Allium sativum</i> L.

II-Aspect botanique

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* L[9].

Il s'agit d'une plante monocotylédone, vivace, donnant des caïeux (gousses d'ail, bulbilles) La figure I-2 représente la plante. La partie souterraine se compose d'un bulbe pourvu de nombreuses radicelles fibreuses. Le bulbe se prolonge à la surface en une tige entourée de feuilles engainantes, linéaires, planes et lisses, mesurant 1 à 2,5 cm de large et 30 à 60 cm de long. Les inflorescences sont des ombelles[15].

De petites bulbilles sont produites dans les inflorescences. Les fleurs sont variables en nombre et parfois absentes, elles sont installées au bout de pédicelles minces et se composent d'un périanthe de 6 pièces d'environ 4-6 mm de long, rosâtre ou blanc, en cloche ; de 6 étamines ; et d'un ovaire supère triloculaire. Elles s'épanouissent en été [15].

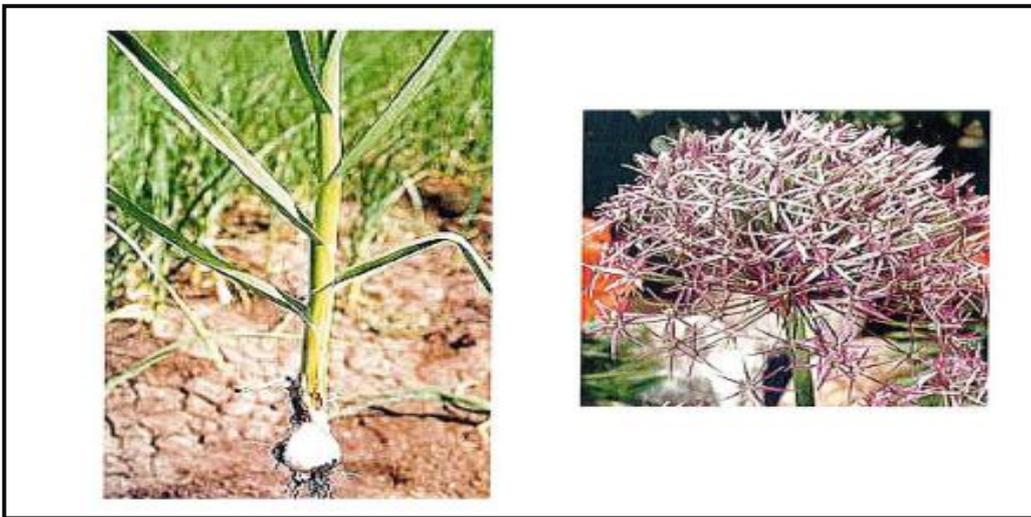


Figure I-2: Photographie de l'ail (plante entière) et des fleurs (Jung, 2005).

Le fruit est une petite capsule à déhiscence loculicide à 3 loges. Les graines sont rarement voire jamais produites, et la hampe florale donne plus souvent naissance à des bulbilles florales sauf pour les cultivars originaires d'Asie centrale et du Caucase qui sont proches du type sauvage [15].

Des bulbes sont formés à la base de la tige, ils sont composés de 3 à 20 bulbilles (plus communément connues sous le nom de gousses) arquées appelés caïeux. Ces derniers ont un diamètre de 5 à 10 mm et sont composées d'une enveloppe externe, d'un épiderme renfermant un mésophylle non chlorophyllien ; de parenchyme et d'une assise de cellules épidermiques inférieures (WHO, 1999).

Il existe un très grand nombre de variétés différentes d'ail selon leur taille, leur couleur et leur saveur. On distingue principalement deux sous-espèces d'ail, en fonction de la saison où les plantes sont mises en terre, l'une en automne, l'autre au printemps [13].

On parlera fréquemment d'ail blanc pour celui cultivé en automne et de rose pour celui du printemps. Cependant, ce raccourci n'est pas totalement juste. Ces deux sous-espèces comprennent plusieurs variétés horticoles, qui peuvent être labélisées selon leurs régions de production et leurs caractéristiques. Par exemple, l'Ail rose de Lautrec, l'Ail blanc de Lomagne ou encore l'Ail violet de Cardour, sont tous originaires de Midi-Pyrénées. Il existe également l'Ail fumé d'Arleux, de la région du Nord-Pas-de-Calais [13].



Figure I-4:*Allium sativum* [7,13].

II.1-Facteurs de l'environnement

II.1.1-Les exigences climatiques

Elles sont relativement modestes, il peut supporter des températures très basses de l'ordre de -15 à -18 °C. L'évolution de la dormance s'effectue par sa levée à des températures fraîches de 7 °C. La tubérisation est induite par les températures élevées ; 18-20 °C (proches de celles maintenant la dormance) et les jours longs (Clement, 1981 ; Chaux et Foury, 1994).

II.1.2-Sol, nutrition minérale et alimentation hydrique

L'ail est peu exigeant au regard des sols. Le sol doit être meuble (se réchauffant facilement et perméable) (Clement, 1981 ; Chaux et Foury, 1994), profond, léger et pas trop humide (Renaud, 2003). L'ail est modérément tolérant aux pH acides et ne doit pas être au-dessous de pH 5,5, éviter les sols trop calcaires (Renaud, 2003).

A noter une forte consommation en soufre, composant les sulfures d'allyles qui confèrent à l'ail sa saveur originale. La consommation en eau faible en début de croissance (mars- avril) s'élève en pleine phase de grossissement du bulbe, puis diminue dans la phase précédant la récolte (Chaux et Foury, 1994).

Bref, l'ail s'adapte aux différents climats, mais il le préfère plutôt doux. La plante se cultive dans tous les potagers avec une affinité pour les terres argilo-siliceuses, qui sont riches en matières organiques. La plante ne nécessite pas beaucoup d'eau. D'ailleurs, les bulbes redoutent les terres trop lourdes, trop humides et glaiseuses, dans lesquelles ils pourrissent. Les plantes sont enterrées entre deux et cinq centimètres de profondeur et espacées d'une quinzaine de centimètres. Quelque soit la période de plantation (automne ou printemps), la récolte a lieu de juillet à août. Le bulbe est arrivé à maturité quand les feuilles commencent à jaunir et à se faner. Une fois arraché, il faudra le conserver dans un endroit sec et à l'abri de la lumière pour éviter qu'il ne germe [10,15].

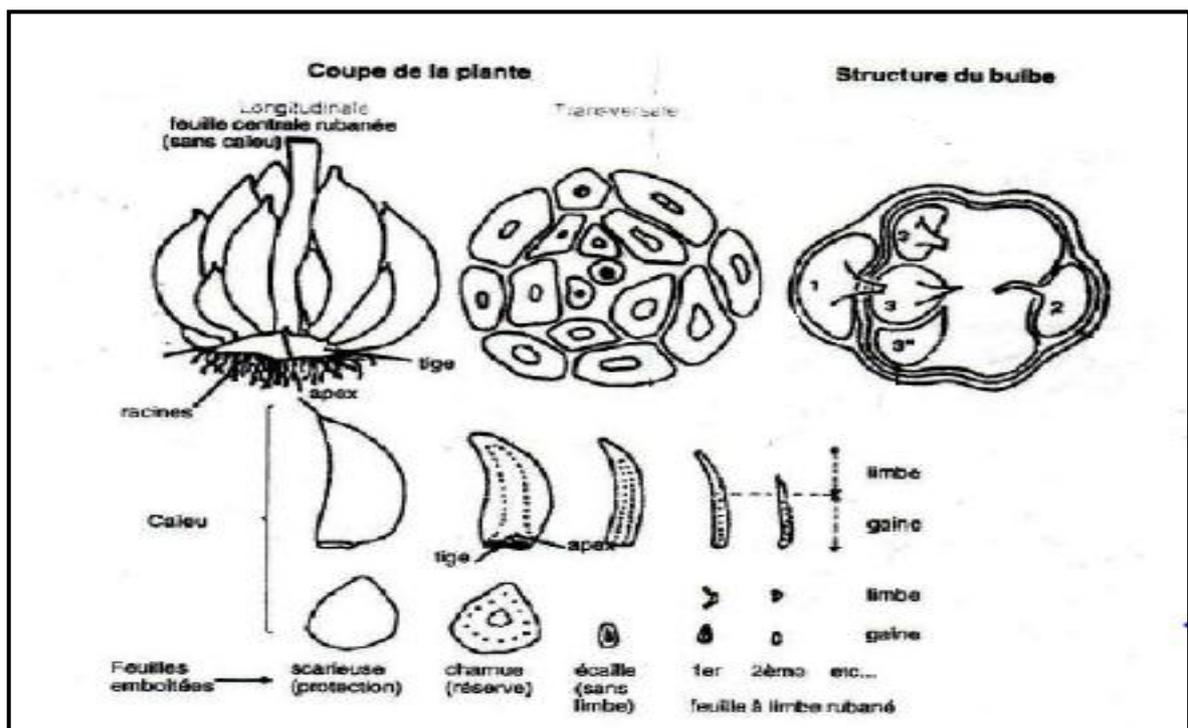


Figure I-5: Différentes vues et coupes de la structure de l'ail (Chaux et Foury, 1994).

III-Composition chimique de l'ail

L'ail est un alicament, il est très complet de par sa composition[11], il apporte 130 kcals pour 100g, ce qui est plus élevé que la plupart des légumes [13], mais qui est dû à sa plus faible concentration en eau environ 60 % d'eau, contre 90 % en moyenne pour la plupart des légumes frais[12] . Par conséquent, il est aussi plus riche en vitamines et minéraux [13].

La chimie de l'ail est tout à fait complexe (Block, 1992). Ses fortes teneurs en potassium, phosphore et vitamine B6. Il apporte également d'autres vitamines du groupe B (excepté la vitamine B12) et de la vitamine C. Il contient aussi de petites quantités de bêta-carotène (provitamine A), de vitamine K et de vitamine E anti-oxydante (tocophérols). Il renferme différents composés antioxydants, notamment des flavonoïdes et des polyphénols. Il offre une richesse exceptionnelle en minéraux et oligo-éléments, notamment en calcium, phosphore, fer et sélénium. Ses fibres sont relativement abondantes : plus de 2 g aux 100g. Elles sont composées de pectines, de substances mucilagineuses, de celluloses et d'hémicelluloses [12]. Cependant, comme la quantité que l'on consomme généralement n'est de l'ordre que de quelques grammes, l'apport final reste insignifiant [13].

Outre son apport en vitamines et minéraux, l'ail contient des glucides, composés d'une majorité de fructosanes, des glucides complexes dérivés du fructose, des protéines relativement abondantes, affichent une concentration particulière en acides aminés soufrés (cystéine, méthionine), des acides aminés et des enzymes (alliinase et peroxydase) [6,8].

Il est également constitué des composés soufrés, tels que l'alliine, l'allicine ou l'ajoène. Il renferme également des substances stéroïdiques, dont des saponines [6,8].

Les études sur l'ail ont commencé en 1844 avec Wertheim qui a extrait, examiné l'huile essentielle puis a établi le terme "*allyl*" pour le radical C₃H₅ (Jansen et al., 1987).

En 1909, Rundqvist avance une théorie (plus tard réfutée) que le précurseur des disulfures était un glucoside qu'il a nommé "*alliine*" mais n'a pas pu l'isoler sous une forme Pure (Guenther, 1977).

Les premiers exposés sur les propriétés physiques et la structure chimique du principal composé odorifiant et antibactérien de l'ail écrasé, étaient donnés par Cavallito et al en 1944. Il a suggéré la structure: **CH₂=CH-CH₂-S(O)-S-CH₂-CH=CH₂**, et a introduit le terme "*Allicine*" pour ce composant (Jansen et al., 1987). D'autres investigations par Stoll et Seebeck montraient que l'allicine est formée par une réaction enzymatique d'un amino-acide, appelé "*Alliine*" (Jansen et al., 1987 ; Shankaranarayana et al., 1982).

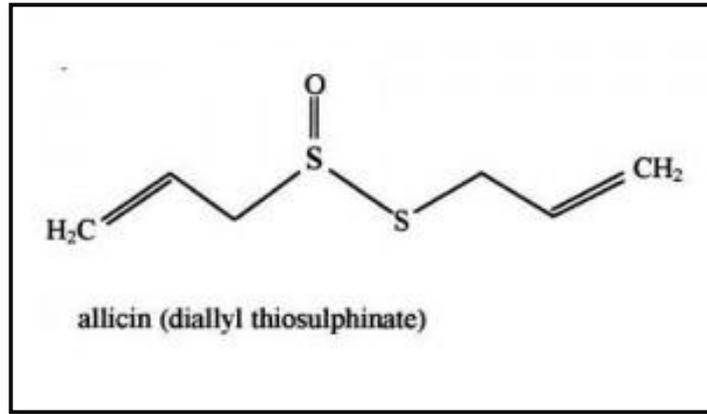


Figure I-6: Composé principal de l'ail coupé [1].

Le constituant principal de l'ail frais non contusé est l'*alliine* ou *sulfoxyde de S-allyl-L- (+) cystéine* (Bruneton, 1999), il y a aussi le S-(E)-1-propenyl cysteinesulfoxyde et le S-méthyl-cysteinesulfoxyde. Ces trois composés sont des amino acides non protéiniques du métabolisme secondaire de l'ail (Block, 1992).

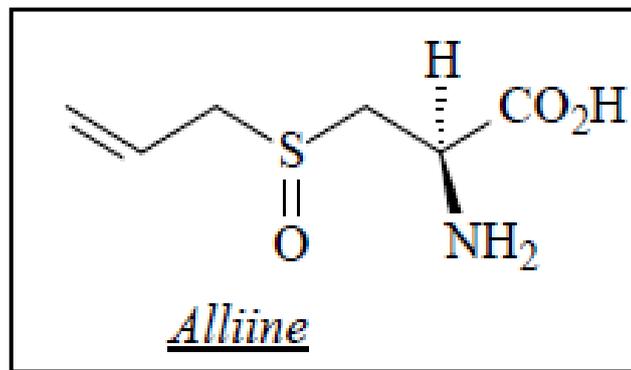
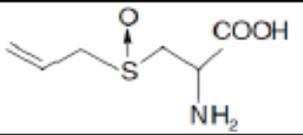
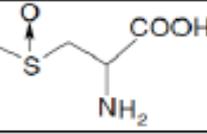
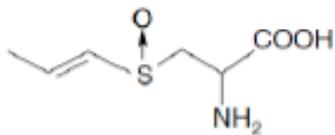
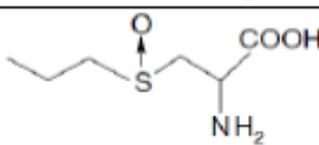


Figure I-7 : Constituant majeur de l'ail intact (Benzeggouta, 2005).

Lorsque les tissus sont coupés ou broyés, l'*alliine* est dégradée par l'enzyme l'*alliinase* (S-alkyl-L-cystéine sulfoxyde lyase), en acide pyruvique et acide 2-propène sulfénique, ce dernier étant aussitôt transformé en *allicine* (0.3 % de la masse fraîche) (Bruneton, 1999), qui est un diallyl thiosulfinate (Shankaranarayana et *al.*, 1982), d'autres thiosulfinites sont présents: méthane thiosulfinites, allyl méthane thiosulfinites, propyl propane thiosulfinites, et autres (Block, 1992).

Tableau I-2: Précurseurs aromatiques de l'ail et de l'oignon (Hughes et *al.*, 2005).

Précurseur	Nom commun	Formule
S-allyl cystéine sulfoxyde	Alliine	
S-méthyl cystéine sulfoxyde	Méthiine	
Trans S-1-propenyl cystéine sulfoxyde	Isoalliine	
S-propyl cystéine sulfoxyde	Propiine	

D'autres précurseurs sont également retrouvés: la **cycloalliine** et la **méthylalliine** qui sont décomposés en trisulfure de méthylalliine (Egen-Schwind et *al.*, 1992).

L'allicine est instable, et se décompose facilement en : vinyldithiines (Egen-Schwind et *al.*, 1992 ; Weber et *al.*, 1992 ; Ohta et *al.*, 1999), ajoenes (Block, 1992 ; Ohta et *al.*, 1999 ; Weber et *al.*, 1992), diallyl disulfure (Dwivedi et *al.*, 1998) et différents dialk (en) yl sulfures (Weber et *al.*, 1992), qui sont liposolubles (Block, 1992 ; Egen-Schwind et *al.*, 1992).

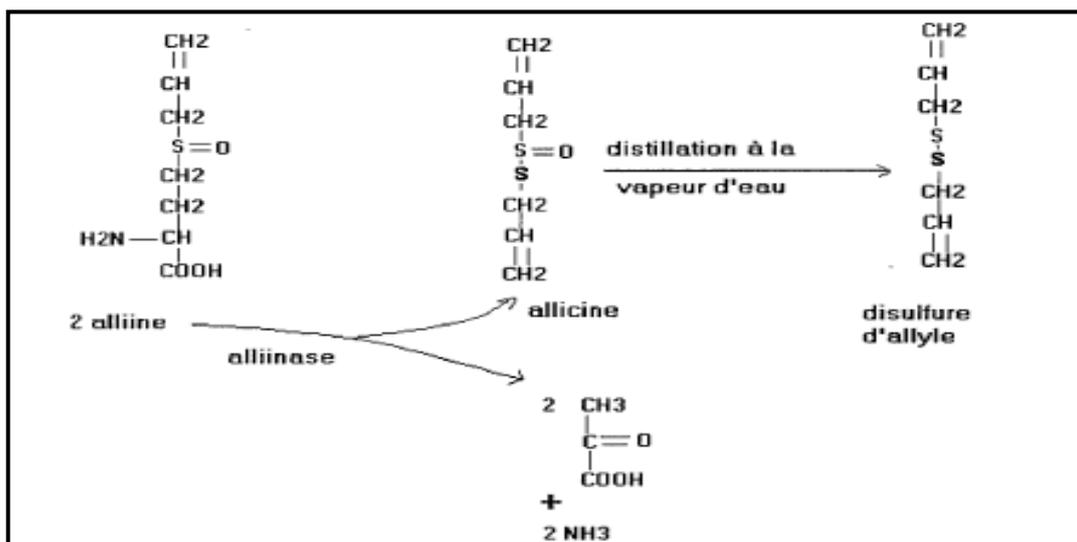


Figure I-8: Transformation de l'alliine en allicine et de l'allicine en disulfure d'allyle (Jung, 2005).

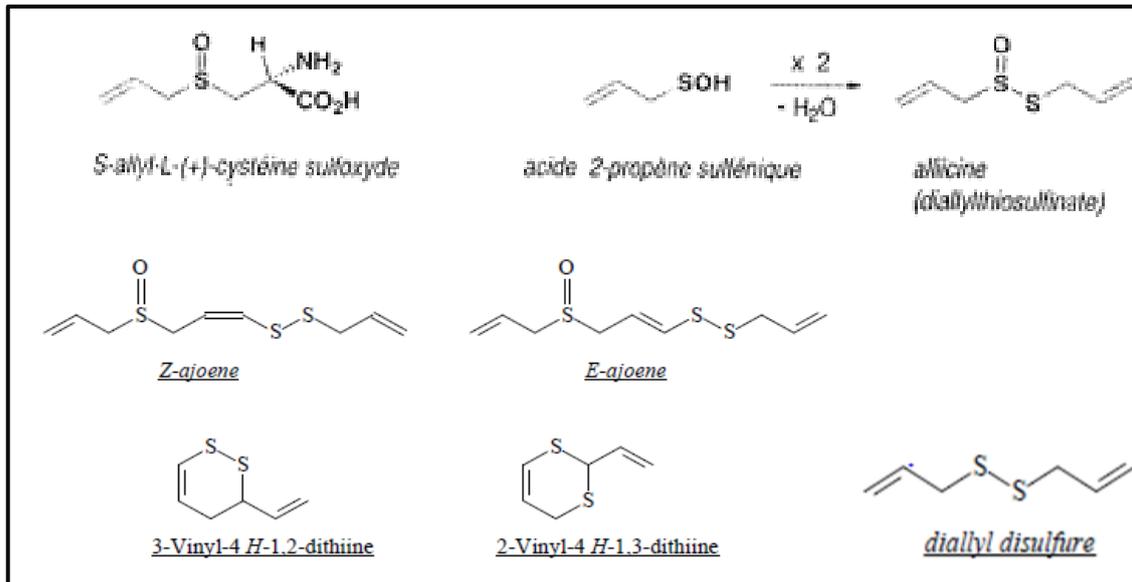


Figure I-9: Récapitulatif des principales molécules présentes dans l'ail (Bruneton, 1999 ; Benzeggouta, 2005).

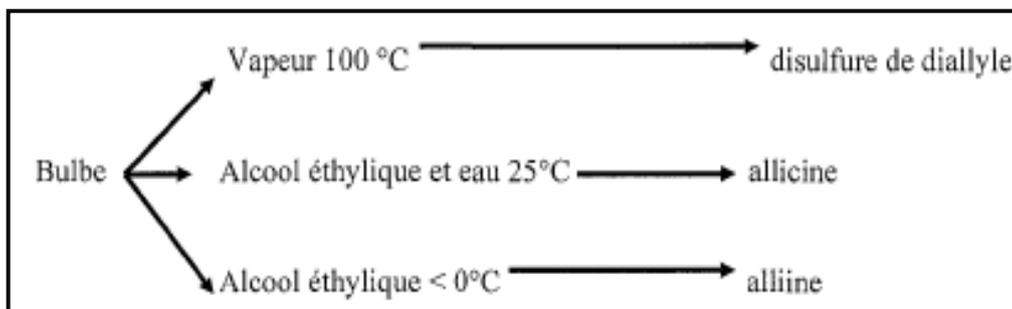


Figure I-10: Différents traitements appliqués à l'ail et produits obtenus (Jung, 2005).

La forte odeur si caractéristique de l'ail est due à la présence, dans la gousse, d'essence sulfurée. Son composé soufré principal, l'alliine, est à la base dépourvu d'odeur. Ce n'est que lors de la libération d'enzymes qu'elle est transformée en alicine et que la forte odeur aillée apparaît [8].

IV-Utilisations et propriétés

L'ail est d'abord utilisé en cuisine pour relever le goût des aliments, mais ses nombreuses propriétés thérapeutiques en font un complément alimentaire prisé. En effet, des qualités antimicrobiennes, antioxydantes, anti-inflammatoires, antitumorales et de prévention du Cancer lui ont été reconnues. En outre, il aurait le pouvoir d'inhibant la coagulation, de réduire l'hypercholestérolémie et le taux de lipides sanguins, ou encore de faciliter la digestion. L'ail

prévient aussi le risque de thrombose et d'athérosclérose. Enfin, il diminue l'hyperglycémie et la tension sanguine (Silagy et Neil, 1994 ; Bruneton, 1999).

IV.1-Culinaire

Les usages culinaires de l'ail sont nombreux. Aujourd'hui, les bulbes sont utilisés frais mais aussi séchés, en granules ou en poudre comme condiment. Les gousses entières peuvent être cuites à la vapeur ou au four. Le sel d'ail est très utilisé pour aromatiser les aliments. Depuis quelques années, on trouve sur le marché, des fleurs d'ail qui sont en fait les hampes florales coupées dès leur apparition. Elles sont consommées cuites ou marinées [7].

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

IV.2-Pharmacologique

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

IV.2.1-Propriétés antimicrobiennes

Louis Pasteur, en 1858, était le premier à avoir constaté que l'ail tue les bactéries.

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

Dans les années 1990, de nombreuses études scientifiques ont porté sur les différents effets thérapeutiques attribués à l'ail. Les recherches ont permis de démontrer que L'allicine serait responsable du pouvoir antimicrobien de l'ail, principalement sur les entérobactéries et sur certains streptocoques et staphylocoques. Il est donc couramment conseillé pour lutter contre les troubles digestifs[7].

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

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

IV.2.2-Propriétés antioxydantes

Ladésoxyalliine, l'alliine, l'allicine, et le diallyldisulfide, Ces quatre molécules captent les hydroxyles HO⁻, mais seule l'alliine capte les superoxydes O₂⁻(alors que l'allicine empêche leur formation).Les flavonoïdes de l'ail sont également reconnus pour leur capacité antioxydant (Chung, 2006).

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

IV.2.3-Propriétés anti-inflammatoires

Des études ont mis en évidence l'activité anti-inflammatoire et antiarthritique de la thiacremonone, un composé organosoufré de l'ail (Ban et *al.*, 2009). Les diallyl disulfide et trisulfide ainsi que l'huile d'ail, administrées à des doses précises, diminuent l'apoptose et l'ulcération de cellules intestinales endommagées (Chiang et *al.*, 2006). Cependant, si la quantité conseillée est outrepassée, des effets toxiques sont observés (Dethier, 2010).

IV.2.4-Propriétés préventives vis-à-vis du cancer

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

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

IV.2.5-Inhibition de l'agrégation plaquettaire et propriétés antithrombiques

Trois composés au moins, dont le diallyle trisulfide, la 1,3-vinyldithiine et l'ajoène, sont Cités comme antiagrégants (Block et *al.*, 1984).L'adénosine, l'allicine et l'alliine possèdent également ce pouvoir *in vitro*. La quercétine, bien que présente à l'état de trace uniquement, possède également cette propriété *in vitro* (Beier et Nigg, 1992) et *In vivo* (Hubbard et *al.*, 2004).

IV.2.6-Propriétés hypocholestérolémiantes, diminution du taux de lipides sanguins et de l'athérosclérose

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

Une revue des effets de l'ail sur les lipides et les lipoprotéines du sérum, reprend vingt-cinq tests aléatoires d'une durée moyenne de douze semaines. De façon générale, les individus supplémentés en ail (sous diverses formes : poudre d'ail, ail cru, macérât, ou extrait d'ail âgé) montrent une diminution de 12 % en moyenne de leur cholestérol total, ainsi qu'une réduction de 13 % des triglycérides sanguins (uniquement dans le cas de la poudre). Les auteurs suggèrent néanmoins une étude mieux conçue avant d'en tirer des Conclusions (Silagy et Neil, 1994).

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

IV.2.7-Effet sur la digestion

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

IV.2.8-Propriétés hypoglycémiantes

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

IV.2.9-Autres propriétés :

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

Le principe actif antifongique serait l'allicine. Son pouvoir bactéricide est égal au centième de celui de la pénicilline. Les ajoènes auraient une activité contre *Candida albicans*.

Les saponines stéroïdiennes contenues dans l'ail auraient aussi un rôle antifongique et antibactérien (Jung, 2005).

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

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

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

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

Les composés soufrés volatils spécialement: allicine, diallyl disulfure, diallyl trisulfure, ajoènes, vinylthiines, sont généralement considérés responsables de la plupart des activités pharmacologiques (Leung, 1980 ; Block et al., 1984 ; weber et al., 1992 ; Winkler et al., 1992 ; Yoshida et al., 1998 ; Yoshida et al., 1999 ; O'gara et al., 2000 ; Amagase et al., 2001 ; Ross et al., 2001 ; Tsao et Yin, 2001).

V- Eléments actifs des plantes :

Les effets curatifs de certaines plantes sont bien connus. La camomille allemande par exemple, est utilisée depuis des milliers d'années contre les troubles digestifs. L'aloès était déjà connu du temps de Cléopâtre, où il servait à adoucir la peau. Or, ce n'est que récemment que les éléments

actifs à l'origine des actions thérapeutiques des plantes ont été isolés et étudiés. Il est indispensable de connaître la composition des plantes pour comprendre comment elles agissent sur l'organisme (Iserin, 2001).

Tableau I-3: résume quelques principes actifs des plantes médicinales (Bruneton, 1999 ; Iserin, 2001 ; Benhamza, 2008).

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

Chapitre II
Bactériologie

Introduction

L'homme vit dans un environnement peuplé d'un grand nombre de microorganismes qui sont présents dans l'air, dans le sol, dans les eaux douces, dans les eaux marines, à la surface de la peau et les muqueuses ainsi qu'au niveau du tube digestif, de l'arbre respiratoire et de l'appareil urinaire. Ces microorganismes sont constitués par les bactéries, les virus, les champignons et les parasites. Ils sont soit des hôtes naturels de l'homme et donc saprophytes (flore digestive par exemple), soit ils déterminent une infection et donc Pathogènes (Khiati, 1998).

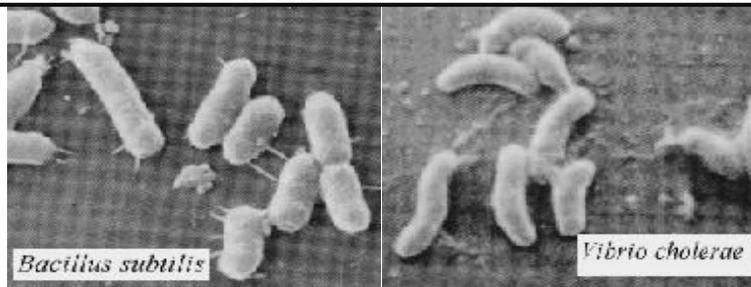
I-Morphologie et Structure fine des bactéries

Durant de longues années, la bactérie a été considérée comme "un sac d'enzymes" car le pouvoir de résolution du microscope optique était insuffisant pour révéler les détails de structure.

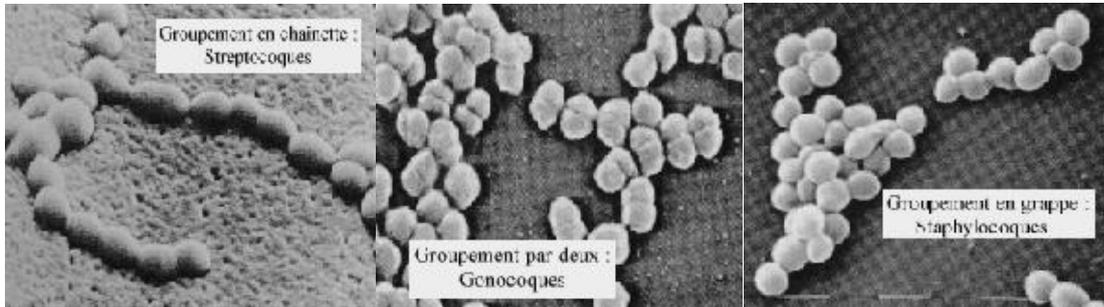
L'observation des bactéries, alors, permet seulement de reconnaître la forme des cellules (sphérique ou coccoïde, cylindrique ou bâtonnet, spiralée ou hélicoïdale), leurs dimensions (qui varient selon les espèces de 0.1µm à 600µm; les *Entérobactéries* 2 à 3 µm de long, Certaines *Spirochaeta* entre 30 et 500 µm) et les arrangements ou les groupements qu'elles constituent entre elles (en grappe, en chaînette, en paire ou diplocoque, en palissade ou paquet d'épingles chez les Corynébactéries...).

Ce sont les caractéristiques qui définissent la morphologie bactérienne, et qui étaient les critères essentiels de reconnaissance et d'identification, et qui ont un rôle très important dans le diagnostic (Leclerc et *al.*, 1995 ; Pocidalo, 1989).

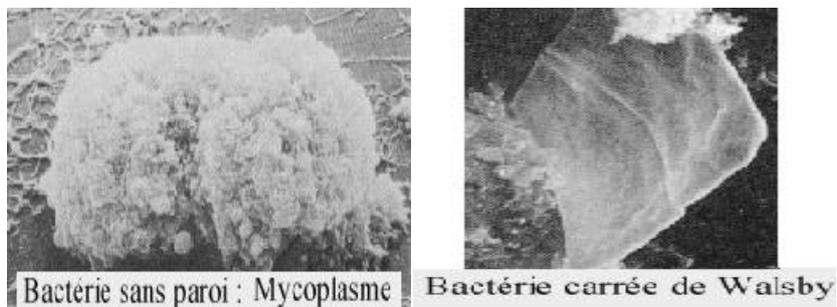
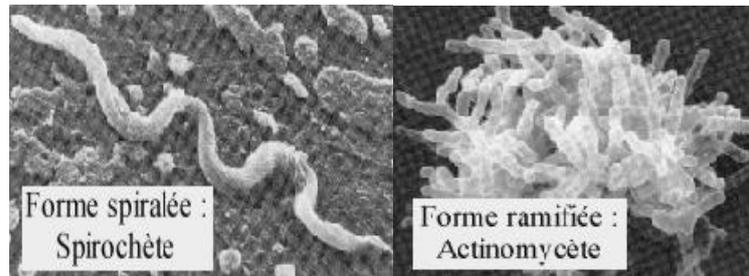
Les caractères morphologiques sont une stratégie d'adaptation et de survie; dans l'environnement aquatique ou tellurique, il existe des bactéries qui sont amorphes, ovoïdes, cubiques, étoilées, filamenteuses; elles peuvent être groupées en amas, en paires, et aussi en rosettes en réseau, en cubes, en corps fructifiant (Leclerc et *al.*, 1995).



A - Des bacilles



B - Des cocci



C - Autres formes

Figure II-1: Morphologie bactérienne (Benzeggouta, 2005).

Pour distinguer les bactéries au microscope optique, une méthode importante est largement utilisée en bactériologie, c'est "la coloration de Gram"(Leclerc et *al.*, 1995).

Cette méthode, divise les bactéries en deux groupes majeurs: bactéries à gram positif (colorées en violet), bactéries à gram négatif (colorées en rose). Cette distinction de réponse à la coloration de gram est due à la différence qui existe dans la composition des parois bactériennes, celles des bactéries à gram négatif laissent passer la solution alcoolique, tandis que celles des bactéries à gram positif représentent une véritable barrière que la solution alcoolique ne peut franchir (Leclerc et *al.*, 1995 ; Madigan et *al.*, 1997).

C'est la microscopie électronique avec ses différents modes d'exploitation qui a mis en lumière l'architecture interne de la bactérie telle qu'elle est représentée ci-dessous:

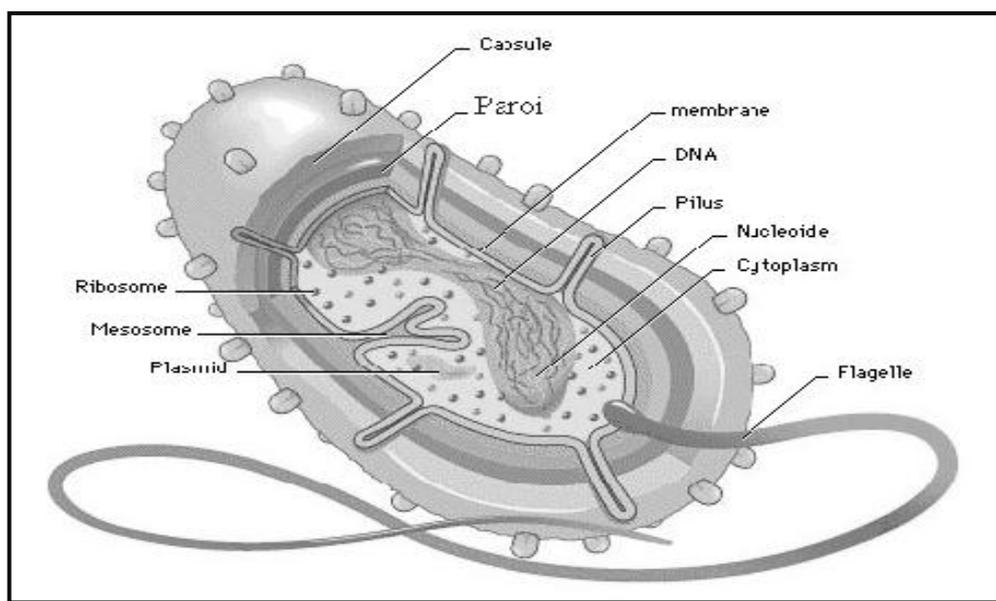


Figure II-2: Structure d'une cellule bactérienne (Benzeggouta, 2005).

La cellule est enveloppée par une paroi rigide, qui lui donne sa forme et sa résistance.

Epaisse chez les bactéries à gram positif et plus mince chez les bactéries à gram négatif; la paroi entoure une membrane cytoplasmique, plus fine et plus délicate.

Les bactéries à gram négatif possèdent une seconde membrane, qui est la membrane externe pour la distinguer de la membrane cytoplasmique, dite interne. Le cytoplasme sous-jacent contient essentiellement des granulations d'acide ribonucléique, les ribosomes ainsi que des substances de réserve comme le glycogène. L'appareil nucléaire se distingue par son aspect fibrillaire, finement réticulé, et qui occupe une grande partie de l'espace cellulaire, et il n'est pas entouré d'une membrane (Leclerc et *al.*, 1995).

Il existe des structures membranaires intra-cytoplasmiques appelées mésosomes qui sont le plus souvent étroitement associés à l'appareil nucléaire (rôle de fixation). D'autres composants

peuvent être présents (éléments facultatifs), comme le glycocalyx (polymère de surface polysaccharidique), la capsule, les flagelles (mobilité), les fimbriae (fixation sur d'autres cellules), les pili sexuels (interviennent au cours des processus de conjugaison).

Enfin, certaines bactéries peuvent contenir des éléments d'ADN circulaires extra chromosomique ou ADN mobile, qui sont les plasmides et qui portent des informations génétiques spécifiques (exemple résistance à certains antibiotiques) (Leclerc et *al.*, 1995).

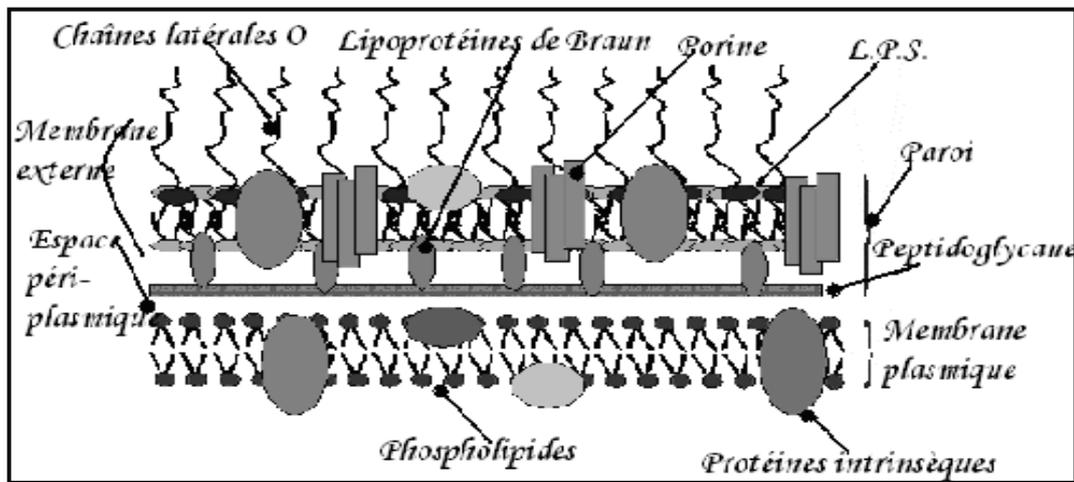


Figure II-3: Schéma de la paroi des bactéries à gram négatif (Benzeggouta, 2005).

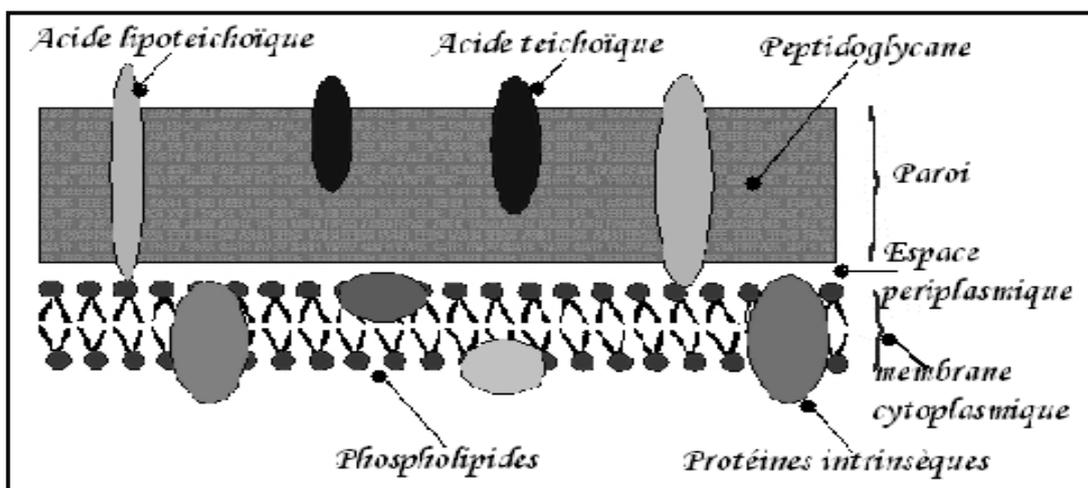


Figure II-4 : Schéma de la paroi des bactéries à gram positif (Benzeggouta, 2005).

Les différentes enveloppes bactériennes, parois et membranes, ou autres structures tels les antigènes somatiques, capsulaires, flagellaires..., représentent une architecture essentielle pour s'adapter aux situations de l'environnement, température, osmose, pH; pour se fixer sur des

supports (cellules), se nourrir, coloniser et infecter; pour résister aux substances antibactériennes etc (Leclerc et *al.*, 1995).

II-Les bactéries étudiées et leurs rôles pathologiques

II.1-Bactéries à Gram négatifs

II.1.1-Genre *Pseudomonas*

Ce genre appartient à la famille des *Pseudomonadaceae*. Les bactéries de cette famille sont des bâtonnets, mobiles par cils polaires, aérobies strictes.

Les *Pseudomonas* se cultivent facilement sur milieux usuels, en aérobiose, à la température de 30°C, certaines espèces comme *P.aeruginosa* en sont capables à 41°C et même 43°C; ce caractère étant utilisé pour le diagnostic.

La production d'un pigment est assez commune dans le genre. Deux sont particulièrement fréquents et utiles pour la reconnaissance des espèces: la pyocyanine, pigment phénazinique, soluble dans l'eau et le chloroforme, spécifique de l'espèce *P.aeruginosa*; la pyoverdine, ou pigment vert fluorescent, soluble uniquement dans l'eau et élaborée en particulier par *P.aeruginosa* et *P.fluorescens*. Ces bactéries sont capables d'utiliser une variété très large de substrats comme source de carbone et d'énergie. Ceux-ci comprennent les glucides, lipides, acides aminés, acides organiques, et aussi un grand nombre de corps aromatiques benzéniques, phénoliques, terpénique, des stéroïdes, etc.

Dans le genre *Pseudomonas* quelques espèces se signalent à l'attention, du fait de leur pouvoir pathogène opportuniste. *P.aeruginosa*, l'espèce type, est un germe ubiquiste communément rencontré dans le sol et plus encore dans les eaux, capable de se multiplier à 41°C contrairement à *P.fluorescens* et *P.putida*.

Fréquemment isolé sur la peau et les muqueuses de l'homme ou de l'animal, il est aussi particulièrement résistant aux antibiotiques et même aux antiseptiques.

En milieu hospitalier il est à l'origine de surinfections et de suppurations locales ou profondes, isolé essentiellement chez des patients présentant une immunodéficiences locale ou générale (brûlés, cancéreux, etc.), et très fréquemment impliqué dans les infections nosocomiales (infections pulmonaires, cutanées...). De même qu'il est phytopathogène avec beaucoup d'autres espèces du même genre (Leclerc et *al.*, 1995).

II.1.2-Famille des Entérobactéries

Ce sont des hôtes du tube digestif de l'homme et des animaux, mais aussi de nombreuses souches de cette famille ont été isolées de l'environnement aquatique ou terrestre.

Les bactéries de cette famille se cultivent facilement sur milieux ordinaires et utilisent une très large variété de composés organiques simples comme source d'énergie: sucres, acides aminés,

acides organiques. Elles sont anaérobies facultatives, bâtonnets, mobiles par cils péritriches ou immobiles, possédant des fimbriae appelés aussi pili communs, qui leur confèrent des propriétés hemagglutinantes, et dans certains cas, des propriétés d'adhésion aux cellules animales. La présence d'une capsule est parfois observée chez les *Klebsiella*. La plupart des Entérobactéries pathogènes se multiplient à la température optimale

De 37°C (Leclerc et *al.*, 1995).

II.1.2.1-Genre *Escherichia*

Ce genre comprend 5 espèces, mais *E.coli* est la plus importante. Cette espèce est subdivisée en sérotypes sur la base des antigènes présents. *E.coli*, un hôte commun de l'intestin de l'homme (10⁸ / g de selles), et des animaux; elle est recherchée à ce titre, comme germe témoin de contamination fécale, dans l'eau et les aliments. A l'intérieure de l'espèce il y a des pathotypes souvent associés à des sérotypes particuliers. Certains de ces pathotypes sont responsables d'infections intestinales (gastroentérites et diarrhées), leur pouvoir pathogène est induit par des facteurs d'adhésion et/ou la production d'entérotoxines. *E.coli* entéropathogène (diarrhées infantiles), *E.coli* entérotoxigène (tourista), *E.coli* entéroinvasif (invasion des cellules intestinales), *E.coli* entérohémorragique (diarrhées sanglantes), *E. coli* entéroadhérent (diarrhée du voyageur). D'autres responsables de méningites néonatales, provoquent des infections du tractus urinaire, ou encore des septicémies qui correspondent à un nombre restreint de sérotypes (Leclerc et *al.*, 1995).

II.2-Bactéries à gram positif

II.2.1-Genre *Staphylococcus*

Très fréquemment isolés en pathologie humaine, particulièrement au cours des suppurations, les staphylocoques sont des germes ubiquitaires : on les trouve en effet dans l'air, les sols et les eaux et ils appartiennent à la flore commensale de la peau et des muqueuses de l'homme et des animaux [1].

Les staphylocoques sont des bactéries sphériques, qui se divisent sur plusieurs plans pour former des amas réguliers ou irréguliers en grappe de raisin, d'où leur nom (en grec staphylos), ils sont immobiles et se cultivent sur des milieux contenant 5% de Na Cl et pour certains jusqu'à 10 et même 15%. Ils sont aérobies ou anaérobies facultatifs.

Les staphylocoques sont des germes ubiquistes largement distribués dans l'environnement naturel de l'homme, mais ils le sont plus fréquemment et en plus forte densité sur les surfaces cutanées – muqueuses des mammifères.

Il existe une certaine relation entre les espèces de staphylocoques et l'hôte qui les héberge. *S.epidermidis* est l'espèce la plus fréquente et la plus abondante sur les surfaces cutanées de

l'homme. *S.aureus* est l'espèce prédominante chez l'homme et autres mammifères, la cavité nasale de l'homme est sa niche préférentielle (Leclerc et *al.*, 1995).

Les staphylocoques ont un pouvoir pathogène opportuniste extrêmement large qui s'exerce avec une grande fréquence en milieu hospitalier. L'espèce *S.aureus*, responsable d'infections pyogènes de la peau et des muqueuses (furoncle, impétigo, staphylococcie maligne de la face, staphylococcies bulleuses, etc.), mais aussi osseuses (ostéomyélite), digestives (entérocolites post-antibiotiques), septicémiques. *S.epidermidis* un agent de plus en plus fréquent d'infections nosocomiales (Leclerc et *al.*, 1995).

III-Mécanismes de défense contre les bactéries

Dès la naissance l'homme se trouve en contact avec des bactéries qui progressivement colonisent son revêtement cutané-muqueux. Pour résister aux bactéries de nombreux moyens sont mis en jeu. On peut schématiquement en distinguer 3 groupes : les barrières anatomiques (La peau, les muqueuses), les mécanismes de résistance naturelle (ou innés) et l'immunité acquise.

Les mécanismes de défense contre les bactéries reposent sur les barrières cutané-muqueuses, puis sur les mécanismes naturels mettant en jeu des récepteurs solubles (comme le complément) et membranaires, capables de reconnaître un certain nombre de motifs habituellement présents sur les bactéries. Ces mécanismes permettent de recruter et d'activer les cellules phagocytaires. L'immunité acquise se développe plus tardivement et fait intervenir des récepteurs répartis de manière clonale sur les lymphocytes. Elle se traduit par la Production d'anticorps (active surtout contre les pathogènes extracellulaires) et une réponse Cellulaire (active contre les pathogènes intracellulaires). L'immunité acquise comporte une Mémoire et cette propriété est à la base de la vaccination (Kaufmann, 1997; Sendl, 1992).

IV-Les antibiotiques

Les antibiotiques antibactériens sont des molécules qui inhibent sélectivement certaines voies métaboliques des bactéries, sans exercer habituellement d'effets toxiques pour les organismes supérieurs. Cette propriété les distingue des antiseptiques. Les antibiotiques, au sens strict sont des produits élaborés par des micro-organismes, mais on inclut généralement parmi eux les dérivés semi synthétiques et les produits entièrement synthétiques (Nauciel, 2000).

L'activité des antibiotiques *in vitro* peut être mesurée en déterminant leur capacité d'inhiber la croissance bactérienne (concentration minimale inhibitrice ou CMI) ou leur capacité de tuer les bactéries (bactéricidie). L'action des antibiotiques est influencée par de nombreux facteurs: concentration bactérienne, milieu, interaction avec un autre antibiotique, etc.

En outre l'activité *in vivo* est influencée par des données pharmacologiques, de conditions locales particulières (Nauciel, 2000).

Selon leur formule chimique, la manière dont-ils agissent sur les microorganismes et leurs effets cliniques, les antibiotiques sont groupés en dix familles (suivant les références): les bêtalactamines, les aminosides (ou oligosaccharides), les phénicol, les tétracyclines, les polypeptides, les macrolides, les antituberculeux, les antifongiques, les antimétabolites et les antibiostatiques (Garnier, 1992 ; Leclerc, 1995 ; Madigan, 1997).

Le mode d'action des antibiotiques est, soit bactériostatique (empêche le développement microbien) essentiellement tétracyclines, phénicol, macrolides; soit bactéricide (qui détruit les germes) les bêtalactamines, les aminosides, Les polypeptides (Garnier, 1992 ; Khiati, 1998).

Chaque antibiotique possède un spectre d'action, qui est la flore microbienne sur laquelle il exerce son activité bactéricide ou bactériostatique, il est d'autant plus large, ou étendu, que le nombre des espèces microbiennes sensibles est grand. Le spectre d'action varie d'un antibiotique à l'autre (Garnier, 1992).

Tableau II-1: Cible d'action des principaux antibiotiques [14].

<i>Antibiotiques à activité principalement bactéricide</i>			<i>Antibiotiques à activité principalement bactériostatique</i>	
Classe	Cible bactérienne d'action		Classe	Cible bactérienne d'action
1. Bêta-lactamines Ex. : pénicillines céphalosporines	paroi (peptidoglycane)		1. Phénicolés Ex. : chloramphénicol thiophénicol	ribosome
2. Aminosides Ex. : streptomycine gentamicine	ribosome		2. Cyclines Ex. : tétracycline doxycycline	ribosome
3. Polymyxines Ex. : colimycine	membrane cytoplasmique		3. Macrolides et apparentés Ex. : érythromycine pristinamycine	ribosome
4. Rifamycines Ex. : rifampicine	ARN polymérase		4. Sulfamides et apparentés Ex. : cotrimoxazole	synthèse des acides nucléiques
5. Quinolones Ex. : A.nalidixique ciprofloxacine	ADN gyrase		5. Nitroimidazolés Ex. métronidazole	Acides nucléiques

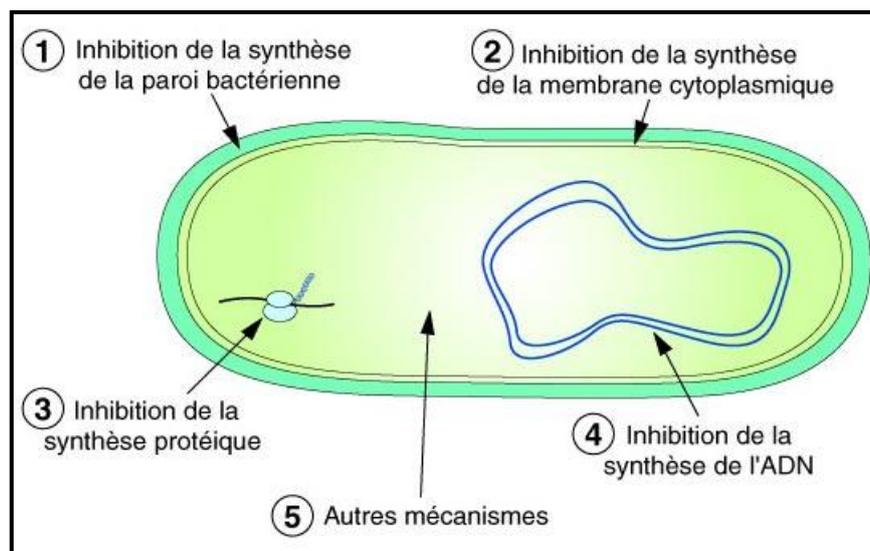


Figure II-5: Cibles de l'action des antibiotiques [4].

PARTIE
EXPERIMENTALE

Chapitre III
Materiel et Méthodes

Cette étude a été réalisée dans le laboratoire de biochimie et de microbiologie, université 08 mai 1945 de Guelma. Elle a été divisée en deux parties, dont l'une était consacrée pour l'étude phytochimique et l'autre pour l'étude de l'activité antibactérienne de l'ail.

I-Matériel

I.1-matériel végétal

L'ail utilisé dans cette étude, a été acheté au marché sous forme de bulbes fraîches et il provenait de la région d'EL harrouche de Skikda (Algérie), il a été conservée à l'ombre dans un endroit sec et aéré.

I.2- microorganismes utilisés

Trois souches ont été utilisées: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus*. Elles ont été fournies par le laboratoire de bactériologie de l'hôpital Ibn Zohr de Guelma, où elles y ont été isolées, purifiées et identifiées.

II-méthodes d'analyse

➤ Préparation de la poudre de l'ail

A partir des bulbes d'ail, il a été préparé non seulement (jus de l'ail) mais également la poudre d'ail qui a servi à la préparation des autres extraits (méthanolique et aqueux), ainsi qu'à la réalisation du criblage phytochimique. Après broyage, Le résidu obtenu est séché à l'ombre, à l'air libre et à une température ambiante. Pour permettre l'élimination complète de l'eau sans pour autant altérer excessivement la qualité de ce dernier.

II.1-Etude phytochimique de la plante

II.1.1- test préliminaire de la composition chimique

- **Les Alcaloïdes**

Le terme alcaloïde est généralement appliqué aux substances organiques basiques azotées et douées de propriétés physiologiques (Mboj, 2003). Ils constituent un groupe chimique très hétérogène. 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).

A 5g de poudre d'ail, sont ajoutés 15 ml de H₂SO₄ à 2%. Après une demi-heure de macération à une température ambiante, le macéré est filtré. 5 gouttes de réactif de Mayer sont additionnées à 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).

- **Les Flavonoïdes**

Ce sont des pigments naturels de couleur jaune, généralement polyphénoliques. Ils sont le plus souvent sous forme d'hétérosides appelés flavonosides. Ces derniers sont doués d'une activité diurétiques et vitaminiques P. en milieu alcalin, les flavonosides se dissolvent facilement en donnant des colorations allant du jaune au brun (Mboj, 2003).

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 NH₄OH. Un test positif est révélé par l'apparition d'une couleur jaune orangé (Okmu, 2005).

- **Les Tanins**

Ce sont des composés polyphénoliques ayant la propriété de tanner la peau, c'est-à-dire de le rendre dure et imputrescible en se fixant sur les protéines. La présence de tanins est mise en évidence à l'aide du perchlorure ferrique (Mboj, 2003).

10g de la plante sèche sont extraits par une solution hydro- alcoolique de C₂H₅OH, puis le mélange est filtré. Le filtrat est additionné par une solution de FeCl₃.

L'apparition d'une couleur verte confirme la présence des tanins (Karumi et *al.*, 2004).

- **Les Saponosides**

Les Saponosides ou saponines sont des hétérosides très répandus dans le règne végétal. 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 est 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.

- **Les Stérols et les terpènes**

La présence des stérols et triterpènes est mis en évidence à l'aide de H₂ SO₄ concentré (Diallo, 2000).

5g de la poudre, sont dissoutes dans 210 ml d'éther de pétrole, le mélange est filtré puis évaporé. Le résidu résultant est solubilisé dans 0.5 ml d'acide acétique ensuite dans 0.5ml deCHCl₃. Puis y ajouté 1 ml d'H₂SO₄ concentré. La formation d'un cercle marron ou violet indique la présence des stérols terpéniques (Dohou et *al.*, 2003).

II.1.2- chromatographie sur couche mince (CCM)

La chromatographie sur couche mince est une méthode facile à mettre en œuvre. Elle donne l'avantage de nécessiter peu de matériel et de fournir des résultats facilement interprétables et toujours très reproductibles (Akroum, 2006).

Cette technique a été utilisée avant pour la séparation des substances colorées (d'où son nom). Aujourd'hui, elle est considérée comme une méthode puissante pour les analyses qualitatives et quantitatives. Aussi, elle permet de suivre l'évolution d'une réaction et de tester la pureté d'un solvant (Akroum, 2006).

a-Principe de la CCM

La séparation des constituants du dépôt se fait à l'aide de deux phases : une phase mobile qui est un solvant ou un mélange de solvants. Et une phase stationnaire qui est un adsorbant maintenu sur une plaque de verre ou de plastique rigide. L'échantillon à analyser doit se trouver dans un solvant volatil. Le dépôt se fait sur une extrémité de la phase stationnaire. Les constituants de l'échantillon sont alors élués (entraînés) par la phase mobile qui monte par capillarité vers le haut de la plaque (Akroum, 2006).

b-dépôt des échantillons

Le dépôt se fait linéairement de façon ponctuelle avec un capillaire (pipette capillaire) à usage unique (un capillaire pour chaque phase). Le capillaire doit être posé perpendiculairement et prudemment sur la plaque pour ne pas gratter le gel (Akroum, 2006).

Plusieurs dépôts sont réalisés du même échantillon au même endroit pour obtenir les produits séparés en grande quantité. Il faut sécher après chaque dépôt avec un sèche-cheveux (Akroum, 2006).

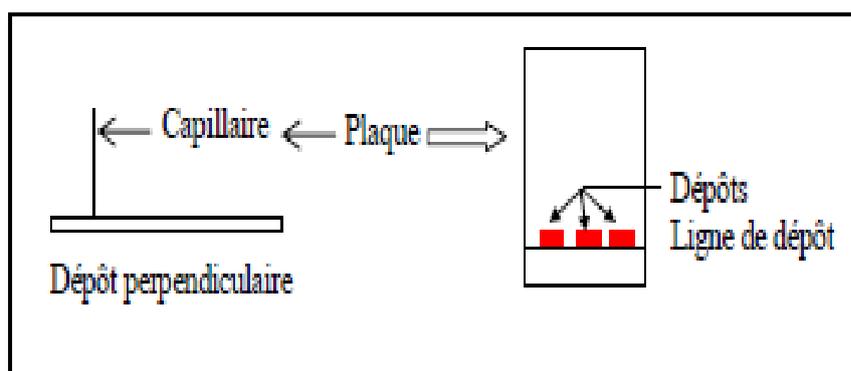


Figure III-1 : Dépôt pour une CCM (Akroum, 2006).

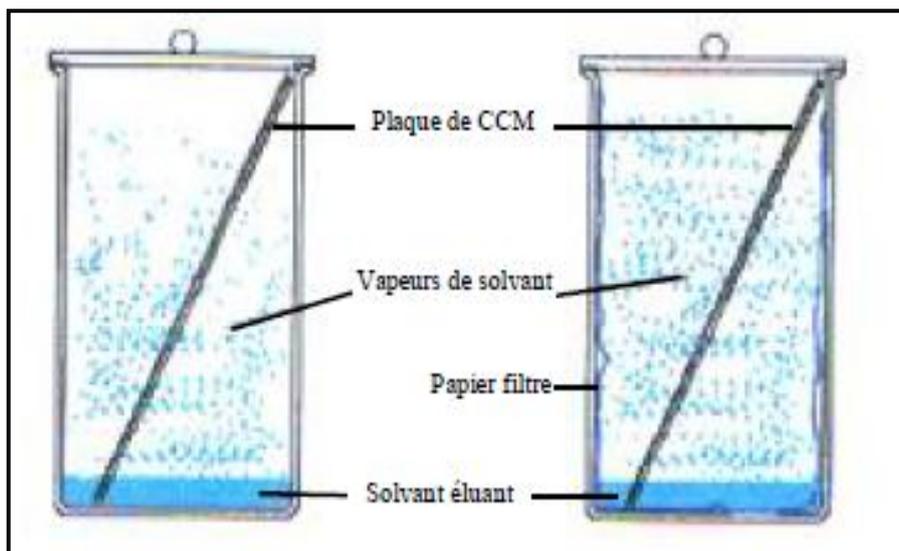


Figure III-2: cuve de CCM (Akroum, 2006).

c-Révélation des taches

La plaque est pulvérisée par une solution de ninhydrine à 0.2% dans un mélange d'isopropanol – acide acétique (95 : 5) et chauffée pendant 5 min à 120°C.

d-Calculs et interprétation

La position finale de la tâche (ou spot) est caractéristique de la molécule. On lui attribue une valeur, le Rf (**R**etention **f**actor en anglais) qui a été fort habilement traduit comme **R**apport **f**rontal. Ce Rf est le rapport de la distance parcourue par le composé divisé par la distance parcourue par l'éluant.

$$Rf = \frac{\text{Distance entre l'origine (le dépôt) et la tâche du produit}}{\text{Distance entre l'origine (le dépôt) et le front du solvant}}$$

II.2-Etude bactériologique

Les souches ont été identifiées par le laboratoire de bactériologie de l'hôpital ibn zohr de Guelma. Leur pureté a été vérifiée par les caractéristiques cellulaires et par quelques tests culturels et biochimiques.

Ces dernières ont été ensemencées sur des milieux sélectifs afin de vérifier leur pureté. *E.coli* sur gélose Hektoen, *p.aeruginosa* sur les milieux gélosés King A et King B, *S. aureus* sur gélose chapman. L'incubation est réalisée à 37°C pendant 24 heures.

II.2.1.-Etude des caractères culturels

II.2.1.1-Etude macroscopique

Les caractères étudiés sur les différents milieux sélectifs sont :

- L'aspect des colonies (la taille, la transparence, la consistance et l'élévation de la colonie).
- La mise en évidence de la pigmentation
- la présence ou l'absence d'une odeur.

II.2.1.2-Etude microscopique

✓ Examen à l'état frais

L'état frais permet d'observer des bactéries vivantes et apporter des renseignements sur la morphologie, le mode de regroupement et la mobilité (Camille, 1998).

✓ Examen après coloration de Gram

La coloration de Gram est basée sur la différence de perméabilité des bactéries à l'alcool donc sur leur capacité à retenir dans leur cytoplasme et leur paroi, un colorant primaire qui est le violet de Gentiane. Cette divergence est liée à une différence de produit chimique des parois cellulaires entre deux grands groupes de bactéries : bactéries à Gram négatifs et bactéries à Gram positifs, celles qui sont décolorées et prennent ensuite la couleur d'un second colorant qui est le fuschine sont dites à Gram négatifs (Camille, 1998 ; Camille et Bernard, 2003 ; Lansing et *al.*, 2003).

La coloration de Gram se fait comme suit (Delarras, 2007) :

La lame contenant le frottis est recouverte par pendant 1 minute par le violet de Gentiane, puis rincé à l'eau distillée. Le lugol est ensuite versé pendant 1 minute et rincé à l'eau distillée ; la

lame est ensuite décolorée par l'alcool à 95% entre 15 à 30 secondes puis rincé à l'eau distillée. On ajoute après la fuschine pendant 10 à 30secondes et rincé à l'eau distillée. La lame est séchée sous la flamme du bec bunsen. L'observation est faite au microscope optique à l'objectif X1000 à immersion.

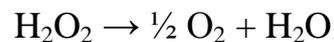
Les bactéries colorées en violet sont des bactéries à Gram positif(+) et les bactéries colorées en rose sont des bactéries à gram négatif(-) (Delarras, 2007).

II.2.2-Tests biochimiques

Des tests biochimiques complémentaires ont été réalisés pour la confirmation des souches étudiées.

II.2.2.1-recherche de la catalase

La catalase est une enzyme qui catalyse la dégradation du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), produit toxique du métabolisme aérobie de nombreuses bactéries, en H_2O et $1/2 O_2$.



Le test consiste à mettre des bactéries en quantité suffisante en contact de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2). Si elles possèdent la catalase, elles dégradent le peroxyde d'hydrogène en eau et dioxygène visible par la formation de bulles (Reuter et *al.*, 1996).

Sur une lame propre et sèche, une goutte d'eau oxygénée est déposée et à l'aide d'une anse, la colonie est dissociée dans cette dernière (Reuter et *al.*, 1996).La positivité du test se traduit par l'apparition des bulbes, et un dégagement gazeux de dioxygène.

II.2.2.2-Recherche de l'oxydase

La présence de cette enzyme chez les bactéries indique la présence de cytochrome C dans la chaine respiratoire (Hellal, 2011). Sur le disque d'oxydase imprégné de N-diéthyl paraphénylène diamine (incolore), les bactéries qui produisent cette enzyme oxydent le réactif en formant l'indophénol un composé violet (Hellal, 2011).

Technique :

Sur une lame, placer un disque imprégné du réactif et l'imbiber avec une goutte d'eau distillée ou d'eau physiologique stérile, déposer ensuite, avec une pipette Pasteur une colonie issue d'une culture jeune et l'étaler sur le disque. L'apparition d'une tâche violette au bout de 30 secondes, signifie que la bactérie est oxydase+ et qu'elle possède le cytochrome oxydase. Et l'essai est négatif si la couleur ne vire pas au violet dans les 10 secondes (Burdock, 1995).

II.2.2.3-Mise en évidence de la production des pigments spécifiques

Les milieux King A et B sont destinés à la différenciation des espèces du genre *pseudomonas* par la mise en évidence de leurs pigments.

L'élaboration des pigments est influencée par la composition du milieu.

✚ Recherche de pyoverdine

Le milieu King B favorise la synthèse du pigment jaune vert fluorescent « La pyoverdine ». Ce pigment colore le milieu en vert fluorescent, il est soluble dans l'eau et insoluble dans le chloroforme. Le phosphate dipotassique augmente la concentration en phosphore apporté par la peptone et stimule ainsi la production de fluorescéine tout en inhibant la production de pyocyanine, le sulfate de magnésium apporte les cations nécessaires permettant la production de la pyoverdine (Khadri, 2009).

✚ Recherche de pyocyanine

Le King A favorise sélectivement la production de pyocyanine par la présence de certains acides aminés et d'ions inorganiques. Ce pigment soluble dans l'eau et dans le chloroforme, colore en bleu le milieu de culture. La pyocyanine de *P.aeruginosa* peut être produite en faibles quantités sur le milieu King A et le mélange de pyocyanine et de pyoverdine conduit à l'apparition d'une couleur verte. (Khadri, 2009).

L'ajout du chloroforme dans le milieu permettra alors la révélation spécifique de la pyocyanine. Les souches sont ensemencées sur les deux milieux (géloses inclinées) par la méthode des stries. Les tubes sont incubés à 37⁰ pendant quatre jours (Khadri, 2009).

II.3-Préparation des extraits d'ail

II.3.1-Préparation de L'extrait brut (jus de l'ail)

Les bulbes d'ail sont découpées en petit morceau, puis broyées au mixeur ;le mélange obtenu est filtré afin d'extraire le jus ou l'eau métabolique de l'ail.

Cette dernière représente toute la partie liquide extrait ce qui reste comme résidu est les fibres cellulosique (Benzeggouta, 2005).

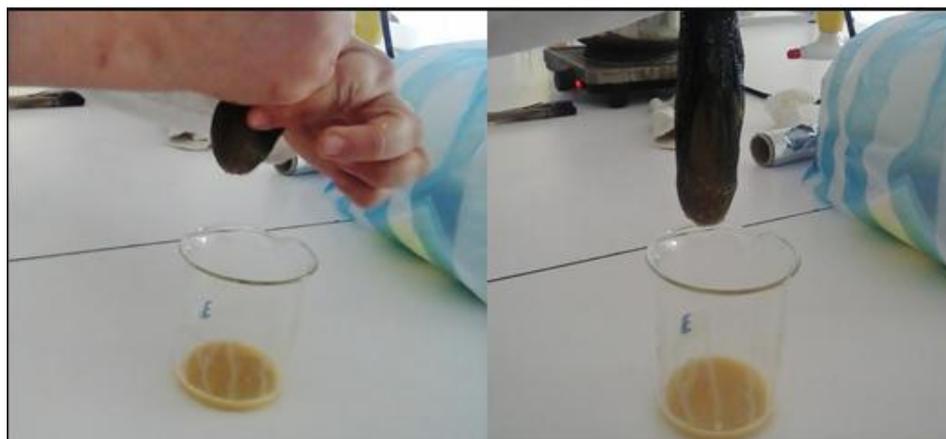


Figure III-3 : filtration de l'ail broyé.

II.3.2-Préparation de l'extrait méthanolique

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. Le résidu est récupéré et l'opération est répétée sur ce dernier deux fois de plus en deux jours successives.

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.

Au cinquième jour, le résidu est additionné par 250ml de méthanol à 85%. Après 24 heures de macération, filtrer et récupérer le filtrat. L'opération est répétée une seconde fois. Tous les filtrats sont recueillis dans un même récipient et évaporés au rota vapeur.



Figure III-4: filtration du résidu additionné à 500ml de méthanol à 85% après 24h de macération et l'extrait obtenu après passage au rota vapeur.

II.3.3-Préparation de l'extrait aqueux

400 ml d'eau physiologique ont été ajoutés à 20g de poudre d'ail. Le mélange a été agité à une température ambiante pendant 24 heures puis décanté ; et le surnageant était filtré sur un coton hydrophile et papier whatman. Le filtrat a été stérilisé à l'aide d'une membrane millipores (Najja et *al.*, 2010)

II.4-Test de sensibilité aux antibiotiques: antibiogramme par la méthode de diffusion ou des disques.

C'est une méthode analytique permettant la détermination de la sensibilité des bactéries aux antibiotiques. L'information qu'elle fournit, est capitale pour l'établissement ou la rectification d'une thérapie déjà prescrite.

Selon les recommandations de l'organisation mondiale de la santé, on préconise d'adopter la méthode des disques selon la NCCLS.

II.4.1-Mode opératoire

✓ Préparation de l'inoculum

A partir d'une culture pure et jeune de 18 à 24 heures (en phase de croissance exponentielle) sur gélose nutritive, Prélever à l'aide d'une anse de platine, 3 à 5 colonies bien isolées et parfaitement identiques.

Décharger l'anse dans 5 à 10 ml d'eau physiologique stérile à 0.9%, bien homogénéiser la suspension bactérienne, son opacité doit être équivalente à 0.5 Mc Farland (voire annexe), Ainsi

l'étalon doit présenter une densité optique(DO) allant de 0.08 à 0.11 lue à 625 nm(Standardisation de l'antibiogramme selon l'OMS, 1999).

Ajuster l'inoculum, soit en ajoutant de la culture s'il est trop faible ou l'eau physiologique stérile, s'il est trop fort.

N.B. : l'ensemencement doit se faire dans les 15 minutes qui suivent la préparation de l'inoculum.

✓ **L'ensemencement**

-par écouvillonnage

Couler aseptiquement le milieu de culture gélosé Mueller Hinton(MH) en surfusion, qui est le milieu le plus employé pour les tests de sensibilité aux agents antibactériens ; dans des boîtes de pétri à raison de 20 ml par boîte. Laisser refroidir et solidifier sur la paillasse.

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 pétri à 60°C de façon à croiser les stries 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.

✓ **Application des disques d'antibiotiques**

A l'aide d'une pince stérile, déposer sur la boîte de pétri en appuyant légèrement les disques d'antibiotiques. Veiller à ne pas chauffer les disques par la pince flambée. Ne pas mettre plus de 6 disques d'antibiotiques sur une boîte de 90 mm de diamètre. Un disque appliqué ne peut être déplacé. Les différents disques doivent être distants d'environ 30mm. Les boîtes sont ensuite incubées à l'étuve à 37°C pendant 24heures.

✓ **Lecture et interprétation:**

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

La souche est alors classée comme sensible **S**, intermédiaire **I**, ou résistante **R** par comparaison aux valeurs critiques expérimentales diffusées par le Comité Français de L'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (Fauchère, 2002).

Tableau III-1: Concentrations et diamètres critiques pour les diverses classes d'antibiotiques selon la SFM 2013 (société française de microbiologie) [5].

Antibiotiques	Charge du disque	Concentration critique (mg/L)		Diamètres critiques (en mm)	
		S	R	S	R
AMINOSIDES					
Gentamicine	10 UI	≤8	>16	≥15	<13
TETRACYCLINES					
Tétracycline	30 UI	≤4	>8	≥19	<17
Doxycycline	30 UI	≤4	>8	≥19	<17
Divers					
Acide fusidique	10µg	≤2	>16	≥22	<15
Rifampicine	30µg	≤4	>16	≥19	<15

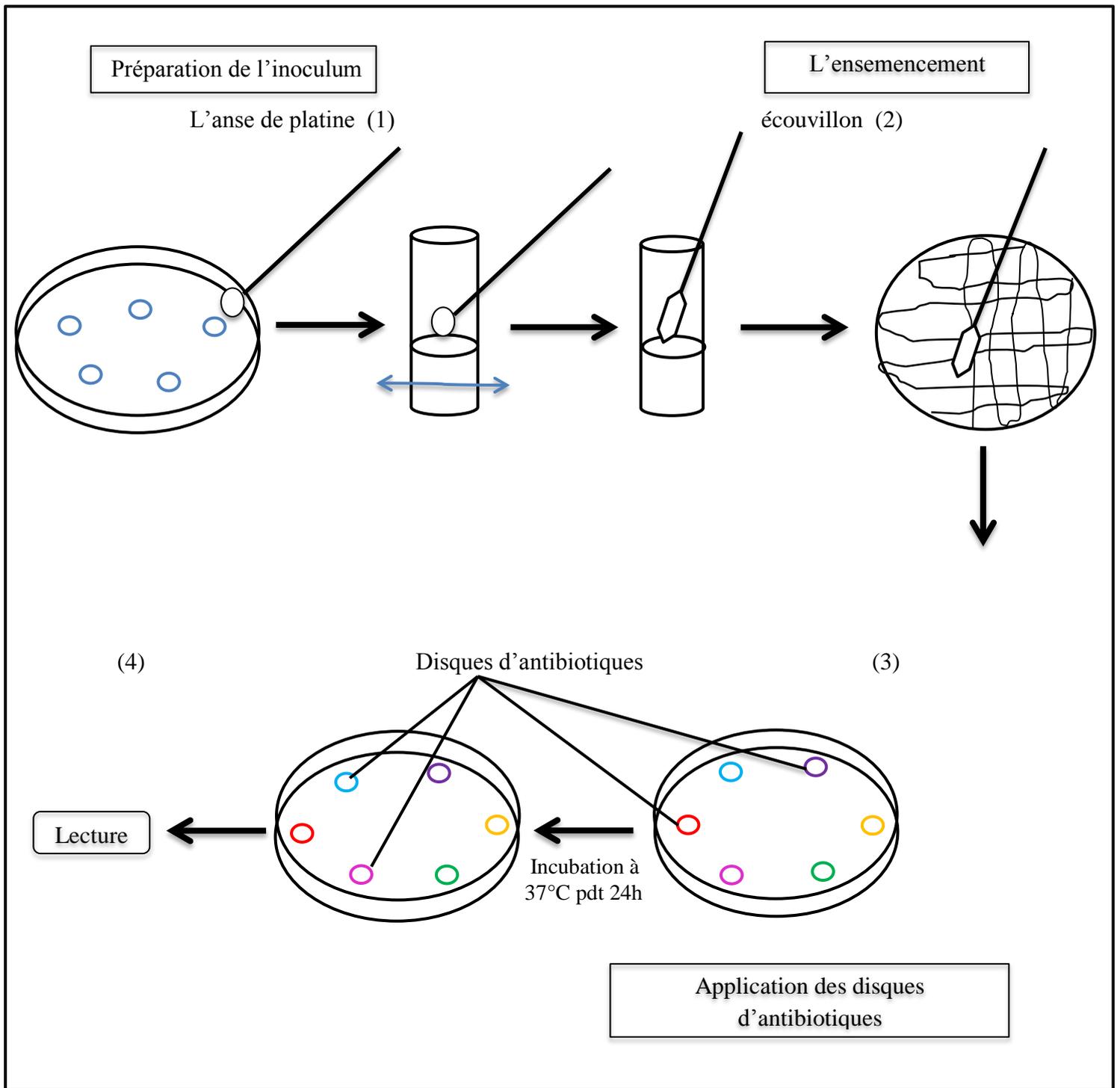


Figure III-5: technique de l'antibiogramme par la méthode de diffusion ou de disques.

II.5-Etude de l'activité antibactérienne de l'ail (*allium sativum L*):

Ce travail consiste à évaluer l'activité antibactérienne des extraits (extrait brut, extrait méthanolique et extrait aqueux) d'ail in vitro vis-à-vis de différentes souches bactériennes. Pour se faire, la méthode de diffusion ou de disque (aromatogramme) a été adoptée.

II.5.1-Méthode de diffusion: l'aromatogramme

L'aromatogramme est basée sur une technique utilisée en bactériologie médicale appelée antibiogramme. Elle permet de tester l'effet d'un produit antimicrobien sur une souche grâce la mesure des zones d'inhibitions autour des disques imprégnés des différents produits à tester. L'inhibition, quand elle est présente, se manifeste par des zones de stérilité autour des disques imprégnés de principes actifs. Leur diamètre nous permet d'évaluer le degré d'action des composés traités sur la croissance des bactéries.

En fonction du diamètre d'inhibition, la souche sera qualifiée de sensible ou résistante (Fauchère, 2002).

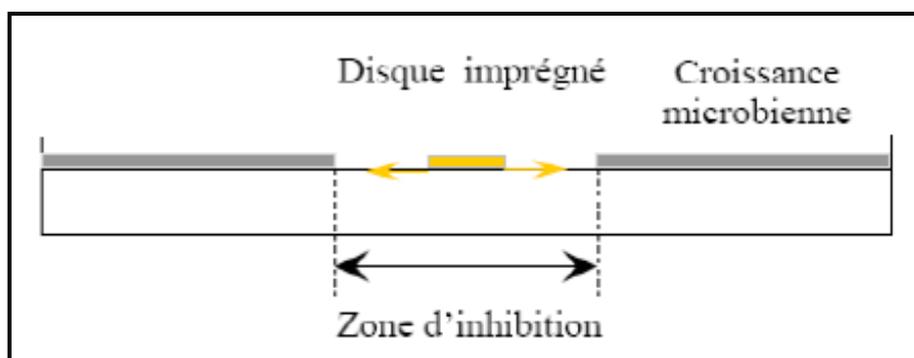


Figure III-6: schéma simplifié du principe de la méthode de l'aromatogramme (Hellal, 2011).

II.5.1.1-Mode opératoire :

✓ Préparation de l'inoculum

Tout comme pour l'antibiogramme, à partir d'une culture ayant au maximum 24heures, prélever des colonies et les submerger dans de l'eau physiologique stérile à 0.9% .bien homogénéiser le mélange afin d'avoir une opacité équivalente à 0.5 Mac Farland. L'ensemencement doit également se faire dans les 15 minutes qui suivent la préparation de l'inoculum.

✓ **L'ensemencement**

- Le milieu Mueller-Hinton est fondu et ramené en surfusion. puis couler 20ml sur chaque boîte de pétri.
- Après solidification, la surface de la gélose est ensemencée par écouvillonnage avec l'inoculum (voir ensemencement pour l'antibiogramme).

✓ **Préparation des disques d'aromatogramme**

- Les disques sont fabriqués à partir de papier Whatman (ou autre type de papier buvard), avec un diamètre de 5.5 mm, suivant le diamètre de l'emporte-pièce.
- Ensuite ils sont mis dans un tube à essai (ou plus si nécessaire), et stérilisés à l'autoclave à 120°C pendant 15minutes.
- Les disques sont imbibés de quelques gouttes des produits à tester dans notre cas, de l'extrait brut, de l'extrait méthanolique et aqueux.

✓ **Dépôts des disques**

A l'aide d'une pince stérile, prélever un disque imprégné de l'échantillon à tester et le déposer à la surface de la gélose, des disques imprégnés : de méthanol (témoin1) et un autre d'eau physiologique stérile (témoin2) sont également déposés. Ils serviront de témoins pour respectivement l'extrait méthanolique et aqueux. Ensuite, Les boîtes sont fermées et laissées à une température ambiante durant 30minutes pour permettre la diffusion des extraits. Enfin, elles sont mises à l'étuve à une température de 37°C pendant 24heures.

✓ **Lecture**

La lecture des résultats se fait par la mesure du diamètre d'inhibition, caractérisé par une zone n'ayant aucune croissance bactérienne autour du disque à l'aide d'un pied de coulisse ou règle en (mm).Les résultats sont exprimés par le diamètre de la zone d'inhibition et peut être symbolisé par des signes d'après la sensibilité des souches vis-à-vis des extraits (Hamidi, 2013).

- Non sensible (-) ou résistante : diamètre <8mm.
- Sensible (+) : diamètre compris entre 9 à 14mm.
- Très sensible (++) : diamètre compris entre 15 à 19mm.
- Extrêmement sensible (+++) : >20mm.

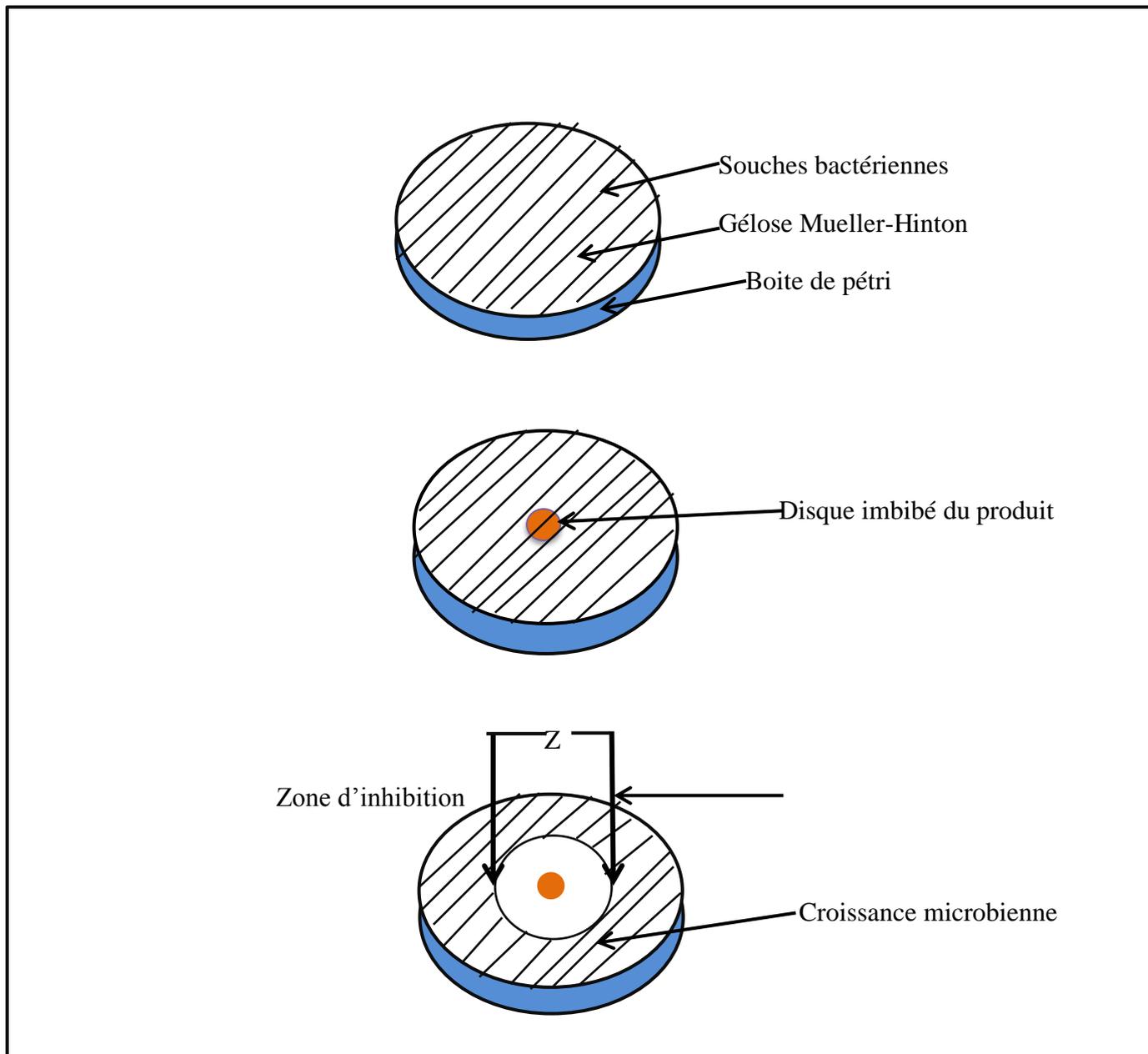


Figure III-7: illustration de la méthode des aromatoigrammes sur boite de pétri (Zaika, 1988).

Chapitre IV
Résultats et Discussions

I-Etude phytochimique

I.1-Test préliminaires de la composition chimique

Les résultats du criblage phytochimique ont représentés dans le tableau suivant :

Tableau IV -1 criblage phytochimique de l'ail.

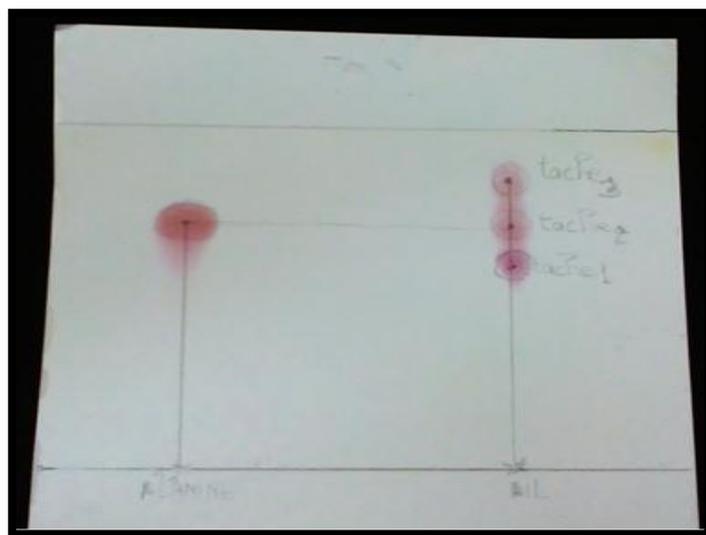
Composés	Alcaloïdes	tanins	Saponosides	flavonoïdes	Stérols et terpènes
observation	+	-	+	+	+

(-) : absence ; (+) : présence.

Les résultats du criblage phytochimique réalisé sur la poudre d'ail, ont révélé non seulement la présence des alcaloïdes, des flavonoïdes, des stérols et terpènes. Mais aussi, une présence de Saponosides en quantité importante. Par contre, il a été enregistré une absence totale de tanins dans la composition de la plante étudiée.

I.2-Chromatographie sur couche mince de la plante *allium sativum*

La chromatographie sur couche mince qui a été réalisé sur un support en silice avec un système de solvant : Ethanol- isopropanol- eau- acide acétique glacial (8 : 4 : 4 :4), a permis une excellente séparation des constituants du dépôt. Le chromatogramme était comme suit :



1-solution de référence : Alanine

2-solution à examiner : ail(*allium sativum L*)

Figure IV-1:chromatogramme de la poudre d'ail (*allium sativum L*).

La pulvérisation de la plaque par la ninhydrine a révélé l'existence de trois tâches pour l'échantillon à analyser avec des RF qui sont respectivement 0.50 ; 0.71 et 0.83.

En comparaison avec la solution de référence (l'alanine), il a été constaté que l'alliine correspondait à la seconde tâche ayant comme RF=0.71. **La figureIV-2**, illustre la distance parcourue par le solvant ainsi que celle parcourue par les composées.

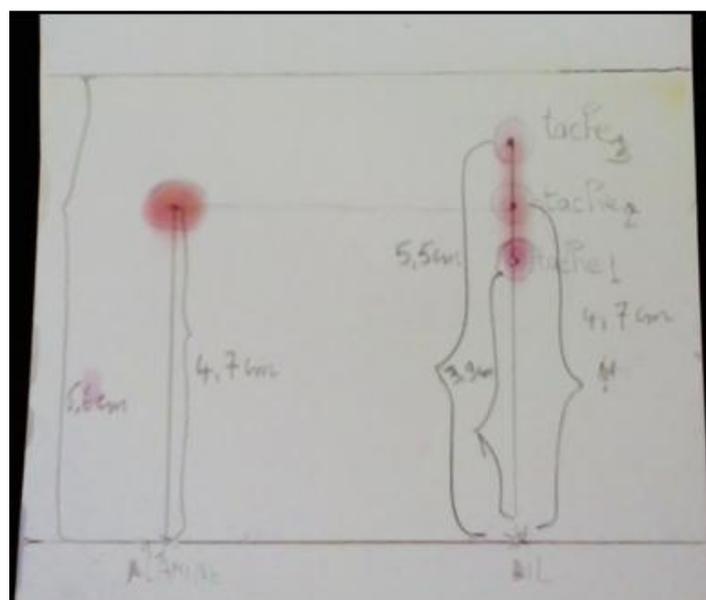


Figure IV -2: chromatogramme de l'ail (*allium sativum L*) avec illustration des distances parcourues

L'étude phytochimique effectuée sur la poudre de l'ail,a révélé en plus des métabolites secondaires cités précédemment, la présence de l'alliine.

II-Etude bactériologique

A-Caractères cultureux

A.1-Etude macroscopique

- Pour *E.coli* : sur gélose Hektoen, elle se développe en changeant la couleur du milieu en rouge. Les colonies étaient colorées en saumon.
- Pour *P.aeruginosa* : elle se développe en diffusant une coloration verte et dégageant une odeur caractéristique à la pyocyanine. Les colonies étaient de tailles moyennes, rondes, lisses, à contours réguliers.
- Pour *S.aureus* : Sur gélose Chapman, elle se développe en provoquant ainsi un virage de couleur de rouge en jaune par dégradation du mannitol. les colonies étaient lisses, rondes, bombées, brillantes et opaques. Elles étaient aussi pigmentées en jaune doré.

Les figures suivantes représentent l'aspect macroscopique des colonies des différentes souches.



Figure IV-3: Aspect des colonies d'*E.coli*
Sur gélose Hektoen

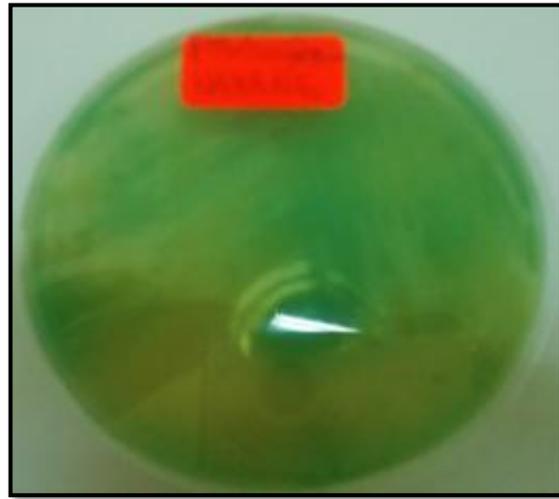


Figure IV-4:Aspect macroscopique de *P.aeruginosa*
sur gélose nutritive.

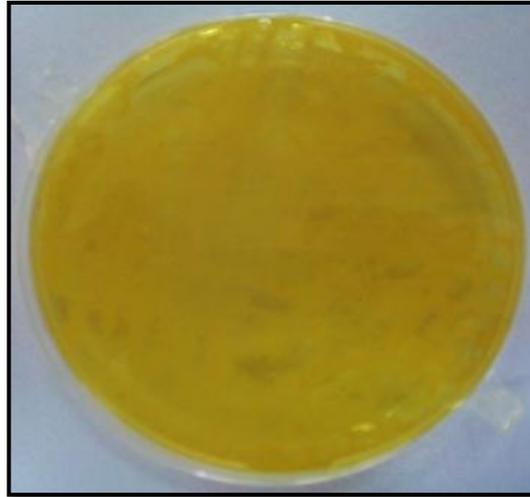


Figure IV-5: Aspect macroscopique de *S.aureus* Sur gélose chapman

A.2- Etude microscopique

A.2.1-Examen à l'état frais

L'état frais a montré la présence:

- Pour *E.coli* :des bacilles, allongés.
- Pour *P.aeruginosa* : de bacilles droits, fins et mobiles.
- Pour *S.aureus* :Cocci ayant la forme de grappes de raisin.

A.2.2-Examen après coloration de Gram

Après coloration de Gram, l'observation microscopique a révélé la présence :

- Pour *E.coli* : des bacilles à gram négatifs de couleur rose.
- Pour *S.aureus* :de cocci à Gram positif, isolés ou groupés en amas ayant la forme de grappes de raisin de couleur violette.
- Pour *P.aeruginosa* : des bacilles de couleur rose donc à Gram négatifs , isolés, parfois regroupés en diplobacilles.

Le tableau IV -3, resume les resultats de l'examen apres coloration de Gram.

Tableau IV-3:Résultats de l'examen microscopique après coloration de Gram.

Espèces bactériennes	Milieu de culture	Gram	Aspect microscopique
<i>E. coli</i>	Gélose Hektoen	Négatif	Coccobacille en couleur rose
<i>P.aeruginosa.</i>	Gélose nutritive	Négatif	Bacilles en couleur rose
<i>S. aureus</i>	Gélose Chapman	Positif	Coccus en grappe de raisin en couleur violette

B-Tests biochimiques

Tableau IV- 2 : Résultat des tests biochimiques

Espèces bactériennes	Catalase	Oxydase	pigments
<i>E. coli</i>	/	-	N.R
<i>P.aeruginosa.</i>	+	+	Pyocyanine et pyoverdine
<i>S. aureus</i>	+	+	N.R

N.R : non recherché

III-Etude de l'activité antibactérienne

III.1- La souche *E. Coli*

Cette bactérie a présenté une forte sensibilité aux extraits testés à l'exception de l'extrait aqueux pour lequel, elle était résistante. Pour ce qui est des antibiotiques elle était résistante vis-à-vis des certains et sensible aux autres.

Tableau IV-4 Diamètres d'inhibitions des extraits testés et des antibiotiques chez *E.coli*.

Les extraits d'ail et les antibiotiques	Sensibilité	Inhibition Ø (mm)
Extrait brut d'ail	Sensible	35
Extrait méthanolique	Sensible	20
Extrait aqueux	Résistante	/
GM : Gentamicine	Sensible	15
FA : Acide fusidique	Résistante	7
RA : Rifampicine	Sensible	20
DO : Doxycycline	Résistante	7
TE : Tétracycline	Résistante	7

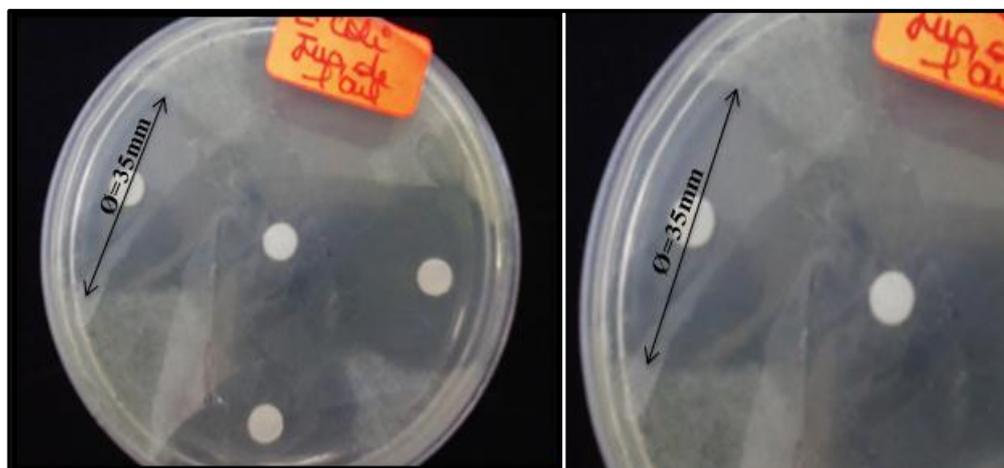


Figure IV-6 :effet de l'extrait brut sur *E.coli*.

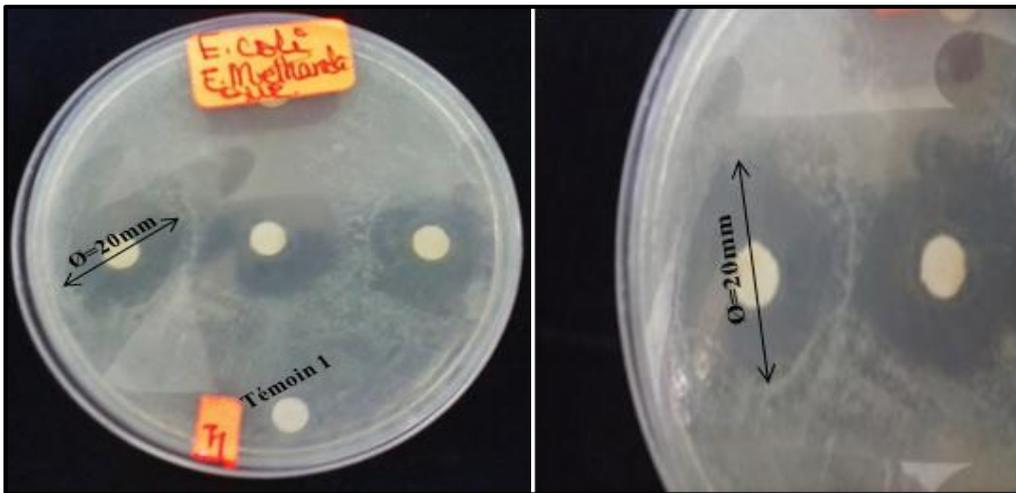


Figure IV -7: effet de l'extrait méthanolique sur *E.coli* ainsi que le témoin1.

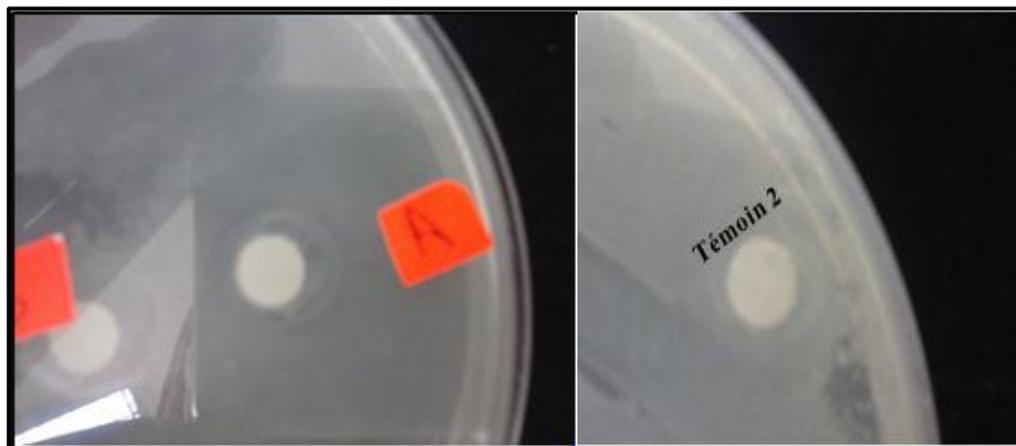


Figure IV-8: effet de l'extrait aqueux sur *E.coli* ainsi que le témoin2.

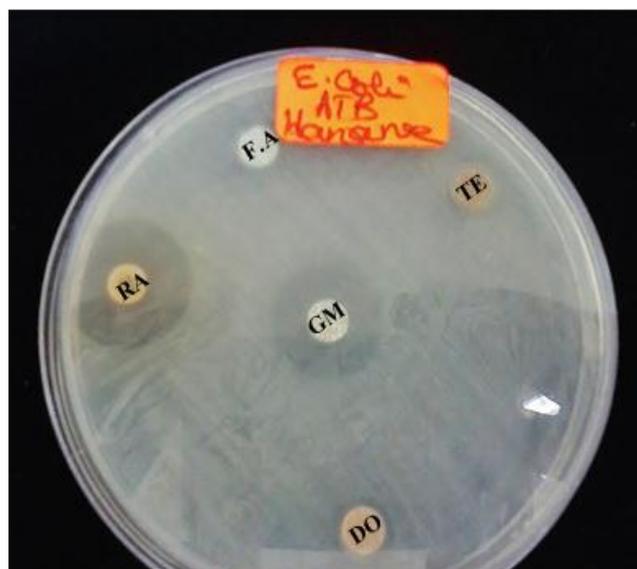


Figure IV-9: l'antibiogramme de la souche *E.coli*.

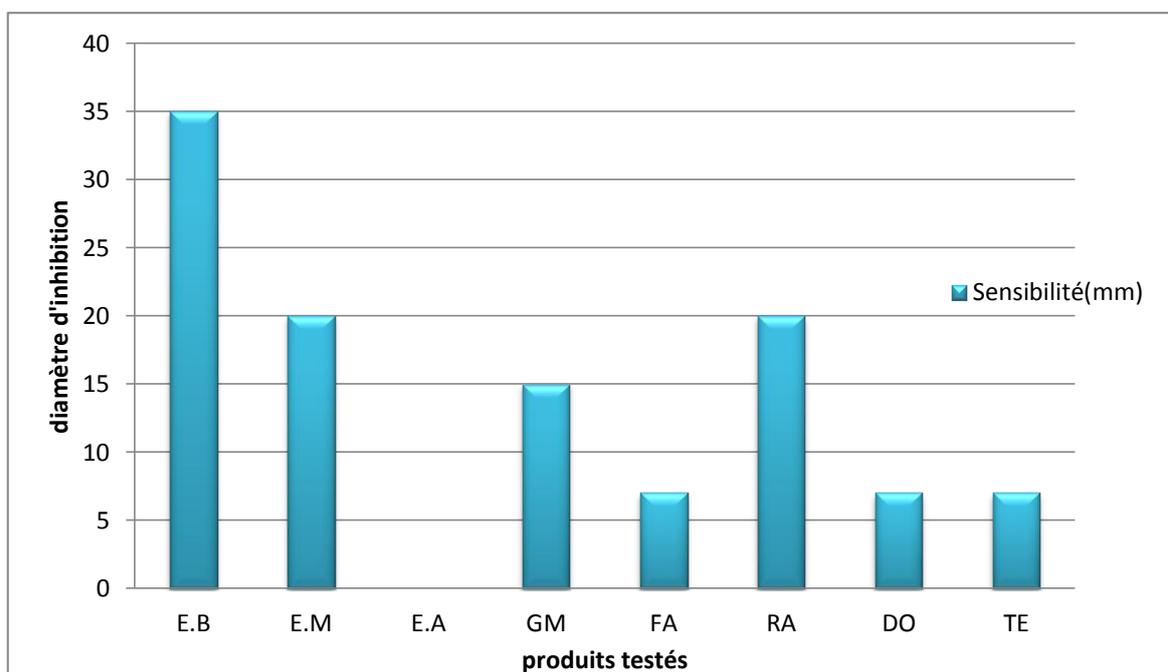


Figure IV-10.Présentation graphique des différents produits testés sur *E.coli*.

Les résultats ont montré clairement que la bactérie *E. coli* s'était avérée extrêmement sensible vis-à-vis de l'extrait brut (jus de l'ail) qui avait donné une auréole

D'inhibition de 35 mm de diamètre. Il en est de même pour l'extrait méthanolique qui avait donné un diamètre assez important de 20mm. Pour ce qui est de l'extrait aqueux, la souche bactérienne avait présenté une résistance. Les antibiotiques quant à eux, seule la rifampicine et la gentamicine avaient un effet antibactérien contre *E.coli* avec des diamètres d'inhibitions respectives de 20 mm et 15mm.

A titre comparatif, les extraits aqueux et méthanolique ont montré une activité antibactérienne plus élevées par rapport aux antibiotiques testés. Cependant, il y avait une égalité du diamètre d'inhibition (20 mm) pour l'extrait méthanolique et la rifampicine.

III.2-la Souche *P. aeruginosa* :

Cette bactérie a montré une sensibilité uniquement vis-à-vis de l'extrait méthanolique, elle est résistante aux autres extraits. En ce qui concerne les antibiotiques, elle en été sensible chez les uns et résistantes chez les autres.

Tableau IV-5:Diamètres d'inhibitions des extraits testés et des antibiotiques chez *P.aeruginosa*.

Les extraits d'ail et les antibiotiques	Sensibilité	Inhibition Ø (mm)
Extrait brut d'ail	Résistante	5
Extrait méthanolique	Sensible	10
Extrait aqueux	Résistante	/
GM : Gentamicine	Sensible	15
FA : Acide fusidique	Résistante	8
RA : Rifampicine	Résistante	16
DO : Doxycycline	Résistante	14
TE : Tétracycline	Résistante	9



Figure IV-11:effet de l'extrait brut sur *P.aeruginosa*.

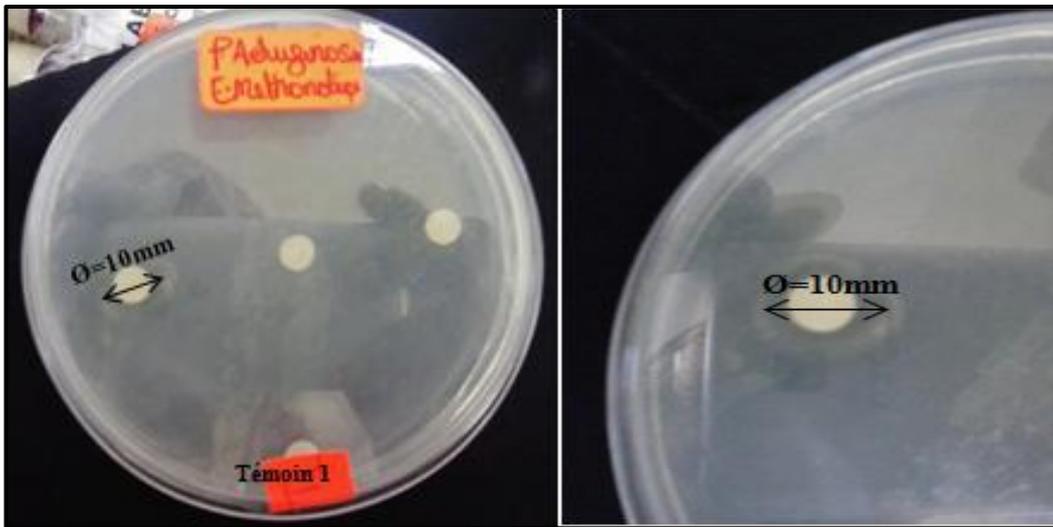


Figure IV-12: effet de l'extrait méthanolique sur la souche *P.aeruginosa* ainsi que le témoin1.

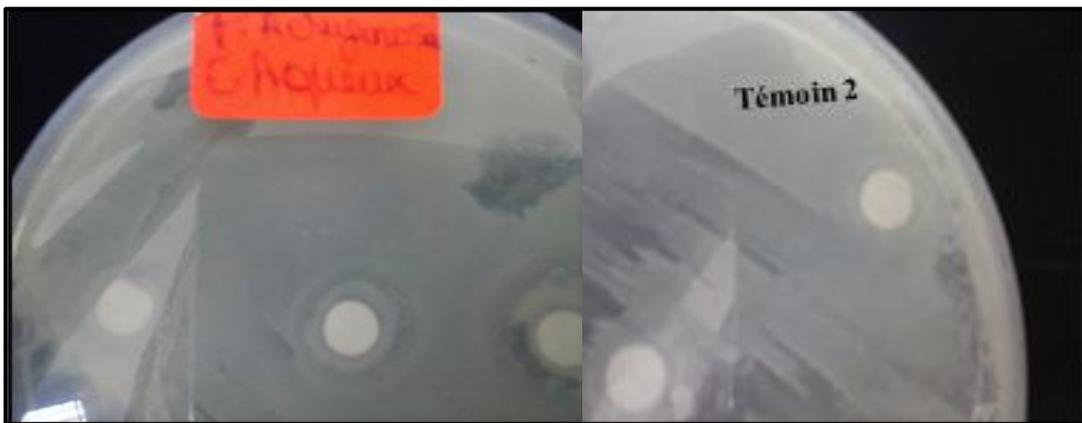


Figure IV-13: Effet de l'extrait aqueux sur *P.aeruginosa* ainsi que le témoin2.



Figure IV-15: l'antibiogramme de la souche *P.aeruginosa*.

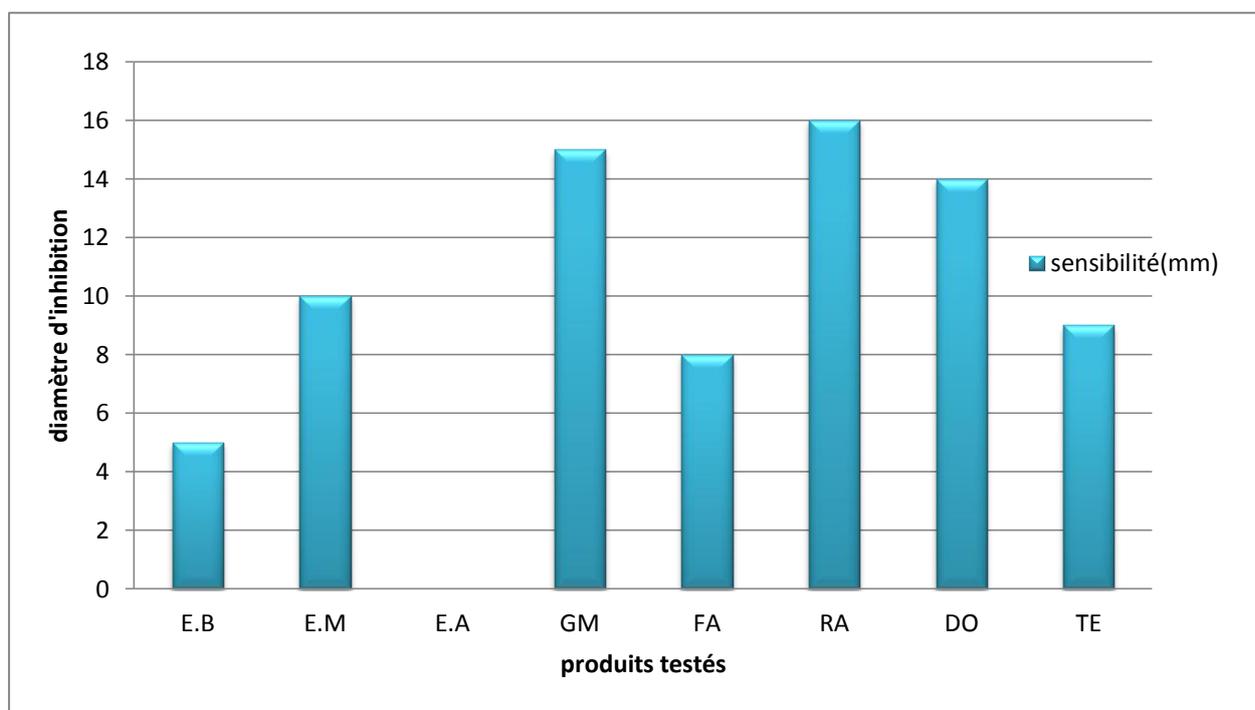


Figure IV-16 : présentation graphique des produits testés sur *P.aeruginosa*.

Les résultats obtenus ont montré que la souche *P.aeruginosa* avait une sensibilité vis-à-vis de l'extrait méthanolique avec un diamètre d'inhibition de 10 mm. Pour l'extrait brut, elle en était résistante avec un faible halo d'inhibition de 5mm de diamètre et d'aucune inhibition pour l'extrait aqueux.

En ce qui concerne les antibiotiques, elle n'était sensible qu'à la gentamicine avec un halo d'inhibition de 15mm. Il a été constaté ici, que les antibiotiques testés étaient plus actifs vis-à-vis de la souche *p.aeruginosa* par rapport aux différents extraits.

III.3- La souche *S.aureus*:

Cette souche a également présenté une sensibilité qu'à l'extrait méthanolique. Elle était résistante aux autres extraits (brut et aqueux). Pour ce qui est des antibiotiques elle était résistante vis-à-vis des certains et sensible vis-à-vis des autres.

Tableau IV-6 : Diamètres d'inhibitions des extraits testés et des antibiotiques chez *S.aureus*.

Les extraits d'ail et les antibiotiques	Sensibilité	Inhibition Ø (mm)
Extrait brut d'ail	Résistante	6
Extrait méthanolique	Sensible	9
Extrait aqueux	Résistante	/
GM : Gentamicine	Sensible	19
FA : Acide fusidique	Résistante	12
RA : Rifampicine	Sensible	33
DO : Doxycycline	Résistante	17
TE : Tétracycline	Résistante	10

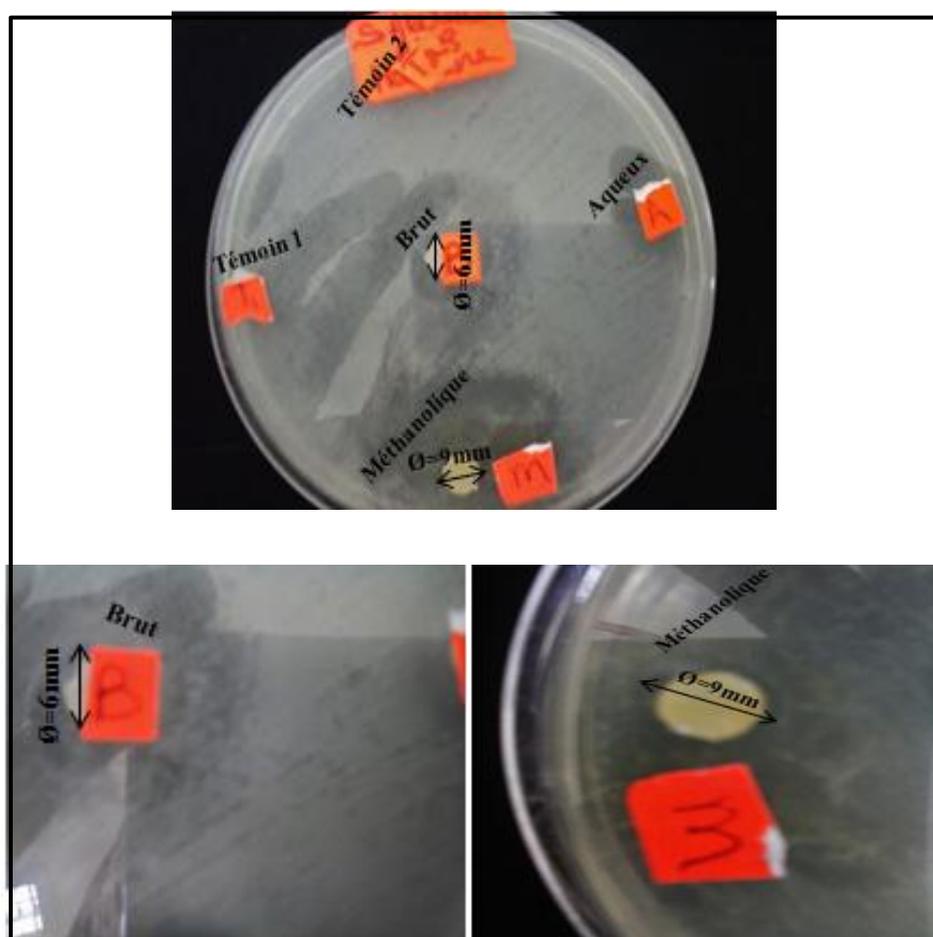


Figure IV-17: effet des trois extraits sur la souche *S.aureus* ainsi que les témoins.

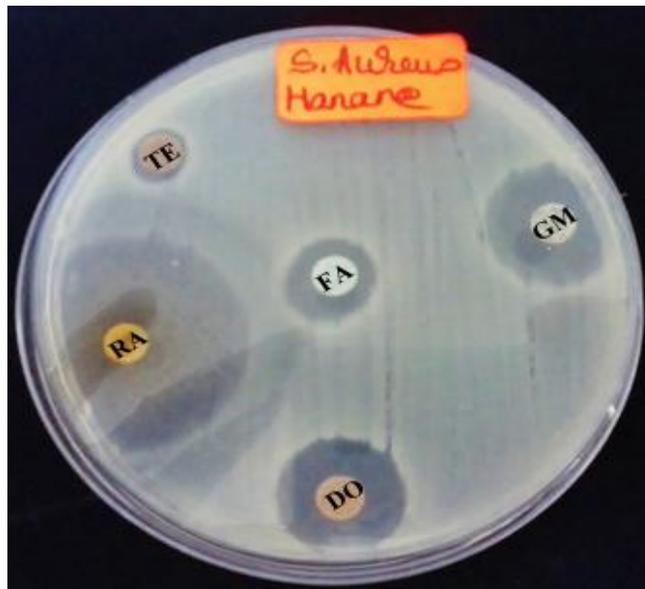


Figure IV-18: l'antibiogramme de *S.aureus*.

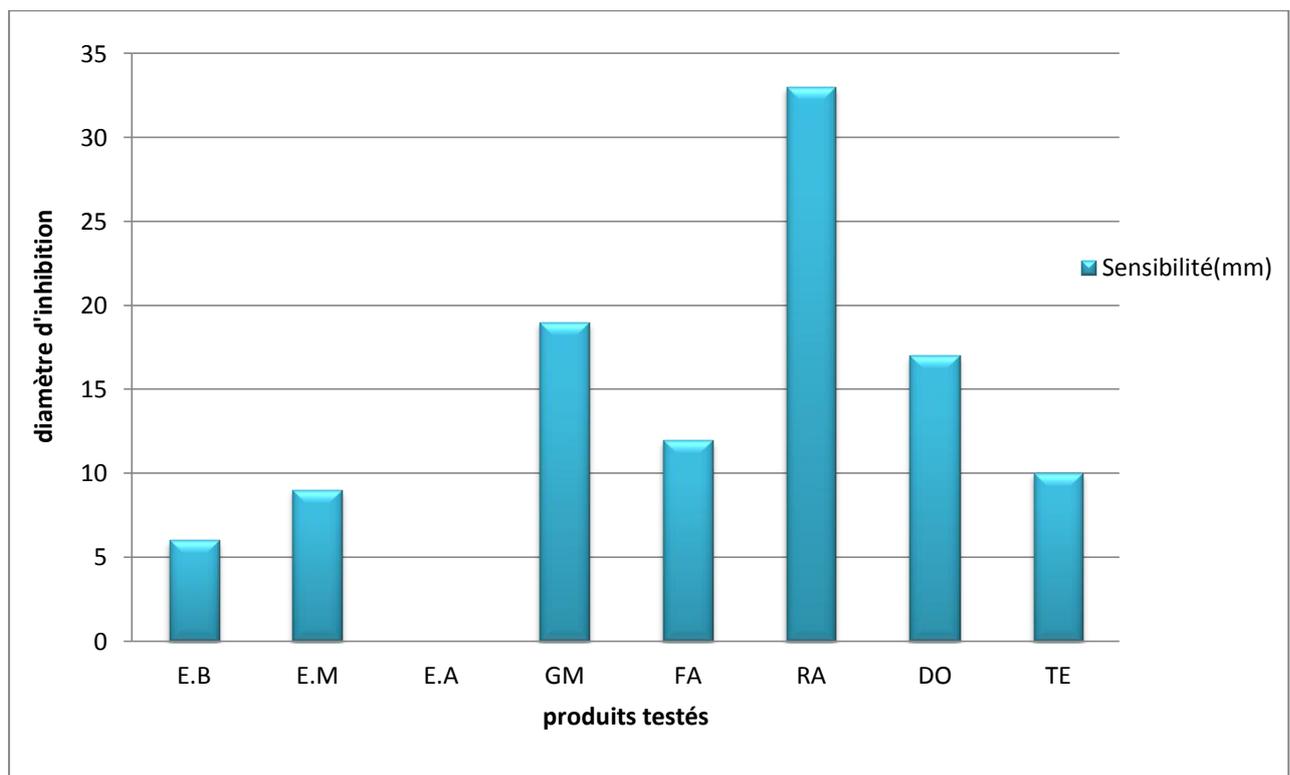


Figure IV-19: présentation graphique des produits testés sur *S.aureus*.

Les résultats obtenus ont montré une sensibilité de la souche vis-à-vis de l'extrait méthanolique avec un auréole d'inhibition de 9mm. Et il n'y avait aucune sensibilité vis-à-vis de l'extrait aqueux et elle a été aussi résistante à l'extrait brut avec un diamètre d'inhibition faible de 6mm. Pour ce qui est des antibiotiques, que la gentamicine et la rifampicine avaient un effet inhibiteur avec des diamètres d'inhibition respectives de 19 et 33mm. Les antibiotiques testés avaient une activité antibactérienne plus importante que celles des différents extraits d'ail.

La thérapeutique des infections bactériennes se base principalement sur l'usage des antibiotiques dont la prescription à grande échelle et/ou parfois inappropriée, ces agents antibactériens peuvent entraîner la sélection de souches bactériennes multirésistantes d'où l'importance d'orienter les recherches vers les plantes médicinales qui constituent une source pour des nouvelles molécules à activité antibactérienne afin de limiter l'apparition de ce phénomène de multirésistance (Larousse, 2001).

Au cours des derniers décennies, les chercheurs ont publié plus de 2000 travaux scientifiques (Lefrançois, 2006) portant sur le potentiel thérapeutique de l'ail (*allium sativum L*) qui est l'une des plantes les plus répandues dans la médecine traditionnelle et la plus largement citée dans la littérature pour ses propriétés médicinales (Camille, 1998).

Les résultats de l'étude phytochimique réalisés sur la poudre d'ail (*allium sativum L*) ont montré la présence d'alkaloïde, des flavonoïdes, des saponosides, des stérols et des terpènes. Ces résultats sont en accord avec ceux de **Lachman et al (2003)** ; **Dini et al (2005)** et de **Lanzotti (2006)**. Ces derniers ont attesté que les espèces du genre *allium*, sont très riches en composés bioactifs comme les acides aminés, les flavonoïdes, les Saponosides et les stérols.

Plusieurs travaux de **Dini et al (2005)** et de **Lanzotti (2006)** ont montré des activités biologiques importantes des saponines et des flavonoïdes isolées à partir de plusieurs espèces d'*Allium*. Mais le plus intéressant des composés de l'ail reste l'alliine, cet acide aminé dérivé de la cystéine et qui n'existe qu'à l'état libre. Selon **Kourounakis (1991)**, l'alliine n'a pas d'effet sur la santé, excepté un pouvoir anti-oxydant.

Cependant, cette dernière est le précurseur d'une molécule volatile d'un grand intérêt par sa transformation, sous l'effet de l'alliinase en allicine, par une réaction enzymatique et cela quand l'ail est coupé ou écrasé. L'allicine se transforme, après oxydation à l'air, en disulfure d'allyle.

L'allicine est le thiosulfinate prédominante dans l'ail, ayant l'aspect d'un liquide huileux, jaunâtre et responsable d'une odeur caractéristique et a un effet antibactérien. Par ses propriétés biologiques, médicinales et organoleptiques selon **Arnault et al(2005)**.

Tout comme les antibiotiques, l'allicine a sa cible au niveau de la bactérie. Selon **Feldberg et al (1988)**, cette dernière s'est avéré inhiber partiellement l'ADN et la synthèse des protéines, mais l'effet sur la synthèse d'ARN a été immédiat, ce qui suggère qu'elle pourrait être une cible primaire de l'action de l'allicine.

Selon également **Bhandari (2012)**, Elle exerce une activité antibactérienne par inhibition totale et immédiate de la synthèse de l'ARN, même si la synthèse de l'ADN et des protéines soit aussi partiellement inhibée. Ceci prouve que la principale cible d'action de l'allicine est l'ARN.

Il a souvent été observé que l'allicine modifie les enzymes contenant le groupement -SH tels que l'alcool déshydrogénase, la thiorédoxine réductase et l'ARN polymérase. D'où son effet antimicrobien par la réaction chimique qui s'opère avec le groupe des thiols de ces différentes enzymes (Ankri *et al.*, 1997 ; Ankri et Mirelman, 1999). Les constatations qui ont été faite par **Pail Goltz et Kamel Ghedira (2012)** suggèrent que l'allicine agit en provoquant un changement du profil lipidique de la membrane cellulaire.

D'après **Ozolin *et al* (1990)**, l'ARN polymérase d'*E. Coli*, dans sa sous-unité alpha, contient un groupe sulfhydryle unique qui a montré une réactivité avec le dérivé de fluorescéine monomercuric, un réactif spécifique pour les groupes thiols (fluorescéine monomercuracetate). Cela donne à penser que l'ARN polymérase pourrait être une cible pour l'allicine.

La même observation a été faite par **Cavallito *et al* en 1944**, Ils conclurent que cette activité peut être attribuée à une interaction entre l'allicine et les SH présent dans les enzymes.

Des études antérieures menées par **Naganawa *et al* (1996)** sur les métabolites de l'ail ont montré une activité antibiotique pour l'ajoène et disulfure de diallyle, mais pas pour le sulfure d'allyle ce qui suggère que les liaisons disulfures peuvent être importantes pour l'effet antimicrobien.

Le mode de préparation de l'extrait d'ail influence sur l'évaluation de l'activité antibactérienne, qui varie d'un extrait à un autre. Selon par **Pail Goltz et Kamel Ghedira (2012)**, la composition chimique de l'allicine varie selon la nature de l'extrait c'est à dire dans les essences, extrait huileux et alcooliques la composition chimique était variable ; Cependant, il a été constaté que l'ail exerce une activité antibactérienne ce qui concorde avec les études réalisées par **Adetumbi *et al* (1983)**, **Koch(1993)** et **Hughes *et al* (1991)**, qui soutiennent également que cette plante exerce une activité antimicrobienne à large spectre vis-à-vis de nombreuses espèces des bactéries, virus, parasites, protozoaires et les champignons.

Pour l'extrait aqueux, aucune activité antibactérienne n'a été observée sur les souches testées. Cela était sans doute dû à l'instabilité des composées du matériel végétal et des variations qui subviennent lors de la préparation des extraits et qui faisaient que ce dernier était dépourvu des composées ayant une activité antibactérienne.

En se basant sur ce qui a été rapporté par **cantwell (2000)**, l'alliine est relativement stable à la chaleur et à la sécheresse, tandis que l'allicine ne l'est Pas. Une constatation faite lors d'une

étude chromatographique en phase gazeuse (Brodnitz, 1971) avait indiqué la décomposition relativement rapide de cette molécule dans les extraits aqueux d'ail (Lawson, 1991). Selon **Cantwell (2000)** de fortes variations dans les activités biologiques de la poudre d'ail, sont donc observées en fonction de leur mode de préparation. Sachant que L'allicine est partiellement soluble dans l'eau étant plus soluble dans l'alcool. Ce qui justifie sans doute l'absence d'activité antibactérienne de l'extrait aqueux.

Les résultats obtenus concordent avec ceux de **Boudjehem et al (2011)** qui ont testé l'extrait aqueux sur les souches *E.coli*, *P.aeruginosa* et *S.aureus*. Aucune sensibilité à l'égard de l'extrait n'a été observée.

En ce qui concerne l'extrait brut (le jus fraîchement préparé de l'ail), il a exercé un pouvoir antibactérien important sur quelque une des souches testées. Cela, a été dû à l'allicine qui dérivait de l'alliine sous l'action de l'enzyme alliinase lors de l'écrasement des bulbes d'ail. Les mêmes constatations ont été enregistrées par **Cavallito et al (1944)** qui ont attribué les propriétés antibactériennes de l'homogénats des gousses d'ail à l'allicine.

L'extrait méthanolique a exercé un pouvoir antibactérien remarquable sur toutes les souches testées. Cela a été dû au disulfure de diallyle. Dans la présente étude, cette molécule a été obtenu lors du traitement à la vapeur d'eau dans le rota vapeur après l'avoir mélangé avec un solvant (le méthanol). **Robinson (1991)** avait affirmé que cette molécule survenait à travers des transformations secondaires provoquées par des enzymes de la plante et la chaleur de distillation.

Escherichia. Coli s'est avéré extrêmement sensible aux extrait brut et méthanolique ; cela a été du aux principes actifs de ses deux extraits qui sont respectivement : l'allicine et le disulfure de diallyle.

Ces résultats sont en accord avec ceux de **Hughes et al (1991)**, qui ont confirmé une sensibilité à l' homogénat de gousse d'ail ainsi que des composés apparentés à l'ail vis à vis *Escherichia coli*.

La souche *Staphylococcus aureus* a été sensible à l'extrait méthanolique. Il a été conclu que le disulfure de diallyle avait présenté une certaine facilité d'inhibition de la souche. Ce qui a été appuyé par **Tsao et al en 2003**, le disulfure de diallyle a une puissante fonction protectrice contre l'infection par MRSA (*staphylococcus aureus* résistante à la methicilline), ce dernier pouvait être considéré comme un nouveau facteur de traitement des infections par MRSA et des *staphylococcus aureus* résistante en générale.

La souche *Pseudomonas aeruginosa* a la réputation d'être très résistante à toutes sortes d'agents antimicrobiens et antibiotiques en général. Il est établi que le traitement de telles bactéries nécessite des concentrations considérables d'agents antimicrobiens (Fleurette et *al.*, 1995).

C'est la raison pour laquelle sa sensibilité à l'extrait méthanolique, n'était pas aussi importante que celle de l'*E.coli*. Elle s'est avérée sensible à l'extrait méthanolique (disulfure de diallyle) et résistante à l'extrait brut. Ceci a été affirmé par **Lu et ses collègues** en **2012**, qui ont observé la capacité du disulfure de diallyle à tuer les bactéries résistantes aux antibiotiques.

Les bactéries à Gram positives sont dépourvues de protéines dans leurs parois cellulaires, tandis que ceux à Gram négatives en ont environ 9% dans leurs parois. Et comme le prouvent les études que l'activité antibactérienne de l'allicine est complètement abolie par la cystéine, le glutathion et la coenzyme A (Fujisawa, 2009). Dans ce cas, les protéines empêchent l'entrée en abondance dans la cellule du fragment S-allyl clivé de l'allicine. Et donc la souche *E. Coli* riche en protéines devrait être moins sensible à l'allicine que *S.aureus* riche en peptidoglycane.

Cependant, les résultats obtenus sont en parfaite contradiction avec cela. On peut expliquer ces divergences d'une part que les Gram positifs n'ont pas de protéine à leur paroi, à l'exception de *staphylococcus aureus* possédant une protéine A [3]. Mais d'autre part en s'appuyant à ce qui a été rapporté par **Leclerc et al (1995)**, le pouvoir antibactérien des constituants actifs de l'ail est puissant sur plusieurs bactéries à gram négatif et intermédiaire ou faible sur les bactéries à gram positif, à cause de la différence de la composition chimique de la paroi de deux groupes bactériens. Les bactéries à gram négatif ont une paroi qui permet la pénétration des molécules lipophiles 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.

Il est à noter que les éléments actifs de l'ail sont des composés organosoufrés liposolubles facilitant ainsi leur pénétration.

La cible d'action des antibiotiques qui ont fait l'objet de cette étude sont les suivants :

- ✓ Acide fusidique : c'est un inhibiteur de la synthèse protéique chez les bactéries. Il bloque la traduction en se liant au facteur d'élongation EF-G. Ceci bloque la translocation ou progression du ribosome sur l'ARN messager [16].

- ✓ Gentamicine : agit en se liant à l'ARN ribosomique au site A du ribosome bactérien, qui est le site de décodage des codons de l'ARN messager. La fixation de la gentamicine augmente fortement le taux d'erreur de lecture par le ribosome, ce qui provoque la synthèse de protéines anormales, dont l'accumulation est létale pour la cellule [18].
- ✓ Rifampicine : Elle agit en se liant à l'ARN polymérase des bactéries et en inhibant ainsi la transcription des ARN messagers [19].
- ✓ Tétracycline et doxycycline : empêche la fixation de l'aminoacyl-ARNt entrant dans le site A du ribosome [17,20].

Parmi les antibiotiques testés, seule la rifampicine a un mode d'action à peu près semblable à celui de l'allicine et du disulfure de diallyle. Selon les résultats obtenus, c'est uniquement chez *E.coli* que l'allicine s'est avérée plus efficace que la rifampicine et le disulfure de diallyle avait le même effet inhibiteur que la rifampicine.

Conclusion et perspectives

Conclusion

A la lumière des résultats obtenus, il a été conclu que :

Le matériel végétal est constitué de l'alliine l'une des principale composée active de l'ail qui est le précurseur de l'allicine qui, à son tour va engendrer le disulfure de diallyle. Il est doté aussi d'une richesse en métabolites secondaires à savoir les Saponosides, les alcaloïdes, les flavonoïdes, des stérols et terpènes.

L'évaluation de l'activité antibactérienne des trois extraits d'ail vis à vis des souches : *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* et *staphylococcus aureus*, par la méthode d'aromatogramme a révélé que la nature de la souche et le mode de préparation des extraits ont une influence sur les résultats de mesure de l'activité antibactérienne.

La composition chimique de la paroi des Gram négatifs facilite la pénétration des principes actifs de l'ail grâce à la présence des LPS (lipopolysaccharides) qui permettent l'entrée en ampleur des molécules lipophiles.

Les composés soufrés extraits dans l'ail varient selon leur mode de préparation: avec l'extrait brut, le principe actif est l'allicine et pour l'extrait méthanolique, le disulfure de diallyle.

L'allicine certes exerce un pouvoir antibactérien plus élevé par rapport à celui du disulfure de diallyle, mais ce dernier outrepassé les résistances imposées par les bactéries. Ce qui rend le pouvoir antibactérien de l'extrait méthanolique encore plus efficace que celui de l'extrait brut.

Donc l'ail, en particulier l'extrait méthanolique possède un réel potentiel dans la lutte contre les bactéries résistantes aux antibiotiques.

Perspectives

Ces résultats ne sont qu'un début à l'étude de l'activité antibactérienne de l'ail, elles peuvent être exploités pour :

- la détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) et concentration minimale bactéricide (CMB) des extraits d'ail.
- L'évaluation du pouvoir antibactérien des extraits d'ail vis à vis d'autres bactéries.
- Pour la purification du principe actif qui est l'alliine.
- Pour une étude plus avancée sur l'activité antibactérienne de l'ail in vivo afin de s'assurer que ces composées sont biologiquement actives dans l'organisme.
- Pour déterminer la genotoxicité de ses extraits et préciser ainsi les doses adéquates sur des modèles animaux.

Références

References bibliographiques

A

Adetumbi MA and Lau BH. *Allium sativum*– a natural antibiotic. *Med Hypothesis*; 1983,12: 227-337.

Akroum, Souad. Etude des propriétés biochimiques des polyphénols et tannins issus de *rosmarinus officinalis* et *vici faba l.* mémoire de magister en biochimie et microbiologie appliquée. Constantine: université Mentouri, 2006, 97p.

Amagase H, Petesch BL, Matsuura H, Kasuga S and Itakura Y. Intake of garlic and its bioactive components. *Journal of Nutrition*, 2001,131, 955s-962s.

Ankri S, Miron T, Rabinkov A, Wilchek M, and Mirelman D. *Antimicrob. agents chemother.* 1997,41, 2286-2288.

Ankri S and Mirelman D. *microbes infect.* 1999,1, 125-129.

Ariga T., Tsuji K., Seki T., Moritomo T., Yamamoto J. Antithrombotic and antineoplastic effects of phyto-organosulfur compounds. *Biofactors*, 2000,13(1-4) : 251-255.

Arnault I., T. Haffner, M.H. Siess, A. Vollmard, R. Kahane & J. Auger.- Analytical method for appreciation of garlic therapeutic potential and for validation of a new formulation. *J. Pharm. Biomed. Anal*, 2005, 37, 963-970.

B

Belaiche, P. Traité de phytothérapie et d'aromathérapie, tome I, Ed. Maloine S.A., 1979, p.136.

Benhamza L. effets biologiques de la petite centrale uree *Erythraea centaurium (L.)pers.* Anatomie pathologique/pharmacologique. Thèse de doctorat. Université mentouri-constantine. Algérie, 2008,130p.

Benzeggouta, N. Étude de l'activité antibactérienne des huiles infusées de quatre plantes médicinales connues comme aliments. Mémoire de magister en pharmacologie. Constantine : université Mentouri de Constantine, 2005, 153p.

Block E. The organosulfur chemistry of the genus *Allium*. Implications for the organic chemistry of sulphur. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl*, 1992, 31 (9) 1135-1178.

Bruneton J. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Techniques et Documentations Lavoisier., 1999.

Burdock GA .Fenaroli's Handbook of Flavor Ingredients. Volume I, 3e Edition CRC Press, 1995.

C

Camille D. Microbiologie, 90 heures de travaux pratiques, enseignement, 1998.

Camille D., Bernard T. Surveillance sanitaire et microbiologique des eaux, réglementation-prélèvement-Analyse, 2003.

Cantwell M. Alliin in Garlic. *Perishables Handling Quarterly*, 2000, 102: 5-6.

Cavallito CJ and Bailey JH. Allicin, the antibiotic principle of *Allium sativum*.

Isolation, physical properties and antibacterial action. *J Am Chem Soc*, 1944, 66:1950-1951.

chaux cl., foury cl., Production légumière - tome1 Généralités (série Agriculture d'aujourd'hui)

Edition Tec et Doc Lavoisier Paris, Londres, New York, 1994.

Chiang Y., Jen L., Su H., Lii C., Sheen L., Liu C. Effects of garlic oil and two of its major organosulfur compounds, diallyl disulfide and diallyl trisulfide, on intestinal damage in rats injected with endotoxin. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 2006, 213 (1) : 46-54.

Chung L.Y., The antioxidant properties of garlic compounds: allyl cysteine, alliin, allicin, and allyl disulfide. *Journal of Medicinal Food*, 2006, 9 (2): 205-213.

Clementj.m., « Larousse agricole » Librairie Larousse Paris, 1981, p1208.

D

Daif, N. L'ail, *Allium sativum L.* (Liliacées) : de la tradition à ses perspectives en thérapeutique moderne Th. : Pharm. : Nancy 1 : 1993 ; 12,104 f.

Damrau F., Ferguson E.A. The Modus Operandi of Carminatives: The Therapeutic Value of Garlic in Functional Gastrointestinal Disorders. *The American Journal of Gastro enterology*, 1949, 16(5):411-419.

Delarras C. Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyse ou de contrôle sanitaire. *Technique et documentation*. Lavoisier, Paris, 2007.

Dethier, B. Contribution à l'étude de la synthèse de l'alliine de l'ail.

Mémoire de master : bioingénieur en chimie. Liège : université de Liège, 2010, 238p.

Diallo, D. "Etnopharmacological survey of medicinal plants in Mali and phytochemical study of four of them: *Glinus oppositifolius* (Azoaceae), *diospyros abyssinica* (Ebenaceae), *Entada*

Africana (Mimosaceae), *Trichilia emetic* (Meliaceae)”. Thèse de Doctorat de Recherche, Faculté des sciences de l’université de Lausanne. 2000. Lausanne suisse.

Dini I., G.C. Tenore, E. Trimarco & A. Dini. Furostanol saponins in *Allium cepa* L. var. *tropeana* seeds. *Food Chem*, 2005, 93, 205-214.

Dohou, N., Yamni, K and Tahrouch, S. Screening phytochimique d’une endémique ibéro-Marocaine, *Thymelaea lythroides*. *Bull Soc Pharm. Bordeaux*; 2003, 142:61-78.

Duwx., Olsen c.w., Avena-bustillos, R.J., Mchugh T.H., Levin C.E., Mandrell r., Friedman m. Antibacterial Effects of Allspice, Garlic, and Oregano Essential Oils in Tomato Films Determined by Overlay and Vapor- Phase Methods. *Journal of Food Science*, 2009, 74(7): M390-M397.

Dwivedi C, John LM, Schmidt DS and Engineer FN Effects of oil-soluble organosulfur compounds from garlic on doxorubicin-induced lipid peroxidation. *Anti-Cancer Drugs*, 1998, 9, 291-294.

E

Egen-Schwind C, Eckard R and Kemper FH. Metabolism of garlic constituents in the isolated perfused rat liver. *Planta Medica*, 1992, 58, 301-305.

Egen-Schwind C, Eckard R, Jekat FW and Winterhoff H. Pharmacokinetics of vinyl dithiins, transformation products of allicin. *Planta Medica*, 1992, 58, 8-13.

Elnima EI, Ahmed SA, Mekkawi AG and Mossa JS. The antimicrobial activity of Garlic and onion extracts. *Pharmazie*, 1983, 38 (11) 747-748.

F

Fauchère, J.-L. et J.-L. Avril. "Bactériologie générale et médicale" Ellipses Editions Paris, 2002, 365.

Feldberg R.S., Chang S.C., Kotik A.N., Nadler M., Neuwirth Z., Sundstorm., Thompson N.H. In vitro mechanism of inhibition of bacterial cell growth by allicine, *Antimicrob. Agents chemother*, 1988, 1763-1768.

Fernandez M. De quelques plantes dites médicinales et leurs fonctions, Editions Aenigma, 2003, P9.

Fleurette, J., J. Freney, et al. "Antiseptie et désinfection".1995.

Fujisawa, H., K. Watanabe, Suma K., Origuchi K., Matsufuji H., Seki T., Ariga T. Antibacterial Potential of Garlic-Derived Allicin and Its Cancellation by Sulfhydryl Compounds.*Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, 2009, 73(9): 1948-1955.

G

Garnier D. Dictionnaire des termes de médecine. Editions Maloine, Paris, 1992.

Girre L. Les plantes et les médicaments: l'origine végétale de nos médicaments Paris: Delachaux et Niestlé, 2001, 253 p.

Grun-Thomas, Stéphanie Etude de trois plantes médicinales et condimentaires : l'ail, le safran, le romarin Th. : Pharm. : Nancy 1 : 1998 ; 63., 137 f.

Gorinstein S, Leontowicz H, *et al.* Raw and boiled garlic enhances plasma antioxidant activity and improves plasma lipid metabolism in cholesterol-fed rats. *Life Sci*, 2006, 78(6):655-63. 7

Guenther E. The essential oils Volumes II, IV and VI. Robert E Krieger Publishing, 1975-1977.

H

Hamidi, Abdelrazag. Etude phytochimique et activité biologique de la plante *limoniastrum guyonianum*. Mémoire de magister.Ouargla :université kasdi merbah, 2013,86p.

Harenberg J., Giese C., Zimmermann R. Effects of dried garlic on blood coagulation,fibrinolysis, platelet aggregation, and serum cholesterol levels in patients with hyperlipoproteinemia. *Atherosclerosis*, 1988, 74: 247-249.

Hellal, Zohra. Contribution à l'étude des propriétés antibactériennes et antioxydantes de certaines huiles essentielles extraites des *Citrus*. Application sur la sardine (*sardina pilchardus*). Mémoire de Magister en biologie. Tizi ouzou : Université Mouloud Mammeri, 2011, 120p.

Hubbard G.P., Wolfram S., Lovegrove J.A., Gibbins J.M. Ingestion of quercetin inhibits platelet aggregation and essential components of the collagen-stimulated platelet activation pathway in humans. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*,2004, 2: 2138-2145.

Hughes BG and Lawson L. Antimicrobial effects of *Allium sativum* L (garlic, *Allium ampeloprasum* L (elephant garlic) and *Allium cepa* L (onion) garlic Compounds and commercial garlic supplement products. *Phytother Res*;1991, 5:154-158.

Hughes J., Tregova A., Tomsett A.B., Jones M.G., Cosstick R., Collin H.ASynthesis of the flavour precursor, alliin, in garlic tissue cultures, *Phytochemistry*, 2005, 66: 187-194.

I

Iserin, P. Larousse Encyclopédie des plantes médicinales, Ed. Larousse, 2001, p.10-17 & p.132.

J

Jansen H, Müller B and Knobloch K. Allicin characterization and its determination by HPLC. *Planta Medica*, 1987, 53 (6) 559-562.

Jung, S. Apport des drogues végétales dans la prévention des maladies cardiovasculaires liées à l'hypercholestérolémie. Th. doctorat en pharmacie. Nancy : Université Henri Poincaré_nancy1, 2005, 149p.

K

Karumi, Y., Onyeyili, P.A and Ogugbuaja, V.O. Identification of active principles of *M. balsamina* (balsam Apple) leaf extract. *J. Med. Sci*;2004, 4(3):179-182.

Kaufmann, S. Host response to intracellular pathogens, springer, New York, 1997, p.348.

Khadri, Sihem. Evaluation de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de l'ail cultivé (*Allium sativum*) de l'Est Algérien vis-à-vis des différentes souches de *Pseudomonas aeruginosa*. Mémoire de magistère. Annaba : université d'Annaba, 2009, 86p.

Khiati M. Guide des maladies infectieuses et parasitaires. OPU, Alger, 1998.

Koch HP. Garlicin – fact or fiction? *Phytother Res*, 1993, 7: 278-280.

Kouronakis P.N., Rekka E.A. Effect on active oxygen species of alliin and *Allium sativum* (garlic) powder. *Research Communications in Chemical Pathology and Pharmacology*, 1991, 74(2): 249-52.

L

Lachman J., D. Pronek, A. Hejtmankov, J. Dudjak, K. Pivec & K. Faitov. Total polyphenol and main flavonoid antioxidants in different onion (*Allium cepa* L.) varieties. *Hort. Sci*, 2003, 30(4), 142-147.

Lambinon J., Delvosalle L., Duvigneaud J., *Nouvelle flore de la Belgique, du Grand-Duché de Luxembourg, du Nord de la France et des Régions voisines (Ptéridophytes et Spermatophytes)*. 5 éd. Meise, Editions du Patrimoine du Jardin botanique national de Belgique, 2004.

Lansing M., John P., Harley. Microbiologie 2^{ème} édition français, 5^{ème} édition américaine, 2003,[28-31](#).

Lanzotti, V. The analysis of onion and garlic. *J.Chromatogr. A*, 2006, 112, 3-22.

Larousse.Encyclopédie des plantes médicinales : identification, préparations, soins. 2001, P

Lawson L. D., Wood S.G., Hughes B.G.*HPLC analysis of allicin and other thiosulfinates in garlic clove homogenates. Planta Med*, 1991, 57:263–270.

Leclerc, Henri. Précis de phytothérapie: essai de thérapeutique par les plantes françaises Paris: Masson, 1976, 363 p.

Leclerc H, Gaillard J-L, Simonet M.Microbiologie générale, la bactérie et le monde bactérien. Doin Editeurs, Paris, 1995.

Lefrançois P., Ruby F Dionne J-Y. Ail. Société canadienne de recherche sur le PSN, 2006, P2-3.

LeungAlbert Y. Encyclopedia of common natural ingredients used in food drugs and cosmetics. Wiley-Interscience Publication New York, 1980.

Lu,Xiaonan., Samuelson, Derrick R., Rasco, Barbara A., AndKonkel, Michael E. Antimicrobial effect of diallylsulphide on *Campylobacter jejuni* biofilms.*J. Antimicrob. Chemother*,2012.

M

Madigan MT, Martinko JM, Parker J. Brock Biology of Microorganisms. Prentice Hall International Editions, 1997.

Mboj ndeye, Awa. 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 Anta Diop, 2003, 61p.

N

Naganawa, R., Iwata, N., Ishikawa,K., Fukuda,H., Fujino,T., Sukuzi, A. Inhibition of microbial growth by ajoene, sulfur-containing compound derived from garlic. *Appl. Environ, microbiol*,1996, 62: 4238-4242.

Najja, Hanen., Zouari, Sami., Arnault, Ingrid., Auger, Jacques., Ammar, Emna., Neffati, Mohamed. Différences et similitudes des métabolites secondaires chez deux espèces du genre *Allium*, *Allium roseum* L. et *Allium ampeloprasum* L., 2010, 158 (1), 111-123, 2011.

Nauciel, C. bactériologie médicale, 3^{ème} édition. Masson, 2000, p.5, 11, 17, 21, 35, 45, 55, 65, 75.

O

O'gara EA, Hill DJ and Maslin DJ. Activities of garlic oil, garlic powder and their diallyl constituents against *Helicobacter pylori*. *Applied and Environmental Microbiology*, 2000, 66, 2269-2273.

Ohta R, Yamada N, Kaneko H, Ishikawa K, Fukuda H, Fujino T and Suzuki A. *In vitro* inhibition of the growth of *Helicobacter pylori* by oil-macerated garlic constituents. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 1999, 43, 1811-1812.

Okmu, D.E. Phytochemicals, vitamins and mineral contents of two Nigerian medicinal plants. *Int J Mol Adv Sci*; 2005, 1(14):375-381.

Ozolin O.N., Uteshev T.A., Kim I.A., Deev A.A., Kamzolova S.G. specific modification of alpha-subunit of *Escherichia coli* RNAS polymerase by monomeric derivative of fluorescein mercuric acetate, *Mol. Biol. (Mosk.)*, 1990, 1057-1066.

P

Pail Goetz et kamel Gheidira. Phyto-anti infectieux springer Heid el berg network-springer verlog.france .Paris, 2012.

Pocidallo J-J. Des infections d'origine microbiennes ou virale. *In*: Brisset C et Stoufflet J (Directeurs) Santé et médecine, l'état des connaissances et des recherches. Editions La Découverte / INSERM / ORSTOM, 1989.

R

Renaud V. Tous les légumes courants, rares ou méconnus, cultivables sous nos climats Les éditions Eugen Ulmer Paris, 2003, p 224.

Reuter H.D., Koch, H.P, and Lawson, L.D. Therapeutic effects and applications of garlic and its preparations In *Garlic. The Science and Therapeutic Application of Allium sativum L. and Related Species*, 2nd Ed., ed., H.P. Koch and L.D. Lawson, Williams & Wilkins, Baltimore, 1996.

Robinson T. The organic constituents of higher plants. The chemistry and interrelationships, 1991, Cordus Press, MA, USA.

Ross ZM, O'gara EA, Hill DJ, Sleightholme HV and Maslin DJ. Antimicrobial Properties of garlic oil against Human enteric bacteria: Evaluation of methodologies and comparisons with garlic oil sulfides and garlic powder. *Applied and Environmental Microbiology*, 2001, 67, 475-480.

S

Salton M.R.J and Tomasz A. Mode of action of antibiotics on microbial walls and membranes. *Ann. NY. Sci*, 1974, 235: 1-31

Satiadev Seetohul. L'ail condiment et médicament. *PROSI Magazine* – N° 351, 1998.

Sendl A., Schliack M., Löser R., Stanislaus F., Wagner H. Inhibition of cholesterol synthesis in vitro by extracts and isolated compounds prepared from garlic and wild garlic. *Artherosclerosis*, 1992, 94 (1): 79-85.

Schauenberg, Paul. Guide des plantes médicinales Paris: Delachaux et Niestlé, 1977, 396p.

Shaath NA, Flores FB, Osman M, Abd-El Aal M. The essential oil of *Allium sativum* L., Liliaceae (Garlic). In Charalambous G (Ed.), Food Flavors: Generation, Analysis and Process influence, 1995. Elsevier Science.

Shankaranarayana ML, Raghavan B, Abraham KO and Natarajan CP., Sulphur Compounds in Flavours. In Morton ID and Macleod AJ (Ed) Food Flavours, part A Introduction, 1982. Elsevier Scientific Publishing Company.

Silagy C.A., Neil H.A. A meta-analysis of the effect of garlic on blood pressure. *Journal of Hypertension*, 1994, 12(4): 463-468.

Silagy C.A., Neil H.A. Garlic as a lipid lowering agent: a meta-analysis. *Journal of the Royal College of Physicians of London*, 1994, 28: 39-45.

Soro T.Y., Traoré F., Sakande J. « activité analgésique de l'extrait aqueux de Ximénia americana (linné) (olacaceae) ». *C.R. Biologies*, 2009, 332, 371-377.

T

Tattelman E. Health effects of garlic. *Am Fam Physician*, 2005, 72(1):103-6.

Tsao SM and Yin MC. In-vitro activity of garlic oil and four diallyl sulphides against antibiotic-resistant *Pseudomonas aeruginosa* and *Klebsiella pneumoniae*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2001, 47, 667-670.

Tsao SM and Yin MC. l'extrait d'ail et disulfure de diallyle combattent l'infection par des souches de staphylocoque doré résistante envers la méthicilline chez la souris BALB/cA. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2003, 52(6), 974-80.

W

Weber ND, Andersen DO, North JA, Murray BK, Lawson LD and Hughes BG. *In vitro* virucidal effects of *Allium sativum* (garlic) extract and compounds. *Planta Medica*, 1992, 58, 417-423.

WHO (World Health Organization). *WHO Monographs on selected medicinal plants*. Vol. 1. WHO: Genève, 1999.

Wichtl Max, Anton Robert. *Plantes thérapeutiques: tradition, pratique officinale, science et thérapeutique* - 2^{ème} édition Paris: Ed. Tee & doc-Lavoisier; Cachan: Ed. Médicales Internationales, 2003, 692p.

Winkler G, Iberl B and Knobloch K. Reactivity of Allicin and its transformation products with sulfhydryl groups, disulfide groups and human blood. *Planta Medica*, 1992, 58.

Y

Yoshida H, Iwata N, Katsuzaki H, Naganawa R, Ishikawa K, Fukuda H, Fujino T and Suzuki A. Antimicrobial activity of a compound isolated from an oil-macerated garlic extract. *Biosci. Biotechnol. Biochem*, 1998, 62(5) 1014-1017.

Yoshida H, Katsuzaki H, Ohta R, Ishikawa K, Fukuda H, Fujino T and Suzuki A. Antimicrobial activity of the thiosulfates isolated from oil-macerated garlic extract. *Biosci. Biotechnol. Biochem*, 1999, 63(3) 591-594.

Z

Zaika, L. L. "Spices and Herbs - Their Antimicrobial Activity and Its Determination" *Journal of Food Safety*, 1988, 9- 2: (97-118).

Sites internet

- 1-Aide aux cliniques de pédiatrie: éléments de : bactériologie et virologie. Professeur *Oreste Battisti*. Disponible sur : « http://orbi.ulg.ac.be/bitstream/2268/41218/1/battisti_microbiology.pdf » (Consulté le 20.10.2013).
- 2-allicine de l'ail rose - Disponible sur : « <http://www.lalautrecoise.fr/ail-rose-et-sante/allicine-ail> » (Consulté le 20.10.2013).
- 3-biodis, site scientifique et culturel. Sciences biologiques. Biologie cellulaire [en ligne]. Disponible sur : « [http://Biologie cellulaire 10 - Biodis.htm](http://Biologie%20cellulaire%2010%20-%20Biodis.htm) » (consulté le 20.04.2014).
- 4-cours de taxonomie bactérienne [en ligne]. Disponible sur : « [http://\(www.123bio.net/cours/bacterio\)](http://www.123bio.net/cours/bacterio) » (consulté le 20.04.2014).
- 5-comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie(SFM).recommandations 2013.[En ligne]. Disponible sur : « <http://www.sfm-microbiologie.org/> » (consulté le 20.04.2014).
- 6-diffusion SA (2010) L'ail – l'aspect phytochimique. *CAT :INST*. [En ligne]. Disponible sur : « <http://cat.inist.fr/?aModele=afficheN&cpsidt=194293> » (Consulté le 20.10.2013).
- 7-Filière des plantes médicinales biologiques du Québec. *Allium sativum*, Guide de production sous régie biologique [en ligne]. Edition 2009. Disponible sur : « <http://www.agrireseau.qc.ca/agriculturebiologique/documents/guide-ail.pdf> » (Consulté le 20.10.2013).
- 8-Jean-Michel Hurtel (2001).L'ail *allium savitum*. *Plantes et médecine*. Disponible sur : « <http://www.phytomania.com/ail.htm> » (Consulté le 20.10.2013).
- 9-Le réseau des botanistes francophones. (2000-2009). Base de donnée nomenclaturales de la flore de la Flore de France par Benoît Bock. *Tela-botanica, le réseau des botanistes francophones*. Disponible sur: « <http://www.telabotanica.org/eflore/BDNFF/4.02/nn/3195/export/pdf> » (Consulté le 20.10.2013).
- 10-Michèle Serre.(2010).Culture. *Saveur du monde*. Disponible sur : « <http://www.saveursdumonde.net/produits/articles/ail-culture> » (Consulté le 20.10.2013).
- 11-Mr Ginseng. Recherche de plantes médicinales. L'ail [en ligne]. Disponible sur : « <http://mr-ginseng.com/ail/> ». (Consulté le 20.10.2013).
- 12-santé. (Figaro.fr). l'ail [en ligne].disponible sur « <http://sante.lefigaro.fr/mieux-etre/nutrition-aliments/ail/que-contient-lail> » (Consulté le 20.10.2013).
- 13-Settimi, Floriane. L'ail, une plante aux multiples vertus ? [En ligne].haute école de santé Genève. Juin 2010.disponible sur « http://www.heds-ge.ch/diet/encyclopedie/ail_10.pdf » (Consulté le 20.10.2013)

14-Université Pierre et Marie Curie. *Bactériologie. Niveau DCEM1. 2002 - 2003. Service de Bactériologie*. Disponible sur :
« [http:// www.chups.jussieu.fr/polys/bacterio/bacterio/bacterio.pd](http://www.chups.jussieu.fr/polys/bacterio/bacterio/bacterio.pd) » (Consulté le 20.10.2013).

15-Wikimedia Fondation. (2010). Wikipédia – L'encyclopédie libre. *Ail cultivé*. Disponible sur: « http://fr.wikipedia.org/wiki/Ail_cultiv%C3%A9 » (Consulté le 20.10.2013).

16-Wikimedia Fondation. (2010). Wikipédia – L'encyclopédie libre. Acide fusidique [En ligne]. Disponible sur: « [http:// fr.wikipedia.org/wiki/Acide_fusidique](http://fr.wikipedia.org/wiki/Acide_fusidique) » (Consulté le 20.04.2014).

17-Wikimedia Fondation. (2010). Wikipédia – L'encyclopédie libre. Doxycycline [en ligne]. Disponible sur: « [http:// fr.wikipedia.org/wiki/Doxycycline](http://fr.wikipedia.org/wiki/Doxycycline) » (Consulté le 20.04.2014).

18-Wikimedia Fondation. (2010). Wikipédia – L'encyclopédie libre. Gentamicine [en ligne]. Disponible sur: « [http:// fr.wikipedia.org/wiki/Gentamicine](http://fr.wikipedia.org/wiki/Gentamicine) » (Consulté le 20.04.2014).

19-Wikimedia Fondation. (2010). Wikipédia – L'encyclopédie libre. Rifampicine[en ligne]. Disponible sur: « [http:// fr.wikipedia.org/wiki/Rifampicine](http://fr.wikipedia.org/wiki/Rifampicine) » (Consulté le 20.04.2014).

20-Wikimedia Fondation. (2010). Wikipédia – L'encyclopédie libre. Tétracycline[En ligne]. Disponible sur: « [http:// fr.wikipedia.org/wiki/Tétracycline](http://fr.wikipedia.org/wiki/T%C3%A9tracycline)»(Consulté le 20.04.2014).

Annexes

Composition des principaux milieux de culture utilisée

➤ milieux de cultures solides

- gélose nutritive

Composition en g/l :

- Extrait de viande.....3g
- Extrait de levures.....3g
- Peptone.....10g
- Chlorure de sodium.....5g
- Agar.....18g
- pH=7,3
- stérilisation à 121°C pendant 15mn.

- Milieu King A

Composition en g/l :

- Agar.....12g
- Peptone bactériologique « A ».....20g
- Glycérol.....10g
- K_2HSO_410g
- $MgCl_2$1,4g
- pH= 7,2
- stérilisation à 121°C pendant 15mn.

- Milieu King B

Composition en g/l :

- Agar.....12g
- Peptone bactériologique « B ».....20g
- Glycérol.....10g
- K_2HPO_4 (anhydre).....1,5g
- $MgSO_4, 7H_2O$1,5g
- pH= 7,2
- stérilisation à 121°C pendant 15mn.

- Mueller Hinton :

Composition en g/l :

- Extrait de viande.....3g
- Hydrolysate acide de caséine.....17.5g
- Agar.....18g
- pH= 7.4

- Stérilisation à 121°C pendant 15mn.
Après refroidissement, 5ml de l'additif Hektoen sont rajoutés au 225ml de la gélose Hektoen.

- Gélose Chapman :

Composition en g/l :

- Extrait de viande.....1g
- Extrait de levure.....3g
- Tryptone.....5g
- Peptone bactériologique.....10g
- Chlorure de sodium.....70g
- Mannitol.....0,025g
- Agar.....15g
- pH=7.4
- stérilisation à 121°C pendant 15mn.

- Gélose Hektoen

Composition en g/l :

- Peptone pepsique de viande.....15g
- Extrait de viande.....3g
- Extrait de levure.....3g
- Lactose.....12g
- Salicine.....2g
- Saccharose.....12g
- Chlorure de sodium.....5g
- Thiosulfate de sodium.....5g
- Citrate de fer ammoniacal.....1,5g
- Sels biliaires.....4g
- Bleu de Bromothymol.....0,064g
- Fuschine acide.....0,1g

➤ **Milieu liquide :**

- Eau physiologique

Composition en g/l :

- Chlorure de sodium (NaCl).....9g
- Eau distillée.....1000ml
- pH= 7
- stérilisation à 121°C pendant 15mn.

- **Mac farland :**

- BaCl₂ déshydraté à 1%.....0.5ml

- H₂SO₄ à 1%.....99.5ml

▪ **Réactif de Mayer**

- KI.....5g
- HgCl₂.....1.538g
- Eau distillé.....100ml

Matériel et produits utilisés dans la chromatographie sur couche mince

- **Le Support** :Gel de silice

- **La 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.

- **La Solution de référence** :

Dissoudre en chauffant 5 mg d'alanine dans 5 ml de méthanol et avec quelques gouttes d'eau.

- **Le Solvants d'élution** :

Ethanol- isopropanol- eau- acide acétique glacial (8 : 4 : 4 :4) (cuve saturée).

Les antibiotiques utilisés :

Acide fusidique, gentamicine, doxycycline, rifampicine et tétracycline

Résumé

ABSTRACT

The extensive use of antibiotics, caused the appearance of pathogenic bacteria, giving rise to dangerous medical problems. Medicinal plants provide us with active molecules that enable to fight this phenomenon of resistance.

The garlic as a plant with numerous virtues, owes its anti-bacterial activity basically to the allicine, and to molecules coming from the allyl disulfide degradation, particularly to diallyl disulfide. These components act against the spectrum of gram- positive and gram- negative bacteria.

In the framework of this study, the phytochemical sifting showed us the presence of alliin, the precursor of allicine, even secondary metabolites: The saponosides, the alkaloids, the flavonoids, the sterols, and terpenes.

Using the aromatogram method, we have evaluated the anti-bacterial activity of different extracts of *Allium sativum*, towards gram-negative bacteria (*Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*), an gram-positive (*Staphylococcus aureus*). Inhibition diameters range, from 5 to 35 mm for the crude extract, and from 9 to 20 mm to methanolic extract, with no sensitivity towards the aqueous extract.

Key words: *Allium sativum- allicine- diallyl disulfide- anti-bacterial activity- secondary metabolites.*

Résumé

L'utilisation à large échelle des antibiotiques a engendré l'apparition des bactéries pathogènes multi-résistantes, causant un grave problème médical. Les plantes médicinales offrent à notre disposition des molécules actives permettant de lutter contre ce phénomène de résistance.

L'ail, une plante aux nombreuses vertus médicinales, dont l'activité antibactérienne est principalement due à l'allicine, et aussi à des molécules issues de sa dégradation les disulfures d'allyle notamment le disulfure de diallyle. Ces composées agissent contre un éventail de bactéries à Gram négative et à Gram positive.

Dans le cadre de ce travail, le criblage phytochimique a relevé la présence de l'alliine, le précurseur de l'allicine ainsi que des métabolites secondaires : les saponosides, les alcaloïdes, les flavonoïdes, des stérols et terpènes.

Par La méthode d'aromatogramme, l'activité antibactérienne des différents extraits d'ail a été évalué et ce vis-à-vis des bactéries à Gram négatives (*Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*) et à Gram positive (*Staphylococcus aureus*). Les diamètres d'inhibitions varient de 5 à 35mm pour l'extrait brut, de 9 à 20mm pour l'extrait méthanolique et aucune sensibilité à l'égard de l'extrait aqueux.

Mots-clés : *allium sativum* – allicine – disulfure de diallyle- activité antibactérienne-métabolites secondaires

ملخص

إن الاستعمال الواسع للمضادات الحيوية، يتسبب في ظهور البكتيريا المسببة للمرض والمتعددة المقاومة، والتي تحدث مشكلة طبية خطيرة.

غير أن النباتات الطبية تضع في متناولنا جزيئات فعالة تسمح بمحاربة هذه الظاهرة المقاومة. لنبته الثوم منافع طبية عديدة، ويُعزى نشاطها المضاد للبكتيريا أساسا إلى مادة الأليسين وكذا إلى جزيئات تصدر عن تلف ثنائي كبريتيد الأليل، سيما ثنائي كبريتيد الدياليل. تعمل هذه المكونات ضد تشكيلة من البكتيريا ذات غرام سلبي وآخر إيجابي. وفي إطار هذا العمل، فقد أبرز لنا الفصل الكيميائي النباتي وجود مادة الألين، السابقة للأليسين والأيضات الثانوية والسبانوسيدات و القلوانيات و الفلافونيدات والستيرولات والتربينات. وعبر طريقة التحليل الأروماتوغرامي، فقد قمنا بتقييم النشاط المضاد للبكتيريا لمستخلصات عدة للثوم المزروع، وذلك اتجاه بكتيريا ذات غرام سلبي (الأشريكية القولونية وسودوموناس أروجينوزا) وذات غرام إيجابي (ستافيلوكوكس أوريوس). تتراوح أقطار المنع بين 5 إلى 35 مم للمستخلص الخام، وبين 9 إلى 20 مم للمستخلص الميتانولي مع عدم وجود حساسية اتجاه المستخلص المائي.

الكلمات المفاتيح: الثوم المزروع- الأليسين- ثنائي كبريتيد الدياليل- النشاط المضاد للبكتيريا-
أيضات ثانوية