# الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

# République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالى والبحث العلمى

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



Département de Biologie et Écologie végétale

قسم البيولوجيا وعلم البيئة النباتية

# Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie Filière : Biologie et Écologie végétale Spécialité : Biotechnologie et génomique végétale

N° d'ordre : N° de série :

**Intitulé**:

Contribution à l'étude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles, hydrolats, jus aqueux et méthanolique de deux variétés d'*Allium sativum* sur trois souches de bactéries.

**Présenté par :** REHAB Nesrine

BEDJAOUI Abir Haibat ALLAH Le 19/06/2022

Jury d'évaluation:

**Encadreur:** LOUALI Yamouna (MCB- Université Frères Mentouri, Constantine 1).

**Examinateur 1:** BOUCHEMAL Karima (MCB - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

**Examinateur 2:** HAMLA Chourouk (MCB - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Année universitaire 2021-2022

# Remerciements

« À Dieu qui nous a nantis de la formidable faculté de raisonnement et qui nous a donné le courage et la volonté, pour mener à terme ce modeste travail »

Alhamed li Allah le Tout Miséricordieux, le très miséricordieux, l'Omniscient Et Le Généreux.

Nous remercions particulièrement **Mme LOUALI. Yamouna** notre promotrice, de nous avoir confié ce travail et d'accepter de nous encadrer et de nous diriger.

Nos vifs remerciements vont aux membres du jury : Mme «BOUCHEMAL Karima», d'avoir accepté la présidence de jury, Madame «HAMLA Chourouk», pour avoir accepté de faire partie du jury.

Sans oublier de remercier Mme YKHLEF Nadia et tous les enseignants de la Filière de Biotechnologies et génomique végétale qui ont contribué à notre formation durant notre parcours universitaire.

Nos remerciements vont aussi à Monsieur DJEKOUN Abdelhamid le directeur du laboratoire BGGV et chef de l'équipe Amélioration des plantes.

Et toute le personnel du laboratoire BGGV de l'université Les Frères Mentouri Constantine 1, plus spécialement Mme BOULDJEJ Rima attachée de laboratoire on la remercie pour sa gentillesse et son aide tout au long de nos manipulations. Nous tenons aussi à remercier :

Monsieur **BELBEKRI Nadir** ingénieur du laboratoire BGGV

Monsieur ABDEREZAK Reda et toute l'équipe de la distillerie AROM'EST d'Annaba de nous avoir fourni la chance d'extraire nos huiles essentielles et hydrolats chez eux.

Mme ABDLAZIZ Widad et Mme ZERROUGUI Leila l'ingénieur du laboratoire microbiologie de université les frères Mentouri Constantine 1 de nous avoir fourni les souches bactériennes qui ont fait l'objet de notre étude.

# *Dédicace*

Avant toute chose, je tient à remercier Dieu, le tout puissant, pour m'avoir donné la force et la patience d'achever ce modeste travail.

J'ai toujours pensé à faire ou offrir quelque chose à mes parents en signe de reconnaissance pour tout ce qu'ils ont consenti comme efforts, rien que pour me voir réussir, et voilà, l'occasion est venue.

À qui m'a enseigné le sens de la vie et qui a sacrifié pour me voir réussi, mon très cher père SALLAH EDDINE; ce travail est le fruit de tes sacrifices, ton éducation, tes conforts moraux et matériels que tu m'as apporté; sans toi je n'aurais pas arrivé jusqu'ici. Je vous remercie pour ta tendre affection; ton sacrifice... je t'aime très fort.

À Celle que mes yeux l'ont vu la première, ma très adorable mère SONIA; tu es pour moi un tout; un bijou précieux; ton amour et ton affection exprime que vous êtes une maman idéale qui mérite toujours le meilleur; sans toi je n'aurais pas vu ce jour, toi qui m'as toujours soutenue inébranlablement.

À ma grande mère Mama DJAMILA; pour vos prières que Dieu vous préserve et te procure la santé et une longue vie. Les mots sont faibles pour exprimer la force de mes sentiments, la reconnaissance et l'amour que je vous porte.

 $\hat{A}$  la plus adorable sœur du monde **MARIA**; pour ton amour et ton soutien, je vous souhaite que de bonheur dans ta vie. Je vous aime du fond de mon cœur.

 $\hat{A}$  mon petit frère AYMEN; je t'aime mon petit.

Une spéciale dédicace pour mes étonnant oncles et mes agréable tantes ALI; KHALED; SAMIRA et FAIROUZ; Je vous remercie pour votre amour, votre soutien et votre stimulante fierté que dieu vous protégez.

*À la plus charmante MAISSA*; Pour ta présence, ton soutien et ta compréhension, je t'adresse ma plus sincère reconnaissance.

Je remercie aussi mes copines AMIRA; SOFIA; Imene et

ASMA pour leurs encouragement au cours du mémoire; pour ces moments
inoubliables et ces années ensemble qui ne font que commencer. Merci pour
votre simple présence dans ma vie.

Je souhaite remercier ma binôme et amie BEDJAOUI ABIR, nous avons formé une belle équipe, je te remercie donc pour tout ce que tu m'as apporté au cours de ces trois années partagées.

À ma chère Encadrante Dr. LOUALI. YAMOUNA pour votre soutien et votre présence. C'est un honneur pour moi de vous avoir comme superviseur durant cette étude. Merci pour ta gentillesse, ta rigueur scientifique et tes conseils ont toujours été très constructifs et m'ont permis de bien avancer dans ce mémoire.

Enfin, je remercie toute personne qui a participé de près ou de loin, de façon directe ou indirecte, à la réussite de ce travail; à tous ceux qui j'aime et que j'apprécie énormément leur aide et leur soutien durant ma vie .



# **Dédicace**

Nous tenons d'abord à remercier le tout puissant, notre DIEU, le clément et le miséricordieux, de nous avoir donné la clair voyance et la persévérance, pour mener à terme ce travail, prière et salut sur notre prophète MOHAMED.

Avec un énorme bonheur et une extrême joie je dédie ce modeste travail :

# A mes très chers parents:

Ils m'ont donné le jour et m'ont accompagné dans mes premiers pas.

Aujourd'hui, je suis le fruit de leurs efforts et de toute leur attention, mes parents qui

# A mon cher père Hassan:

Toute l'encre du monde ne pourrait suffire pour exprimer mes sentiments envers un être très cher. Vous avez toujours été mon école de patience, de confiance et surtout d'espoir et d'amour. Vous êtes et vous resterez pour moi ma référence, la lumière qui illumine mon chemin. Ce travail est le résultat de l'esprit de sacrifice dont vous avez fait preuve, de l'encouragement et le soutien que vous ne cessez de manifester, j'espère que vous y trouverez les fruits de votre semence et le témoignage de ma grande fierté de vous avoir comme père. J'implore Dieu, tout puissant, de vous accorder une bonne santé, une longue vie et beaucoup de bonheur

# A ma chère mère Karima:

La lumière de mes yeux, l'ombre de mes pas et le bonheur de ma vie, ma mère karima qui est toujours près de moi, m'encourage, me conseille, me soutien et qui n'a jamais cessé de prier pour moi. Aucun mot ne peut exprimer ce que tu mérites pour tous les

sacrifices que tu as fait depuis ma naissance à ce jour. Merci maman, que dieu te garde et te protège.

# A mes grandes méres Ma zouina, ma yamina et ma cheére tante Wided:

Qui m'ont apporté leur appui durant toutes mes années d'étude, pour leur soutien qui m'ont donné confiance, courage et sécurité.

# A mon grand père:

Ce travail est dédié à mon grand père baba ammar, décédé trop tôt. J'espère que, du monde qui est sien maintenant, il apprécie cet humble geste comme preuve de reconnaissance de la part d'une fille qui a toujours prié pour le salut de son âme. Puisse Dieu, le tout puissant, l'avoir en sa sainte miséricorde!

# A ma chère sœur Rayane:

Qui m'a toujours tenu la main et qui ne m'a jamais lâché de son existence .Pour sa confiance et sa présence, son soutien et sa compréhension, je l'adresse ma Plus sincère reconnaissance.

# A mes chers frères Dhiya el-dinne ayoub ,Aissa abd el-rahman et anas:

Ces quelques lignes, ne sauraient traduire le profond amour que je vous porte,

Pour votre aide et votre amour. Je vous souhaite beaucoup de bonheur et de succès.

# A mes amies:

Nada, Messaoud, Rawya, Hiba, Imene. pour avoir grandement contribué à rendre ces années inoubliables. Vous êtes et vous resterez ma deuxième famille.

A mes oncles, mes tantes et mes cousins et toute ma famille Bedjaoui et Aissaoui .

Aucun langage ne saurait exprimer mon respect et ma considération pour votre

soutien et encouragements. Je vous dédie ce travail en reconnaissance de l'amour que vous m'offrez quotidiennement et votre bonté exceptionnelle. Que Dieu le Tout Puissant vous garde et vous procure santé et bonheur.

# À ma binôme, et ma cherie nesrine:

Je souhaite personnellement remercier ma binôme et amie nesrine, avec laquelle j'ai pris beaucoup de plaisir à travailler. Nous avons formé une belle équipe, je te remercie donc pour tout ce que tu m'as apporté au cours de ces trois années partagées.

# A ma promotrice Mme louali yamoune:

Je tiens à remercier la personne qui nous a permis de réaliser ce mémoire, un grand remerciement à **Mme louali** de me faire honneur en m'encadrant et de me mener à l'achèvement de ce modeste travail.

À toute personne que je connais de près ou de loin, a toute la promotion Master II biotechnologie et génomique végétale 2022

A toutes les personnes qui comptent pour moi, intervenues dans ma vie à un moment ou à un autre et qui ont participé à faire de moi celle que je suis

Aujourd'hui...



Abir haibat allah

# Table de matières

LISTE DES TABLEAUX	10
LISTE DES FIGURES	11
LISTE D'ABRÉVIATION:	12
RÉSUMÉ	14
ABSTRACT	15
	16
INTRODUCTION	1
CHAPITRE 1 :REVU BIBLIOGRAPHIQUE	5
I. L'AIL : ALLIUM SATIVUM.L	5
1. Origine géographique de l'ail	6
2. Habitat et répartition géographique	6
3. DESCRIPTION BOTANIQUE DE L'ALLIUM SATIVUM.L	6
4. CULTURE ET CONDITIONNEMENT	7
5. COMPOSITION BIOCHIMIQUE DE L'AIL	8
6. Classification de l'ail	11
7. Propriétés d' <i>Allium sativum L</i>	13
8. LES DIFFÉRENTS TYPES D'AIL	13
a. L'huile essentielle d'ail	
b. La poudre d'ail	14
C. Le macérât ou l'extrait d'huile d'ail	14
d. L'extrait d'ail vieilli	14
9. COMMERCIALISATION ET CONSOMMATION	15
10. LES EFFETS THÉRAPEUTIQUES DE L'AIL	16
a. Effet Antimicrobien	16
b. Effet antibactérien	16
c. Effet antifongique	17
d. Effets antiviraux	17
11. LES EFFETS INDÉSIRABLES DE L'AIL	18
12. DIFFÉRENTES UTILISATIONS DE L'AIL	18
II. LES BACTÉRIES	19
1. Introduction	19
2. LES MALADIES DES PLANTES	20
3. GÉNÉRALITÉS SUR LES BACTÉRIES	21
a Structure des hactéries	22

b. Effet des huiles essentielles sur les bactéries	22
4. CARACTÉRISTIQUES DES SOUCHES BACTÉRIENNES UTILISÉES	23
a. Escherichia coli	23
b. Pseudomonas aeruginosa	24
c. Bacillus subtilis subsp.spizizenii	26
5. L'AROMATOGRAMME	26
CHAPITRE 2: MATÉRIEL ET MÉTHODES	29
I. MATÉRIEL VÉGÉTAL	29
1. La rouge local	29
2. LA ROUGE CHINOISE	29
II. MATÉRIEL BIOLOGIQUE	30
III. EXTRACTION D'HUILES ESSENTIELLES ET HYDROLAT PAR HYDRODISTILLATION	30
1. Principe	30
2. Mode opératoire	30
3. La conservation	32
IV. EXTRACTION DU JUS AQUEUX ET JUS MÉTHANOLIQUE	32
V. ÉTUDE DE L'ACTIVITÉ ANTIBACTÉRIENNE	33
1. MÉTHODE DE DIFFUSION SUR MILIEU GÉLOSÉ (L'AROMATOGRAMME)	33
2. VÉRIFICATION DE PURETÉ DES SOUCHES BACTÉRIENNES	
3. Préparation de L'inoculum	34
5. Préparation des dilutions	35
a. HE et hydrolat	35
b. Jus aqueux et méthanolique	
6. Ensemencement et dépôt des disques	36
CHAPITRE 3: RÉSULTATS ET DISCUSSION	38
I. RENDEMENTS DES HUILES ESSENTIELLES DES DEUX VARIÉTÉS D'AIL	38
II. CARACTÉRISTIQUES ORGANOLEPTIQUES DES HUILES ESSENTIELLES, JUS AQUEUX ET MÉTHANOLIQUE	40
III. ÉVALUATION DE L'ACTIVITÉ ANTIBACTÉRIENNE DES DEUX HUILES ESSENTIELLES; HYDRO	
AQUEUX ET MÉTHANOLIQUE	
IV. ÉTUDE COMPARATIVE DE L'EFFET ANTIBACTÉRIEN DES DEUX HUILES ESSENTIELLES ;HYD	ROLAT;
JUS AQUEUX ET MÉTHANOLIQUE	49
V. DÉTERMINATION DE CMI:	53
CONCLUSION ET PERSPECTIVES	57
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUE	60
ANNEXE 1	76
ANNEXE 2	77

ANNEXE 3	78
ANNEXE 4	79

# Liste des tableaux

Tableau 1 : Composition d'une gousse d'ail (TRUDEAU; 2006)
Tableau 2 :Teneur de l'ail en élément minéraux et en vitamines dans 100g de
matières fraîche (CANCE et al; 1992).
Tableau 3 : Classification classique de l'ail (Allium Sativum).(Gambogou et al; 12
Tableau 4 : Les différents dilutions des huiles essentielles et hydrolats35
Tableau 5 : Les différentes dilutions des extrait d'ail (Aqueux et méthanolique) 36
Tableau 6 : Rendement des huiles essentielles et hydrolats des deux variétés d'ail.38
Tableau 7 : les propriétés organoleptique de des huile essentielles; jus aqueux et
méthanolique des deux variétés d'ail : RL et RC
Tableau 8 : Les taux d'inhibition des antibiotiques (Amoxyciline et Gentamicine )
sur les trois souches bactériennes
Tableau 9 : Les taux d'inhibition d'huile essentielle des deux variétés (RL et RC)
sur les trois souches bactérienne : E. Coli ; Bacillus subtilis subsp. spizizenii
et Pseudomonas aeruginosa
Tableau 10 : Les taux d'inhibition d'hydrolat des deux variétés (RL et RC) sur les
trois souches bactérienne: E.Coli ; Bacillus subtilis subsp.spizizenii et
Pseudomonas aeruginosa
Tableau 11 : Les taux d'inhibition de jus aqueux des deux variétés (RL et RC )
sur les trois souches bactériennes : E. Coli ; Bacillus subtilis subsp spizizenii
et Pseudomonas aeruginosa
Tableau 12 : Les taux d'inhibition de jus méthanolique des deux variétés (RL et
RC ) sur les trois souches bactériennes : E.Coli ; Bacillus subtilis
subsp.spizizenii ; Pseudomonas aeruginosa

# Liste des figures

Figure 1 : Morphologie de l'ail (photo biophytopharm In Gambogou et al, 2019).7
Figure 2 : Représentation des gousses d'ail frais (rouge locale)
Figure 3 : Représentation des gousses d'ail frai (rouge chinoise)30
Figure 4 : Dispositif d'hydrodistillation au niveau de la distillerie AROM'EST
(Annaba)
Figure 5 : Récupération de l'huile essentielle et l'hydrolat d'Ail (Distillerie
AROM'EST). 32
Figure 6 : Préparation des extraits aqueux et méthanolique
Figure 7 :Rendement d'huiles essentiels et hydrolats des deux variétés d'ail :RL et
RC39
Figure 8 : Représentation graphique de l'effet des antibiotiques (Amoxyciline et
Gentamicine) sur les trois souches bactériennes
Figure 9 : Représentation graphique de l'effet d'HE des deux variétés sur les
trois souches bactérienne. 44
Figure 10 : Représentation graphique de l'effet d'hydrolat des deux variétés sur
trois souches bactériennes
Figure 11 : Représentation graphique d'effets de jus aqueux des trois souches
bactériennes
Figure 12 : Représentation graphique de l'effet du jus méthanolique des deux
variétés RL et RC sur trois souches bactériennes
Figure 13 : Effets des huile essentielles de la rouge locale sur <i>E.Coli</i> avec les
différents concentration
Figure 14 : Effet d'hydrolat des deux variétés sur
Figure 15 : Effet de jus aqueux de rouge locale sur Bacillus subtilis
subsp.spizizenii
Figure 16 : Effet de jus méthanolique de rouge chinoise sur Bacillus subtilis
subsp.spizizenil52
Figure 17 : Formation de l'anneau d'inhibition sous l'effet de jus méthanolique
des deux variétés sur Pseudomonas aeruginosa et Bacillus subtilis
subsp.spizizenii

## Liste d'abréviation:

BA: Bacillus subtilis subsp.spizizenii.

CMI: Concentration minimale inhibitrice.

E.coli: Escherichia Coli.

**FAO:** Organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture.

GBBV: Génétique; Biochimie et Biotechnologie végétale.

**GN:** Gélose Nutritive.

**HE:** Huile essentielles.

INPV: Institut National de la Protection de Végétaux.

ISO: Organisation Internationale de Normalisation.

L'ESCOP: La Coopération européenne en Phytothérapie.

MH: Muller Hinton.

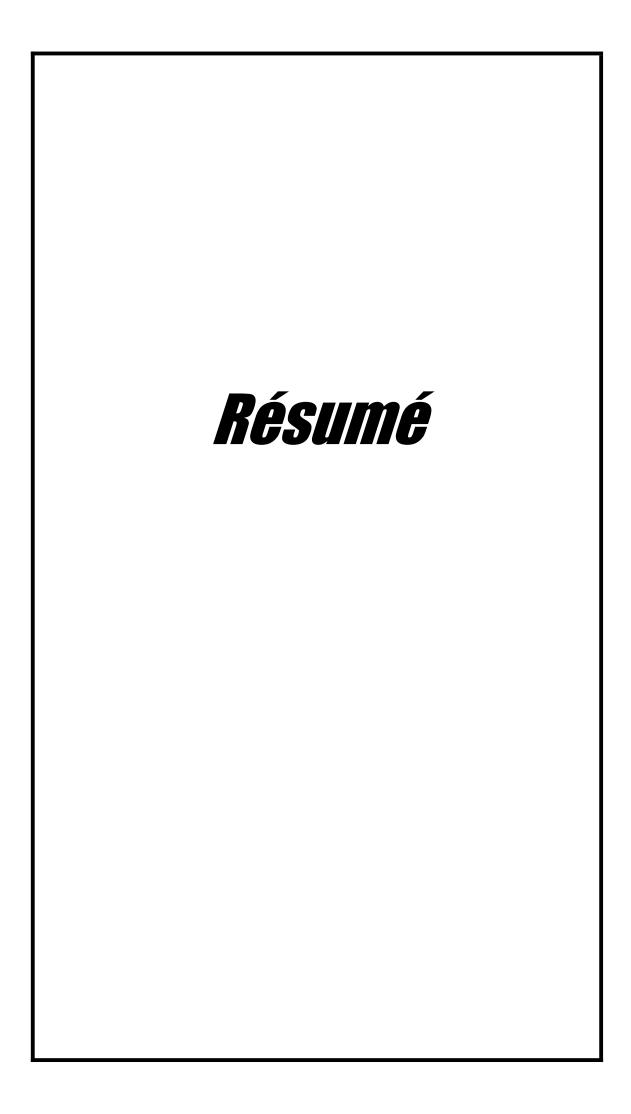
NIH: L'Institut National de la santé Américaine.

OMS: Organisation Mondial de la Santé.

**PS:**Pseudomonas aeruginosa.

**RC:** Rouge chinoise.

RL: Rouge locale.



Contribution à l'étude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles, hydrolats, jus aqueux et méthanolique de deux variétés d'*Allium sativum* sur trois souches bactériennes (*E. coli, Bacillus subtilis subsp.spizizenii et Pseudomonas aeruginosa .*)

## Résumé

En Agriculture, la lutte contre les ravageurs et bioagresseurs repose principalement sur l'utilisation de pesticides chimiques qui, malheureusement, perdent de leur efficacité face à des parasites qui développent de plus en plus de résistance à leur encontre suite à leur application répétée. Pour cette raison on a recours aux bio pesticides, issues de plantes comme l'ail (*Allium sativum L.*) qu'est de plus en plus mis en avant pour ses propriétés antimicrobiennes notamment grâce à la présence d'allicine. Ainsi, la présente étude a pour objectif de déterminer l'effet inhibiteur des huiles essentielles, et hydrolat obtenus par hydrodistillation; ainsi que les jus aqueux et méthanoliques à partir de deux variétés d'Ail produites localement à savoir : la variété rouge locale et la variété rouge chinoise sur la croissance de trois souches bactériennes (*E;coli; Bacillus subtilis subsp.spizizenii et Pseudomonas aeruginosa*) par la technique d'aromatogramme.

Le rendement moyen obtenu pour l'huile essentielle des deux variétés d'ail est de 0,39%, et 0,37 respectivement

Nos résultats montrent que le pouvoir antimicrobien de ces huiles est très important et se caractérise par une action bactéricide contre les germes suscités proportionnels à la concentration appliquée, avec des diamètres de zones d'inhibition qui varient de 9 à 16 mm, et de 6 à 9mm avec la rouge locale et la rouge chinoise respectivement.

Quant aux résultats de l'hydrolat ; l'effet inhibiteur observé est moyen pour les deux variétés sur les trois souches bactériennes. En ce qui concerne le jus aqueux de la variété *Rouge Local*e son activité antimicrobienne s'est observée chez les trois bactéries avec des diamètres de 13 à 18 mm, par contre le jus aqueux de la rouge chinoise à inhiber que la bactérie *Bacillus substilis subsp.spizizenii et Pseudomonas aeruginosa* avec des diamètres de 9 et 11mm respectivement.

L'effet inhibiteur du jus méthanolique de la variété rouge locale s'observe avec des diamètres moyens que sur *E.Coli et Pseudomonas aeruginosa;* par contre chez la variété rouge chinoise aucune activité inhibitrice sur les trois souches bactérienne n'a été observée.

**Mots clés:** *Allium sativum,* Huile essentielle, *E.coli, Bacillus subtilis subsp.spizizenii et Pseudomonas aeruginosa*, activité antimicrobienne ...

Contribution to the study of the antibacterial activity of essential oils, hydrolyte, aqueous and methanolic juice, of two varieties of *Allium sativum* on three bacterial pathogens (*E. Coli, Bacillus subtilis subsp. Spizizenii and Pseudomonas aeruginosa*).

#### **Abstract**

In Agriculture, the fight against pests and biological aggressors is mainly based on the use of chemical pesticides which, unfortunately, lose their effectiveness in the face of parasites which develop more and more resistance against them following their repeated application. For this reason, we use biopesticides, from plants such as garlic (*Allium sativum L.*) which is increasingly highlighted for its antimicrobial properties, in particular thanks to the presence of allicin. Thus, the present study aims to determine the inhibitory effect of essential oils, and hydrosol obtained by hydrodistillation; as well as aqueous and methanolic juices from two varieties of Garlic produced locally, namely: the local red variety and the Chinese red variety on the growth of three bacterial strains (*E; coli; Bacillus subtilis subsp. spizizeni and Pseudomonas aeruginosa*) using the aromatogram technique.

Thus, the average yield obtained for the essential oil of the two local red and Chinese red varieties is 0.39%, and 0.37 respectively.

Our results show that the antimicrobial power of these oils is very important and is characterized by a bactericidal action against the germs aroused proportional to the concentration applied, with diameters of the inhibition zones which vary from 9 to 16 mm, and from 6 to 9mm with local red and Chinese red respectively.

As for the results of The Hydrolat; the inhibitory effect observed is average for the two varieties on the three bacterial strains. With regard to the aqueous juice of the Local Red variety, its antimicrobial activity was observed in the three bacteria with diameters of 13 to 18 mm, on the other hand the aqueous juice of the Chinese red to inhibit only the bacterium *Bacillus subtilis subsp.spizizenii and Pseudomonas aeruginosa* with diameters of 9 and 11mm respectively.

The inhibitory effect of the methanolic juice of the local red variety is observed with medium diameters only on *E.Coli and Pseudomonas aeruginosa;* on the other hand, in the Chinese red variety, no inhibitory activity on the three bacterial strains was observed.

**Keyword:** Allium sativum;; Essential oil; methanolic juice; E;coli; Bacillus subtilis subsp. spizizenil and Pseudomonas aeruginosa

دراسة مدى مساهمة تأثير الزيوت الأساسية, الهيدرولا, العصير المائي و الميثانولي لنوعين من (Allium Sativum)

(E.Coli, Bacillus subtilis subsp. spizizenii ¿ Pseudomonas aeruginosa)

## ملخص

في الزراعة ، تعتمد مكافحة الآفات والمعتدين البيولوجي بشكل أساسي على استخدام مبيدات الآفات الكيميائية التي ، للأسف ، تفقد فعاليتها في مواجهة الطفيليات التي تكتسب المزيد والمزيد من المقاومة ضدها بعد استخدامها المتكرر . لهذا السبب ، نستخدم المبيدات الحيوية ، من نباتات مثل الثوم (Allium Sativum) والتي يتم تسليط الضوء عليها بشكل متزايد لخصائصها المضادة للميكروبات ، وخاصة بفضل وجود الأليسين . وبالتالي ، تهدف الدراسة الحالية إلى تحديد التأثير التثبيطي للزيوت الأساسية ، والهيدرولا الناتج عن التقطير المائي ؛ بالإضافة إلى العصائر المائية والميثانية من نوعين من الثوم المنتج محليًا ، وهما: الصنف الأحمر المحلى والصيني على نمو ثلاث سلالات بكتيرية

(E.Coli · Bacillus subtilis subsp. spizizenii 2 Pseudomonas aeruginosa)

باستخدام مخطط العطريات تقنية. و هكذا ، فإن متوسط العائد الذي تم الحصول عليه للزيت العطري للنوعين الأحمر الصيني والأحمر المحلي هو 0.39٪ و 0.37 على التوالي.

تظهر نتائجنا أن القوة المضادة للميكروبات لهذه الزيوت مهمة للغاية وتتميز بمفعول مبيد للجراثيم ضد الجراثيم المثارة بما يتناسب مع التركيز المطبق ، بأقطار مناطق التثبيط التي تتراوح من 9 إلى 16 ملم ، ومن 6 إلى 9 ملم مع الأحمر المحلي والصيني الأحمر على التوالي.

أما بالنسبة لنتائج الهيدرولا ؛ التأثير المثبط الذي لوحظ هو متوسط للنوعين على السلالات البكتيرية الثلاثة. أما فيما يتعلق بالعصير المائي للصنف الأحمر المحلي ، فقد لوحظ نشاطه المضاد للميكروبات في البكتيريا الثلاثة بأقطار تتراوح من 13 إلى 18 مم ، ومن ناحية أخرى ، فإن العصير المائي للأحمر الصيني يؤثر فقط على البكتيريا. E. Coli, Bacillus subtilis subsp. spizizenii B cillus subt lis subsp. البكتيريا.

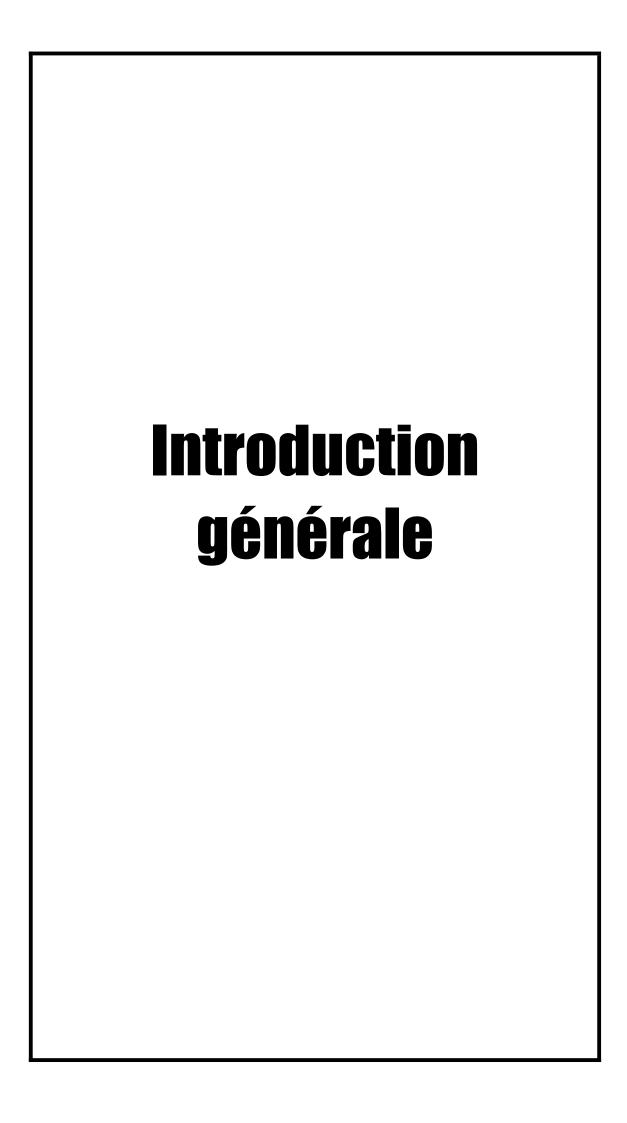
بأقطار 9 و 11 ملم على التوالي.

لوحظ التأثير المثبط للعصير الميثانولي للصنف الأحمر المحلي بأقطار متوسطة فقط على البكتيريا . Pseudomonas aeruginosa

من ناحية أخرى ، في الصنف الأحمر الصيني ، لم يلاحظ أي نشاط مثبط على السلالات البكتيرية الثلاثة. الكلمات المفتاحية:

Allium Sativum ، الزيوت الأساسية، الهيدرولا، العصير المائي ،

E. Coli C Bacillus subtilis subsp.spizizenii 9 Pseudomonas aeruginosa



## Introduction

Les céréales ne cessent d'être au centre des préoccupations des gouvernements, nationaux et internationaux, elles constituent l'aliment de base des populations à travers le monde notamment pour les pays en voie de développement, comme l'Algérie. Cependant, la culture du blé est exposée à de nombreux ennemis et ravageurs. Plusieurs foyers de maladies cryptogamiques continuent à être décelés par le réseau de surveillance de INPV, dans la majorité des Wilayas céréalières du Centre, de l'Est de l'Ouest Algérien. (FEDDAOUI et BOUCHELAGHEM, 2018).In (DJERBOUA, 2020)

Plusieurs contraintes, biotiques et abiotiques réagissent négativement sur la production agricole. Les insectes ravageurs, les micro-organismes phytopathogènes (champignons, virus, bactéries) et autres ravageurs considérés comme un facteur limitant de rendement, s'attaquent aux plantes selon leur stade de développement. (LABLALTA,2018 in LAIFAOUI et *al* ;2020).

L'utilisation des produits chimiques constitue à l'heure actuelle la technique la plus utilisée pour lutter contre les champignons phytopathogénes nuisibles grâce à son efficacité et de son application facile et pratique (MAGAN et OLSEN, 2004 in (LAIFAOUI *et al.* 2020).

La mauvaise utilisation des produits chimiques de synthèse en agriculture, en particulier les fongicides, ont conduit au développement de résistances par les pathogènes des plantes à ces derniers, les rendant inefficaces (OSMAN et AL-REHAIYANI, 2003).

La recherche de nouvelles molécules en prenant en compte d'autres critères que l'efficacité, est devenue indispensable. La lutte biologique par l'utilisation de substances naturelles antioxydantes et antifongiques pourrait constituer une alternative aux produits chimiques.(MAIHEBIAU, 1994 in LAIFAOUI *et al.* 2020)

Depuis des siècles les communautés humaines ont utilisé des biopesticides d'origine végétale pour lutter contre les ravageurs des cultures et des denrées stockées.

Ces produits constituent sans doute une des clés du développement durable des

activités agricoles dans le monde. Les récents progrès enregistrés dans les techniques de chimie analytique et de biologie moléculaire ont en effet permis une meilleure compréhension des interactions entre plantes et phytoravageurs ou entre elles (allélopathie), ainsi que des mécanismes de communication entre les organismes et la découverte des gènes de résistance des plantes. (BERNARD *et al.*, 2002)

L'ail est considéré au niveau thérapeutique et nutritionnel comme l'épice de vie depuis l'aube des temps, il fait partie des alliacées. L'ail a longtemps été arraché à la famille des liliacées dont font partie l'oignon et le poireau, il se développe à l'état sauvage dans les régions de l'Asie centrale. Elle est utilisé également comme biopesticide. Les substances soufrées de l'extrait d'Ail montrent de multiples activités pesticides qui peuvent les destiner à de nombreuses applications phytosanitaires. Il a été démontré que ces composés ont des effets fongicides que nématicide et insecticides (BOURGOIN et al., 2017 In DJERBOUA 2020).

Les propriétés antibactériennes de l'ail écrasé, sont connues depuis longtemps. Plusieurs études ont montré que diverses préparations d'ail affichaient un spectre large d'activité antibactérienne contre les bactéries Gram positives et Gram négatives dont les espèces *Escherichia*, *Salmonella*, *Staphylococcus*, *Pseudomonas sp*, et *Bacillus*. (BERKANE Omar ;TOUMI Mohamed 2017).

Ainsi, les extraits de plantes comme fongicides naturels commencent à être utilisés en agriculture.(LASSAL et *al*, 2020)

Des études récentes ont montré que les huiles essentielles et leurs constituants présentent un important potentiel en tant qu'agents Antimicrobien et dans plusieurs domaines industriels et médicaux.

La diversité moléculaire des métabolites qu'elles contiennent, leur confère des rôles et des propriétés biologiques très variés, ainsi qu'une utilisation moins dommageable, car ils n'ont pas d'effets secondaires(AMARTI *et al*, 2008; MAZARI *et al*, 2010 ;ROSATO *et al*, 2010 ;GOETZETGHEDIRA, 2012 In DJEBBARI et *al*, 2021).

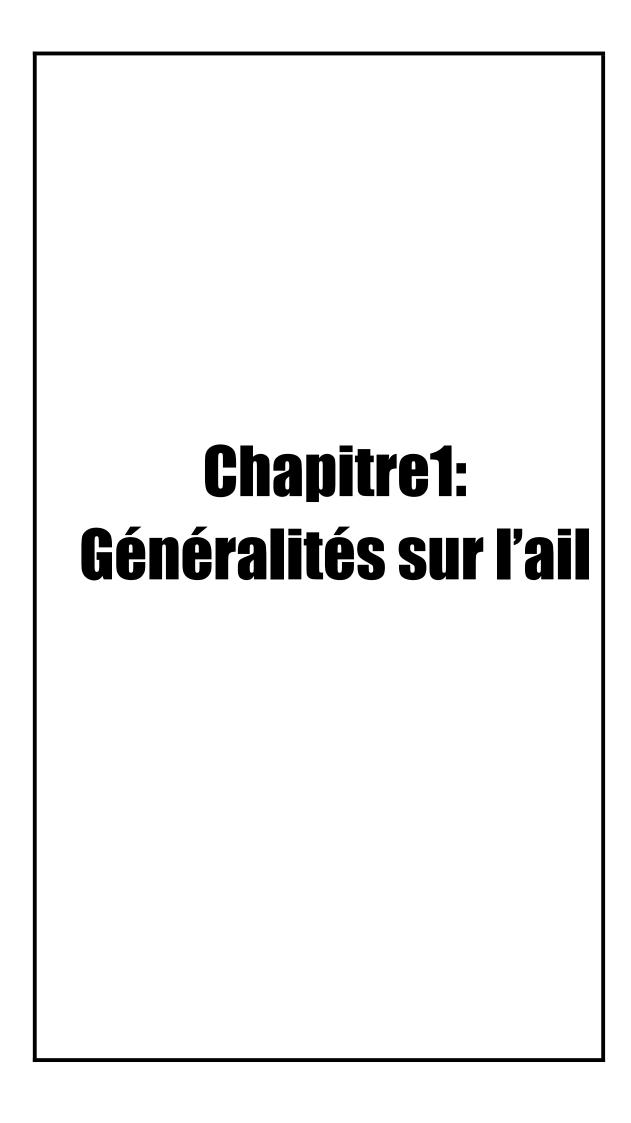
Aujourd'hui, il existe un intérêt croissant pour les productions biologiques et éco-responsables ainsi que les techniques alternatives aux produits chimiques. L'ail (Allium sativum L.) est de plus en plus mis en avant pour ses propriétés antimicrobienne notamment grâce à la présence d'allicine. Ainsi, cette étude a pour objectif de déterminer l'effet inhibiteur des huiles essentielles et des différents extraits d'allium sativum (hydrolat ; jus aqueux et jus méthanolique obtenu par hydrodistillation sur la croissance de trois souches bactériennes: E.Coli, Pseudomonas aeruginosa et Bacillus Subtilis subsp.spizizenii.

Notre mémoire est répartie en trois chapitres :

Le premier où on va parler de l'ail des huiles essentielles ainsi que les bactéries étudiées.

Un deuxième chapitre qui aborde le matériel végétal et bactérien utilisé ainsi que toutes les méthodes qui lui ont été appliquées.

Un dernier chapitre où les résultats obtenus vont être discutés avant de sortir avec une conclusion et quelques perspectives futures.



# Chapitre 1 : Revu bibliographique

# I. L'ail: Allium sativum.L

L'ail cultivé ou l'ail commun est appelé en latin *Allium sativum* L. Une plante monocotylédone, herbacée, vivace, bulbeuse et à nombreuses fleurs blanches ou roses formant une inflorescence en ombelle. Le bulbe mère repose sur une structure plate appelée plateau d'où partent les racines. Il est entouré d'environ 8 à 12 bulbilles ou caïeux couramment désignés sous le terme de gousses (DETHIER,2010 In CHERADi et SARNI;2016).

Le bulbe et les gousses sont entourés de pellicules très fines de couleur blanche ou rose à pourpre. Il existe 700 variétés d'aulx qui varient selon leur grosseur, leur saveur et leur couleur. La reproduction de *Allium sativum* est strictement végétative et ceci, à partir d'une gousse.

L'ail est sans doute l'un des légumes les plus anciennement domestiqués par les humains, qui est aussi utilisé dans la médecine traditionnelle pour ces propriétés thérapeutiques recherchées. Pour ce dernier usage l'ail a attiré l'attention de nombreux chercheurs, dont ils se sont servis aussi bien pour se soigner que pour se nourrir.

L'ail est non seulement utilisé également en cuisine comme condiment pour ses vertus aromatiques, car il relève le goût des viandes et des sauces mais utilisé en phytothérapie pour ses effets anti-tumoraux, anti-cholestérol, antifongiques, antibactériens, antiviraux, antiparasitaires, antioxydants et hypoglycémiants. Il agit aussi sur le système vasculaire (TAHRI et *al.*, 2007 In CHERADI et SARNI ;2016).

Parmi les "*Alliums*", l'ail possède la plus puissante et pénétrante odeur, les Grecs l'appelaient "rose puante". Le nom commun "ail" et le nom botanique "*Allium*", viennent du mot celtique "All" qui signifie "qui brûle" (BENZEGGOUTA, 2005).

# 1. Origine géographique de l'ail

L'ail est originaire d'Asie centrale, on pense qu'il dérive de l'espèce asiatique *Allium longicuspus*. On a retrouvé des gousses d'ail en argile datant de 3750 ans avant J-C. 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.

Tous les médecins antiques lui ont reconnu des vertus contraceptives bactéricides, diurétiques, laxatives, vermifuges antitussif. En Sibérie, on s'en sert pour guérir les infirmes et rajeunir les vieux. En Égypte, dés l'époque pharaonique, on remarque ses propriétés nutritives (EDETRANT, 2002).

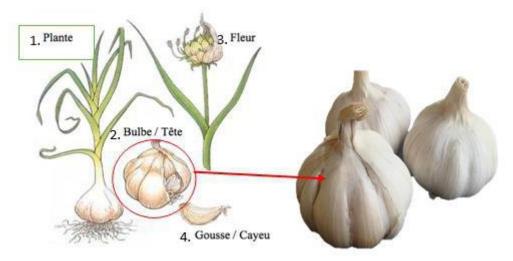
L'ail est considéré au niveau thérapeutique et nutritionnel comme l'épice de vie depuis l'aube des temps. On prête d'ailleurs à cette plante d'innombrables vertus, anti bactérienne (CAVALLITO et *al.*, 1944), anti-cholestérol , anti-tumoraux(STERLING et EAGLING, 2001) . L'extrait d'ail est utilisé comme antidote contre les morsures de vipères ou les piqûres de scorpions.

## 2. Habitat et répartition géographique

L'Allium sativum est originaire de l'Asie Centrale, mais cultivé maintenant dans de nombreuses parties du monde, notamment en Europe, en Afrique du Nord, en Asie, en Amérique du Nord et en Afrique de l'Ouest (EDOUARD, 1991;MORRISON, 1994).

## 3. Description botanique de l'Allium sativum.L

L'ail cultivé est une plante vivace monocotylédone et diploïde (2n =2X =16) (FIGLIUOLO et *al*; 2001). Très répandue, la racine bulbeuse de ce dernier est comestible. Etroitement apparenté à l'oignon et au poireau, l'ail à une odeur et un goût forts, il est souvent employé comme condiment en cuisine dans de nombreuses recettes. Une tété d'ail se compose de plusieurs caïeux ou gousses d'ail (KOCH et *al*:1996).



**Figure 1**: Morphologie de l'ail (photo biophytopharm In Gambogou et al, 2019).

L'ail ne se trouve plus à l'état sauvage, de plus, sa reproduction est strictement végétative (BLUMENTHAL et *al* ;2000).

L'ail cultivé atteint en général 60 cm de hauteur, Ses feuilles embarrassantes, plates, terminées en pointe, sont d'un vert glauque presque bleu pour certaines variétés. L'inflorescence est une ombelle sphérique portant de petites fleurs étoilées allant du blanc au rose violacé. La partie souterraine est un gros bulbe divisé en gousses ou caïeux.

#### 4. Culture et conditionnement

Le rendement d'ail varie en fonction du climat, de l'altitude, du type de sol et du pH, des techniques culturales, et de la variété . L'ail, comme l'oignon, a des besoins en fertilisants et en lumière élevés. Un pH compris entre 6,8 et 7,5 est idéal.

L'ail pousse bien sur n'importe quel sol, cependant il préfère un sol léger, bien drainé, friable, et de préférence riche en matière organique qui joue un rôle primordial dans la rétention de l'eau. Il est préférable de commencer la préparation du sol, l'année précédente (SI BENNASSEUR 2005).

Concernant l'installation de la culture, les semences d'ail doivent être stockées sous forme de bulbe entier, si non les girofles se détériorent rapidement.

Le bulbe doit être fissuré juste avant la plantation. Dans le cas où le producteur compte utiliser des bulbes produits sur sa propre exploitation, il est recommandé qu'il leur laisse plus de temps pour mûrir que ceux qui sont destinés à la vente dans la mesure où cette pratique facilite la fissuration des bulbes au moment du semis (SI BENNASSEUR 2005).

## 5. Composition biochimique de l'ail

L'ail est une plante saine et complète qui jouit de propriétés médicinales très intéressantes. Il est utilisé autant en prévention de maladies que pour en guérir, il est composé en moyenne de 65 % d'eau (contre plus de 85% pour la plupart des légumes frais), 27,5 % de glucides, 2 % de protéines (BANFITEBIYI et *al.*, 2018). De 4,7 % de fibres et contient des principes actifs tels que les composants soufrés.

D'autre part, il regorge des vitamines A, B ou C, oligoéléments tels que le sélénium, le cuivre, le fer et le magnésium et des acides aminés.

## ✓ Les glucides

L'ail est composé de monosaccharides (fructose, glucose), des disaccharides (saccharose, lactose), des trisaccharides (raffinose), des tétrasaccharides (tétrafructose, scorodose), despolysaccharides (l'amidon, dextrine, inuline, fructosane), et autres comme le D-galactane, larabinose, pectines, D-fructane.

## ✓ Les lipides

La concentration en lipides dans l'ail est trop faible pour agir dans le corps. Il s'agit des acides gras (acide linoléique, acide linolénique, acide oléique, acide palmitique), des triglycérides, des phospholipides (phosphatidylcholine, phosphatidylsérine, phosphatidyléthanolamine), des prostaglandines (prostaglandine A, prostaglandine E, prostaglandine F).

## ✓ Les composés soufrés :

2,3% de composés soufrés qui sont: Alliine, allicine (C6H10OS2) et les dérivés d'allicine (trisulfures divers, les ajoènes, disulfure de diallyl). Ils sont à l'origine de la plupart des vertus pharmacologiques.

## ✓ Les principaux composés oragnosulfrés présents dans le bulbe de l'ail

L'alliine (S-allylcystéine sulfoxide), la \( \forall \) glutamyl-S-allylcystéine, la méthiin (S-méthylcystéine sulfoxyde), l'isoalliin (S-trans-1-propenylcystéine sulfoxyde) (ANTON, 2016).

# ✓ Les protides

Les protides regroupent les protéines et les acides aminés (la lysine, la thréonine, la valine, la méthionine, l'isoleucine, le tryptophane, la phénylalanine, la leucine, l'histidine, l'arginine, l'acide aspartique, la sérine, la glutamine, la proline, la glycine, l'alanine et la cystéine).

#### ✓ Fibres alimentaires

Les fibres alimentaires sont les parties d'origine végétale non transformées par les enzymes de la digestion. Ce sont des substances résiduelles provenant de la paroi cellulaire ou le cytoplasm des végétaux, constituées de mélanges complexes de glucides.

### ✓ Les minéraux et oligoéléments

les principaux minéraux et oligoéléments sont :

Le phosphate, le potassium, le magnésium, le cuivre, le fer, le manganèse, le zinc et le sélénium. L'ail possède une grande quantité de sélénium contrairement aux autres légumes : diméthylsélénide, acide méthyle-ster-méthane-sulféno- sélénoïque, diméthyldisélénide, bi-(méthylthio)-sélénide, allylméthylsélénide, acide méthylester-2-propènesulfénosélénoïque, acide propylester-1-propènesulfénosélénoïque, allylthiométhylthiosélénide (ANTON, 2016).

#### ✓ Les vitamines

L'ail comprend des vitamines comme: vitamines A, B1, B2,B5, B6, C et E.

#### ✓ Quelques traces de pigments

Comme de la chlorophylle, des caroténoïdes, des anthocyanes (ce sont des pigments hydrosolubles qui donnent une coloration rouge violette ou bleue). Les quantités des pigments sont faibles dans l'ail, c'est pour ça qu'il n'est pas coloré.

## ✓ Autres composés divers

Des acides comme l'acide phénol, l'acide organique, les saponosides, les flavonoïdes, les phytohémagglutinines, les gibbérellines A3 et A7.

Tableau 1: Composition d'une gousse d'ail (TRUDEAU; 2006)

Poids /Volume	Ail cru, 3g/1 gousse
Calories	4g
Protéine	0,2g
Glucide	1g
Lipide	0,50g
Fibre alimentaire	0,1g

**Tableau 2:** Teneur de l'ail en élément minéraux et en vitamines dans 100g de matières fraîche (CANCE et al; 1992).

Composés	Teneur (mg)
potassium	446,000
Soufre	200,000
phosphore	144,000
Calcium	38,000
Chlore	30,000
Magnésium	21,000
Sodium	10,000
Fer	1,400
Zinc	1,000
Manganèse	0,460
Bore	0,400
Cuivre	0,150
Sélénium	0,020
Vitamine C (AC. Ascorbique)	30,000
Vitamine B1 (thiamine)	0,200
Vitamine B2 (riboflavine)	0,080
Vitamine B5 (nicotinamide)	0,650
Vitamine B6 (as. Pantothénique)	0,600
Vitamine E (tocophérols)	1,200

## 6. Classification de l'ail

L'ail cultivé atteint en général 60 cm de hauteur, Ses feuilles embarrassantes, plates, terminées en pointe, sont d'un vert glauque presque bleu pour certaines variétés.

L'inflorescence est une ombelle sphérique portant de petites fleurs étoilées allant du blanc au rose violacé. La partie souterraine est un gros bulbe divisé en gousses ou caïeux. L'ail ne produits pas de graines sous nos climats. Ont le multiplie

en replante les caïeux. La partie utilisable de l'ail est le bulbe ainsi que les jeunes feuilles pour aromatiser les salades, les omelettes et les fromages frais.

**Tableau 3:** Classification classique de l'ail (*Allium Sativum*).(Gambogou et *al;* 2019)

Règne	Plantae
Sous règne	Tracheobionta
Division	Magnoliophyta
Classe	Liliopsida
Sous classe	Liliidae
Ordre	Liliales
famille	Liliaceae
Genre	Allium
Nom binomial	Allium sativum

## 7. Propriétés d'Allium sativum L.

Famille: Liliacées Humidité du sol: normal à sec

Origine: Asie

Période de floraison: été Hauteur: 60 cm

Couleur des fleurs : blanc

Type de plante : légume

**Exposition**: Soleil

Rusticité: Selon les variétés

Type de sol : neutre

Plantation, reportages: printemps et automne

Méthode de multiplication : division des caïeux

Espèces, variétés intéressantes :

- Allium sativum (Blanc de latine) pour une plantation ou printemps.

- *Allium sativum* (Blanc de Beaumont) pour une plantation en automne.

**Maladies et insectes nuisibles :** la rouille, le mildiou, la pourriture blanche, teigne et la mouche de l'oignon.

# 8. Les différents types d'ail

Des lors, se pose le problème du mode de préparation et de la composition des extraits qui sont utilisés dans les tests pharmacologiques. En effet, il n'existe pas d'essence d'ail qui soit stockée et secrétée par des organes caractéristiques et la présence de telle ou telle molécule dans les extraits dépend de leur mode de préparation. Les produits commerciaux de l'ail se présentent sous diverses formes:

#### a. L'huile essentielle d'ail

Une gousse d'ail contient 0,2 à 0,5% d'huile essentielle, avec de nombreux composés soufrés comme le disulfure de diallyl ou le trisulfure de diallyl. Les gousses d'ail sont d'abord broyées dans l'eau puis distillées ou extraites grâce à un solvant

organique, comme l'hexane qui permet d'obtenir la fraction d'huile. Les composés solubles dans l'eau, y compris l'allicine, sont éliminés.

Des capsules d'ail sont disponibles contenant de l'huile végétale avec une petite quantité d'huile essentielle, puisque l'odeur est très prenante (FENG et *al.*, 2018 In BANFITEBIYI et *al*; 2019).

# b. La poudre d'ail

La poudre d'ail déshydratée est généralement utilisée comme condiment dans les aliments. Les gousses d'ail doivent être pulvérisées, broyées, séchées pour en extraire la poudre. Le principal composé contenu dans la poudre d'ail et dans l'ail frais est l'alliine. Elle contient certains constituants similaires à ceux de l'ail cru, même si les concentrations peuvent varier considérablement. De plus, l'inactivation de l'alliinase se fait lorsque le pH est inférieur à 3. Il est totalement décomposé à 20°C en 20 heures (MERCIER, 2016 In BANFITEBIYI et *a*l; 2019).

#### c. Le macérât ou l'extrait d'huile d'ail

Il est également utilisé comme condiment. Le macérât d'huile est fait de mélanges de gousses d'ail entièrement broyées encapsulées dans l'huile végétale. Pendant le processus de fabrication, l'alliine peut être convertie en allicine. Comme l'allicine est instable, il se décompose rapidement, le macérât contient principalement des composés tels que les vinyldithiines, les ajoènes (JOSHI et *al.*, 1987).

## d. L'extrait d'ail vieilli

Une solution d'extraction composée d'eau distillée et diluée dans 15-20% d'éthanol doit être utilisée pour extraire l'ail dit vieilli. Cet extrait doit être âgé d'au moins 10 mois à température ambiante. Ce stockage conduit à une altération de la composition de l'ail. Pendant ce processus, l'odeur, les composés irritants sont convertis en composés soufrés stables et sûrs.

Les composés d'ail sont des composés solubles dans l'eau et une petite quantité de composé soluble dans l'huile. Les composés solubles dans l'eau sont S-Allyle Cystéine (SAC) et S-Allyle-Mercaptocystéine.

#### 9. Commercialisation et consommation

L'ail figure parmi les espèces culinaires les plus populaires dans le monde entier et très employé, notamment, dans la cuisine méditerranéenne et asiatique, l'ail est consommé aussi bien frais que traité, par exemple, en pâte, en lamelles, déshydraté, écrasé, etc. Le marché mondial de l'ail s'est accru au cours des dernières années, en raison de changements dans les habitudes de consommation.

Aujourd'hui, les qualités prophylactiques et curatives de l'ail, considéré comme l'un des principaux ingrédients de la soi-disant "diète méditerranéenne", sont pleinement démontrées (FAO, 2014).

Aux États Unis, la consommation d'ail a augmenté ces dernières années et cela est dû surtout au développement de la restauration asiatique et aussi à la publicité sur les bienfaits de l'ail sur la santé.

Le commerce mondial de l'ail est dominé par les pays asiatiques. La chine est le premier producteur mondial, la majorité de la récolte provient d'une province agricole située au Sud-Est de Pékin appelée Shandong.

Aux Etats Unis, un quart de la récolte est commercialisé frais. Le reste est vendu aux industriels et aux transformateurs. L'ail frais peut être commercialisé 3 mois après sa récolte ou bien 5 à 8 mois s'il est semi-sec. On le trouve aussi haché et séché, sous forme de poudre ou de crème et sous forme de gousses conservées dans du vinaigre (BODNAR ., 2014 ).

La norme vise les variétés et types commerciaux des bulbes issus d'*Allium* sativumL., destinés à être livrés à l'état frais, semi-secs ou secs au consommateur, après conditionnement et emballage, à l'exclusion des aulx destinés à la transformation industrielle.

Les normes internationales ISO ont spécifié des normes pour l'ail :

- ISO 5560 : 1997. Norme Internationale. Ail déshydraté (Allium sativum)
   Spécificité.
- ISO 6863 : 1995. Norme Internationale. Ail. Stocké en chambre froide

Pour prolonger la période d'entreposage, on utilise une technique qui permet d'irradier l'ail pour qu'il ne germe pas (MEDDEB, 2008). La conservation des bulbes d'ail séchés se fait à une température comprise entre 12 et 15 °C dans des locaux secs et aérés (ITCMI, 2010).

# 10. Les effets thérapeutiques de l'Ail

#### a. Effet Antimicrobien

L'ail est surnommé pénicilline russe pour son usage répondu comme agent Antimicrobien topique et systématique, l'allicine a des effets Antimicrobien, in vitro, contre beaucoup de virus, bactéries mycètes et des parasites, mais sous forme séchée en poudre (ANONYME, 2004).

En effet, l'ail sert depuis longtemps pour prévenir et combattre les infections. Les personnes vivant avec le VIH (sida) ont souvent recours à l'ail pour prévenir d'autres infections dues au champignon Candidatais,(GHANNOUM; 1990) à la Mycobactérie valium-intracellulaire et aux parasites du genre *Cryptospridium*. (DESHPANDE et *al*; 1993). En effet, l'ail peut inhiber la inhibé la croissance de chacun de ces microbes dans le cadre d'expériences de laboratoire (DAVIS et *al*, 1994).

### b. Effet antibactérien

L'ail est traditionnellement utilisé depuis l'antiquité pour lutter contre les infections.

En 1858, Louis Pasteur démontre expérimentalement cette action sur les bactéries gram positives, les salmonelles et la bactérie *Escherichia coli*. Elle est aussi active contre les espèces de *Proteu*s, les *N*itrobactéries, les entérobactéries, les *Pseudomonas et Klebsiella*.

Un extrait aqueux d'ail a ainsi été testé sur différentes soupçonnées de provoquer des infections dentaires (gingivite, parodontite). Si l'ail neutralise le développement et tue la plupart des organismes testés, il est particulièrement efficace contre les bactéries gram positif et pourrait devenir un outil thérapeutique intéressant contre la parodontite pour deux d'entre eux, victimes les bactéries détectées dans le genou étaient des clones génétiques de celles qui leur causaient l'infection buccodentaire (Fusobacterium nucleatum dans un cas et Serratia proteamaculans dans l'autre (BERKANE et TOUMI; 2017).

## c. Effet antifongique

L'ail possède une réputation mondiale comme un remède folklorique antifongique. Des donnes *In vitro* montre que l'extrait aqueux d'ail et l'huile concentrée d'ail ont des effets inhibiteurs semblables aux préparations pharmaceutiques. Elles exercent une inhibition minimale contre l'Aspergillus (ANONYME; 2004).

#### d. Effets antiviraux

Certaines études ont montré que l'ail ralentisse la production de VIH en stimulent l'activité des cellules tueuses naturelles. Il est également possible qu'au moins une des composantes de l'ail ait un effet antiviral direct. Ces même études ont montré que l'ail pouvait inhiber la réplication du VIH cette composition se trouve en grande quantité dans le macéré d'huile de l'ail (HOSEIN; 1998).

Les antioxydants sont des composés qui protègent les cellules du corps des dommages causés par les radicaux libres. Ces derniers sont des molécules très réactives qui seraient impliquées dans le développement des maladies cardiovasculaires. de certains cancers d'autres maladies liées et vieillissement.( WILLCOX et al, 2004). L'ail contient différents composés antioxydants tels des flavonoïdes (MIEAN et MOHAMED; 2001) et des

tocophérols.(GORINSTEIN et al; 2005).En plus des composes sulfures qui contribueraient aussi à son activité antioxydant (BERKANE O et TOUMI; 2017).

D'autres études sont considérées que ce sont les composées phénoliques qui sont responsables de l'effet antioxydant de l'ail. (HARBON, 1994).

### 11. Les effets indésirables de l'ail

L'ail peut modifier le goût du lait maternel. les femmes qui allaitent devraient donc surveiller leur consommation d'ail durant cette période (BLOCH, 2000).

Par ailleurs (BERKANE et TOUMI ; 2017) ont constaté qu'une consommation excessive d'ail cru, particulièrement lorsque l'estomac est vide, peut causer des désordres gastro-intestinaux.

En plus, la consommation d'une quantité élevée et régulière d'ail pourrait modifier le glucose sanguin, les personnes diabétiques devraient y porter une attention particulière (BLOCH, 2000).

### 12. Différentes utilisations de l'ail

### > Utilisation culinaire:

Depuis l'aube des temps, l'ail est considéré comme l'épice de vie (OULD KADDOUR et LOTMANI; 2009). Il apporte du goût et relève la saveur des sauces, des viandes et des plats. Il est considéré comme une épice par la classification Anglaise, car ne présentant pas de chlorophylle. Il est classé parmi les plantes aromatiques vue son odeur et son piquant et aussi comme condiment car il est utilisé dans les assaisonnements et les marinades. Enfin on l'associe au groupe de légumes pour l'apport nutritionnel qu'il peut apporter.

L'ail est vendu frais, séché, en poudre, en granules comme condiment. La gousse entière peut être cuite accompagnant les légumes.

L'ail est consommé dans le monde entier mais surtout chez les asiatiques et les méditerranéens. Les Italiens apprécient beaucoup une sauce à base d'ail et d'huile d'olive, appelée « Aïoli ». L'ail accompagne parfaitement le poisson les fruits de mer,

18

la volaille, l'agneau ...

### Produits pharmaceutiques

L'huile essentielle d'ail est vendue sous forme de gélules en pharmacie et en parapharmacie. L'OMS considère « cliniquement établi » l'usage de l'ail comme un aliment complémentaire, traitement adjuvant, aux mesures alimentaires destinées à diminuer les taux de lipides dans le sang (cholestérol et triglycérides) et admet que l'ail peut être utile lors de l'hypertension artérielle modérée.

Une commission du ministère de la santé Allemand, reconnaît l'usage de l'ail dans le traitement adjuvant des régimes destinés à diminuer les lipides du sang et dans la prévention des modifications vasculaires liées à l'âge. L'ESCOP reconnaît l'usage d'ail dans la prévention d'athérosclérose et dans le traitement des excès de lipides dans le sang.

Le NIH considère comme « fondé sur de bonnes évidences scientifiques » l'usage de l'ail pour « diminuer modérément les taux sanguins en cholestérol.

La recherche scientifique travaille sur les associations de l'ail et les antibiotiques pour élargir le spectre d'action de ces derniers et aussi l'association de l'ail avec les huiles essentielles des autres plantes (CHERADI et SARNI; 2016).

### > L'ail dans l'industrie agroalimentaire

L'ail est utilisé comme antioxydant dans les huiles pour les conserver longtemps. On remplace les antibiotiques par la poudre d'ail dans l'aliment de bétail, de volaille et de poisson, pour qu'il n'y ait pas de résidus d'antibiotiques dans la viande (SALEH et *al.*,2015). Dans le poisson fumé, la charcuterie et la viande fraîche conservée à 4°C, on met de l'ail pour éviter leur altération et leur rancissement (NURWANTORO et *al.*, 2015).

### II. Les Bactéries

### 1. Introduction

Les maladies des plantes peuvent être causées par des conditions

19

environnementales défavorables liées au climat, à la nutrition, à la pollution ou par des agents parasitaires. Ces derniers sont par exemple les virus, les bactéries, les oomycètes, les champignons et les nématodes.

L'ensemble de ces stress est responsable de lourdes pertes agronomiques. De nombreux travaux de recherche sont donc menés dans ce domaine afin d'approfondir les connaissances sur les maladies des plantes et de pouvoir développer de nouvelles stratégies de lutte.

Les agents pathogènes peuvent altérer plusieurs fonctions basales des plantes en s'attaquant à leurs différents organes ce qui réduit le rendement et la qualité des cultures.

L'intensification de la production végétale se porte sur une utilisation massive d'intrants agricoles non renouvelables tels que les engrais chimiques, les pesticides, les fongicides, les herbicide, etc. Afin de maximiser la production et améliorer le rendement. (Anonyme 1)

Le monde bactérien est très vaste et les bactéries peuplent notre environnement. Elles assurent à la surface du globe, sur le sol et dans les eaux d'innombrables fonctions ; elles exercent des actions bénéfiques (ex : bactéries fertilisantes du sol), mais d'autres peuvent provoquer des infections chez les plantes, les animaux et également chez l'homme (KHIATI; 1998 IN BENZEGGOUTA; 2005).

### 2. Les maladies des plantes

Les maladies sont assez nombreuses et peuvent se montrer redoutables à différents stades de son développement (LEPOIVRE, 2003) sachant que les céréales occupent les plus grandes superficies et leur grain constituent la base du système alimentaire algérien, particulièrement les blés qui font partie du paysage agricole et socioculturel de l'Algérie (RASTOIN et BENABDERRAZIK; 2014 IN HAMANI; 2020).

Les micro-organismes (champignons, bactérie et virus) attaquent les espèces cultivées causant des dommages qualitatifs et quantitatifs. Selon les facteurs

climatiques, l'importance des pertes de rendement varie d'une année à l'autre (ZAHOUR, 1992).

Les bactéries phytopathogènes proviennent essentiellement du sol, elles sont identifiées suivant les critères de la classification et se rangent principalement dans les familles suivantes : *Pseudomonadaceae, Xanthomonadaceae, Enterobacteriaceae, Lactobacillaceae, Bacillaceae, etc...* À la récolte, les produits céréaliers sont toujours faiblement contaminés par les Streptomycetaceae, dont les principaux représentants sur les grains semblent être : *Streptomyces albus* et *Streptomyces griseus* (CAHAGNIEr; 1996, RICHARD-Molard; 1998 IN DJARBOUA et LAIFAOUI; 2020)

### 3. Généralités sur les bactéries

Les bactéries sont des pathogènes très courants sur les cultures, dans les matières organiques en décomposition et dans le sol. Ces organismes microscopiques sont constitués d'une seule cellule. Le caractère pathogène de certaines bactéries est d'ailleurs lié à leur capacité de multiplier anormalement (LAFFONT; 1985 IN HAMANI; 2020).

Les bactéries sont des micro-organismes unicellulaires classés parmi les procaryotes, car ils ne possèdent pas de membrane nucléaire. Ce caractère les distingue des autres organismes unicellulaires classés parmi les eucaryotes (champignons, algues, protozoaires). Elles sont divisées en bactéries proprement dites (Bacteria) et bactéries primitives (Archaea). Toutes les bactéries rencontrées en pathologie appartiennent aux bactéries (BOUDJOUREF; 2011).

Les bactéries ont généralement un diamètre inférieur à 1  $\mu$  m. On peut les voir au microscope optique, à l'état frais ou après coloration. Leur forme peut être sphérique (cocci), en bâtonnet (bacilles), incurvée (vibrions) ou spiralée (spirochètes).

Les détails de leur structure ne sont visibles qu'en microscopie électronique. (NAUCIEL et VILDÉ, 2005 IN AMINA; 2016).

### a. Structure des bactéries

Les bactéries sont des procaryotes qui ne possèdent pas un noyau vrai" pourvu d'une membrane mais un unique 'chromosome nu. Les bactéries pathogènes pour les plantes sont réparties parmi les bactéries à gram-positif et négatif. La plupart des bactéries phytopathogénes appartiennent aux genres tels que; Acidovorax, Agrobacterium, Burkholderia, Clavibacter, Erwinia, Pantoea, Pectobacterium, Pseudomonas, Ralstonia, Streptomyces, *Xanthomonas*, *Xylella*, Phytoplasma et Spiroplasma, Les bactéries sont disséminées par le vent, la pluie, les insectes ou les pratiques culturales. Elles pénètrent dans les plantes au niveau de blessures ou d'ouvertures naturelles comme les stomates. Elles occupent le xylème ou les espaces intercellulaires de différents tissus végétaux regroupés sous le terme d'apoplasme.(Anonyme 1).

Pour proliférer dans leur hôte et établir la maladie, elles utilisent plusieurs stratégies de virulence comme la dégradation de la paroi végétale et la production de phytotoxines et d'exopolysaccharides. Cependant, une des armes les plus efficaces et partagée avec les bactéries pathogènes d'animaux est le système de sécrétion de typeIII qu'il permet aux bactéries de genres *Pseudomonas*, *Xanthomonas*, *Erwinia* et *Ralstonia* d'injecter un ensemble de protéines, dites effecteurs de type III (ET3), directement dans le cytoplasme des cellules hôtes(Anonyme 1)

### b. Effet des huiles essentielles sur les bactéries

La recherche des principes actifs potentiels des plantes est plus que jamais d'actualité. Les huiles essentielles (HEs) extraites des plantes aromatiques constituent une source potentielle de molécules naturelles bioactives.

En raison de leurs propriétés biologiques, les HEs ont gagné beaucoup d'attention et ont donné naissance aux diverses investigations sur leurs potentiels antimicrobien alternatifs pour le traitement des maladies infectieuses et en industrie agroalimentaire.

22

Comme beaucoup d'HEs, l'huile *d'Allium sativum* est très connue pour ses propriétés pharmacologiques et son pouvoir antiseptique, ces propriétés spasmolytiques, son activité antimicrobienne, antioxydant et anti-inflammatoires (BOUKHATEM et *al*; 2010); (MARUYAMA; 2006).

Leur utilisation est liée à leurs larges spectres d'activités biologiques reconnues (AMARTI; 2009). Depuis l'antiquité, les extraits aromatiques de plantes ont été utilisés dans différentes formulations, comme les médicaments et la parfumerie (HEATH, 1981). Les huiles essentielles ont été considéré comme agents antimicrobien les plus efficaces dans ces plante, antioxydant, anti-inflammatoire et elles présentent également un fort pouvoir antifongique (CHAMI et al; 2005 ; GIORDANi; 2006; BILLERBECK; 2007 ; JUHAS et al; 2009).

Les qualités microbiologiques des plantes aromatiques et médicinales sont connues. Toutefois, la première mise en évidence de l'action des huiles essentielles contre les bactéries a été réalisée en 1881 par Delacroix (BOYLE; 1995). Depuis, de nombreuses huiles ont été définies comme antibactériennes (BURT; 2004).

Leur activité antimicrobienne est principalement fonction de leur composition chimique, et en particulier de la nature de leurs composés volatils majeurs (SIPAILIENE et *al.* 2006 ; OUSSOU; 2009).

### 4. Caractéristiques des souches bactériennes utilisées

### a. Escherichia coli

La bactérie *Escherichia coli* a été décrite pour la première fois en 1885 après avoir été isolée dans des selles de nourrissons par l'allemand Theodor Escherich. Son nom actuel lui est ensuite donné en 1919 par Castellani et Chambers (GRIMONT, 1987). Le genre *Escherichia* appartient à la famille des Enterobacteriacae. Salmonella ou encore Shigella appartiennent également à cette famille. Ce sont des bacilles à Gram négatif, aéro anaérobies facultatifs qui peuvent fermenter les nitrates et qui ne possèdent pas d'oxydase (LE MINOR et *al.* 1990).

Le genre Escherichia regroupe cinq espèces : E. blattae, E. coli, E. fergusonii,

*E. hermanii et E. vulneris.* Chaque espèce d'*Escherichia* possède des caractéristiques biochimiques particulières, permettant de les différencier (GRIMONT, 1987).

E.Coli est un coccobacille, gram négatif et mobile (ciliature peritriche). C'est une bactérie aérobie ou anaérobie facultative, catalase positif et oxydase négatif (IRVING et *al*; 2005 In SALHI; et *al* .2018).

Elle fermente le glucose et le lactose avec production de gaz. C'est une bactérie indicatrice de contamination fécale des eaux potables et des aliments (KAYSER et *al* .2005 IN SALHI; et *al*, 2018).

Les bactéries appartenant à l'espèce *E.coli* constituent la majeure partie de la flore microbienne aérobie du tube digestif de l'homme et de nombreux animaux. Certaines souches sont virulentes, capables de déclencher spécifiquement chez l'homme ou chez certaines espèces animales des infections spontanées des voies digestives ou urinaires ou bien encore des méningites néo-natales. *E.coli* est le germe responsable de 75 à 80 % des infections urinaires.

La recherche des *E.coli* est couramment effectuée dans des circonstances variées. Une culture sur milieu ordinaire est facilement réalisable, compte tenu du fait qu'ils n'ont pas d'exigences particulières pour leur multiplication. Elles sont caractérisés par une croissance rapide à 37°C avec un temps de génération de 20 minutes (JOLY et REYNAUD; 2000 IN OUSSAAD et RABET; 2017).

### b. Pseudomonas aeruginosa

C'est un bacille à Gram négatif ubiquitaire, présent notamment dans le sol et dans les milieux aquatiques, non sporulant de forme droite ou légèrement courbée. Il mesure de 1 à 5 µm de long et de 0,5 à 1 µm de large. Bien que ce pathogène, ayant un métabolisme oxydatif, non fermentaire, aérobie stricte, plusieurs isolats ont montré une capacité à croître en milieu anaérobie. La Pseudomonas aeruginosa est une bactérie mobile grâce à la présence d'un flagelle monotriche polaire.

Cette bactérie est catalase positive et oxydase positive. Elle possède une versatilité nutritionnelle remarquable pouvant utiliser une variété de sucres simples et

24

complexes, d'alcools et d'acides aminés comme seule source de carbone.

Elle est une bactérie mésophile capable de se multiplier à l'intérieur d'un large spectre de température allant de 4 à 45°C. La température optimale de croissance se situe entre 30 et 37°C. La morphologie de P.a, de même que pour tout le genre *Pseudomonas*, est facilement distinctive grâce à la production de la pyocyanine, un pigment bleu-vert diffusible dans le milieu extra cellulaire, d'où le nom de bacille pyocyanique (KAMAI; 2011).

Paeruginosa possède l'un des plus grands génomes bactériens connus, et contient la plus grande proportion de gènes de régulation et de gènes impliqués dans le catabolisme, le transport ou les systèmes d'efflux des substances organiques. La taille et la complexité de ce génome, la fréquence des mutations, la capacité d'accepter les transferts de matériel génétique via des éléments génétiques mobiles. (plasmides,transposons) expliquent le caractère évolutif de cette espèce bactérienne et ses capacités d'adaptation à divers types d'environnements ou d'acquisition de résistance à une grande variété d'antibiotiques (MÉRENS et al; 2013).

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.

### c. Bacillus subtilis subsp.spizizenii

Les espèces de *Bacillus* sont en forme de bâtonnet d'endospore aérobie ou facultativement anaérobie. Bactéries à Gram positive dans certaines espèces, les cultures peuvent devenir à Gram négatif avec l'âge.

*Bacillus* a été de plus en plus impliquées dans un large éventail d'infections, notamment les abcès, la bactériémie / septicémie, les infections des plaies et des brûlures, les otites, l'endocardite, la méningite, l'ophtalmie, l'ostéomyélite, la péritonite et infections des voies respiratoires et urinaires. (TURNBULL, 1996).

Ces bactéries sont capables de produire des endospores leur permettant de résister à des conditions environnementales défavorables. Celles-ci donneront naissance à de nouvelles bactéries en cas de conditions favorables. Les *Bacillus* sont hétérotrophes, saprophytes et ubiquitaires.

Elles sont fréquemment retrouvées dans le sol où certaines espèces ont un rôle dans le cycle du carbone et de l'azote. On peut trouver des *Bacillus* dans des denrées alimentaires. Certaines espèces peuvent être pathogènes pour l'homme et d'autres animaux (y compris des insectes) (PAULSINGLETON; 1999 IN MANSOUR et *al*; 2017).

### 5. L'aromatogramme

C'est une méthode de mesure *in vitro* du pouvoir antibactérien des huiles essentielles (GIRAULT, BOUGEON 1971). Cet examen est équivalent à un antibiogramme où les antibiotiques sont remplacés par des essences préalablement sélectionnées et reconnues.

Il s'agit d'une méthode en milieu gélose à l'agar-agar réalisée dans une boîte de Pétri. Le contact se fait par l'intermédiaire d'un disque de papier (de cellulose) de 6 mm sur lequel on dispose une quantité donnée d'huile essentielle10 μl) (BONDI D et *al;* 1993 IN LEILA; 2015).

26

Après ensemencement et incubation, on mesure le diamètre des zones d'inhibition. C'est un test de laboratoire pour déterminer quelle huile essentielle est plus active, dans une situation clinique donnée. Cet examen se fait de la même manière qu'un antibiogramme où les antibiotiques sont remplacés par des essences aromatiques, préalablement sélectionnées et reconnues. Cette technique datant de 1950 et a été perfectionnée depuis lors (LUU; 2002)(BENZZAGHOUTA; 2015)

Elle consiste à faire une culture de pathogènes venant des échantillons de tissus infectés, urines, prélèvements..., puis tester les huiles essentielles sur ces micro-organismes.

Les limites de l'aromatogramme sont ceux de n'importe quelle technique *in vitro*, il représente un point de référence essentiel, puisqu'il est identique à la technique utilisée pour mesurer l'activité bactéricide des antibiotiques, alors la comparaison est simple pour n'importe quel praticien. Cependant, l'activité anti-infectieuse est spécifique au malade, non au germe. Ce qui est en contraste avec le mode d'action des antibiotiques (LUU; 2002).

« L'aromatogramme est à la Phytothérapie ce que l'antibiogramme décrit par la pharmacopée française des antibiotiques est à la médecine ». Cette transposition due au Dr M. Girault dès 1971, est décrite dans le tome III du Traité de Phytothérapie et d'Aromathérapie (BELAICHE; 1979 IN RANDRIANA; 2010).

Il est basée sur une technique utilisée en bactériologie médicale, appelée antibiogramme ou méthode par diffusion en milieu gélose ou encore méthode des disques. Cette méthode présente l'avantage d'être d'une grande souplesse dans le choix des antibiotiques testés, de pouvoir s'appliquer à un très grand nombre d'espèces bactériennes, et d'avoir été largement évaluée par 50 ans d'utilisation mondiale (FAUCHÈRE; 2002 IN RANDRIANA; 2010).

### chapitre 2 : Matériel et méthodes

L'ensemble du travail a été réalisé au laboratoire de Génétique, Biochimie et Biotechnologies Végétales (GBBV) à l'université des Frères Mentouri Constantine1 et aussi au niveau de EURL «AROM'EST» située à la Wilaya d'Annaba.

L'objectif de notre travail consiste en premier lieu à extraire l'huile essentielle; l'hydrolat et le jus des deux variétés d'ail frais et évaluer son effet antibactérien, par réalisés « *in-vitro* » ; ensuite étudier leur effet antibactérien sur trois souches *E.Coli*, *Bacillus subtilis subsp.spizizenii et Pseudomonas aeruginosa* en utilisant plusieurs dilutions.

### I. Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé dans notre étude sont deux variétés d'*Allium sativum* : la rouge local et la rouge chinoise :

### 1. La rouge local

La quantité requise pour l'étude a été procurée au niveau de sa source à Ain Ben'sbaa, la commune de Hamma Bouziane wilaya de Constantine.



Figure 2: Représentation des gousses d'ail frais (rouge locale).

### 2. La rouge chinoise

A été procurée du marché de gros de Oued Athmania commune de la wilaya de Mila.



Figure 3: Représentation des gousses d'ail frai (rouge chinoise)

### II. Matériel biologique

L'activité antimicrobienne des huiles essentielles d'ail est évaluée sur trois souche bactériennes pathogènes: deux a gram négatives *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* et une bactérie a gram positive *Bacillus subtilis subsp.spizizenii* qui sont octroyées par le laboratoire de microbiologie de la faculté science de la nature et de la vie d'Université Frère Mentouri Constantine1.

## III. Extraction d'huiles essentielles et hydrolat par hydrodistillation

### 1. Principe

L'hydrodistillation est la méthode ancienne et simple (MEBARKI, 2010 ; ABDELLI, 2017).

Le principe consiste à porter à ébullition dans un ballon, un mélange d'eau et de plante dont on souhaite extraire l'huile essentielle.

Les cellules végétales éclatent et libèrent des molécules odorantes, lesquelles sont alors entraînées par la vapeur d'eau crée. Elles passent par un réfrigérant à eau où elles sont condensées, puis sont récupérées dans un récipient. (HAMMANA Sabrina, NECIB Samah,2021)

### 2. Mode opératoire

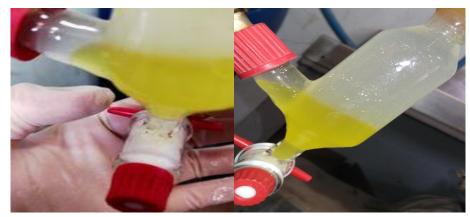
- A partir des bulbes d'*Allium sativum* de la variété rouge local et la rouge chinoise l'huile essentielle a été extraite par la méthode d'hydrodistillation, au mois de février. L'extraction a été effectuée au niveau d'une distillerie privé

« AROM'EST » spécialisée dans la production des HE et végétales, située à la Wilaya d'Annaba.

- Les caïeux d'ail sont nettoyés et débarrassés légèrement de leur enveloppes.
- Le poids des gousses fraîches est pesé avant de les mettre dans l'appareil.
- Les bulbes d'Ail ont été coupés à l'aide d'un mixeur, cette étape a pour but d'éclater les cellules végétales et faciliter la récupération d'huile.
- Les échantillons de bulbe d'ail de chaque variété sont soumis à l'extraction par ébullition pendant trois heures de l'eau distillée.
- Les huiles essentielles sont obtenues par entraînement à la vapeur d'eau dans un appareil de Clevenger , l'extrait obtenu est passé à travers du sulfate de sodium anhydre afin d'éliminer les traces d'eau.
- À la fin de l'opération, l'HE est séparée de l'hydrolat par différence de densité à l'aide d'une ampoule à décanter.



**Figure 4**: Dispositif d'hydrodistillation au niveau de la distillerie AROM'EST (Annaba).



**Figure 5**: Récupération de l'huile essentielle et l'hydrolat d'Ail (Distillerie AROM'EST).

### 3. La conservation

L'huile essentielle et l'hydrolat récupérées ont été conservées à 4°C jusqu'au moment de leur utilisation dans des flacons sombre en verre pour éviter leur dégradation.

### IV. Extraction du jus aqueux et jus méthanolique

- Deux types d'extraits pour chaque échantillon ont été obtenus : les extraits aqueux et les extraits méthanoliques.
- Ces essais sont effectués par la macération. Soixante-quatre grammes (64 g) pour chaque variété d'ail à raison de 32 g par type d'extraction (aqueuse ou méthanolique), ont été utilisés.
- Les extraits ont été obtenus par macération de 32 g de matériel végétal dans 200 ml d'eau pour le premier type d'extraction, et dans un mélange méthanol—eau 80 % pour le deuxième (24 heures dans l'évaporateur de la marque Incubating Mini Shaker with plasticware ). Une filtration du macérât est ensuite réalisée.
- Les extraits obtenus sont alors repris dans des flacons stérilisés puis conservés à 4°C avant la réalisation des tests antibactériens.



Figure 6: Préparation des extraits aqueux et méthanolique.

### V. Étude de l'activité antibactérienne

L'activité antibactérienne des huiles essentielles, hydrolats, extraits aqueux et méthanolique des deux variétés à savoir d'ail est évaluée selon la méthode de diffusion sur gélose par disque cette méthode est décrite par (VINOD et *al;* 2010 IN OKOMBe; 2019)

### 1. Méthode de diffusion sur milieu gélosé (L'aromatogramme)

- La méthode de diffusion sur disques en milieu de culture a été utilisée pour la détermination de l'activité antibactérienne de nos extraits.
- L'aromatogramme est une technique qui repose sur la diffusion du composé à effet antibactérien en milieu solide dans des boites de pétri, elle consiste à déposer un disque stérile de papier filtre imbibé dans d'extraits étudiés sur un tapis microbien (CHEBAIBi et *al.*, 2016).
- Cette méthode consiste à mettre en évidence une éventuelle activité antibactérienne de l'HE; hydrolat; le jus aqueux et méthanolique de la variété rouge local et rouge chinoise en présence des germes testés.

### 2. Vérification de pureté des souches bactériennes

À partir du milieu de conservation, on a isolé les souches bactériennes sur gélose nutritive (Annexe 1) dans le but de vérifier leur pureté, et a fin d'avoir des souche

plus jeunes, l'incubation a été réalisée à 37°C pour *E. Coli* et 28°C pour *Bacillus subsp.spizizenii* et *Pseudomonas aeruginosa* pendant 24 h dans une Étuve Incubateur de la marque MEMMERT.

### 3. Préparation de L'inoculum

A partir d'une culture pure et jeune des bactéries issues du milieu d'isolement pendent 24h, nous avons raclé à l'aide d'une anse de platine quelques colonies bien isolées et parfaitement identique. Ensuite, nous avons déchargé les colonies des bactéries dans 10 ml d'eau physiologique stérile (Annexe 2), la suspension bactérienne à bien été homogénéisé.

### 4. Mesure de densité des bactéries

La densité cellulaire d'une suspension bactérienne est ajustée au cours d'une simple comparaison avec la turbidité de l'étalon.

Cela peut aussi bien se faire par une comparaison visuelle directe qu'au moyen d'une mesure dans un spectrophotomètre. Le spectromètre utilisé dans notre travail c'est un Spectrophotomètre uv visible de marque THERMOSCIENCE.

A partir d'une culture bactérienne liquide jeune de 18 à 24 h, on a Ajusté l'opacité de la suspension de manière à obtenir une densité optique comprise entre 0,08 à 0,1 pour une longueur d'onde de 600 nm (environ 10<sup>8</sup> UFC/mL).(Annexe3).

En microbiologie les normes McFarland sont utilisées comme référence pour ajuster la turbidité des suspensions bactériennes pour que les nombre des bactéries se situe dans une gamme de concentration donnée afin de normaliser les teste microbiens.

Un exemple est le test de sensibilité aux antibiotiques par mesure de la concentration minimale inhibitrice qui est couramment utilisée en microbiologie médicale et en recherche.

La mesure de la densité optique est la technique la plus simple, la plus rapide et la plus utilisée. Elle consiste à mesurer la lumière absorbée par une suspension bactérienne à l'aide d'un spectrophotomètre réglé à une longueur d'onde de 620 nm (longueur d'onde pour laquelle l'absorption de la lumière par les constituants cellulaires est la plus faible). Dans des conditions techniques précises, l'absorbant est

proportionnel à la concentration cellulaire. La mesure de la densité optique a une sensibilité modérée (il faut au moins 10<sup>7</sup> bactéries par mL pour pouvoir mesurer une densité optique.

### 5. Préparation des dilutions

### a. HE et hydrolat

La dilution consiste à préparer une série des tubes de DMSO contenant des différentes concentrations d'huile essentielle, hydrolat variant de (100%,50%, 25%, 12.5%)

Le tableau4 ci-dessous présente les différentes dilutions d'huile essentielle et hydrolat des deux variété *d'Allium sativum*,(Rouge locale et Rouge chinoise) : sachant que le volume final est de 1000µl

Tableau 4: Les différents dilutions des huiles essentielles et hydrolats

Concentration (%)	100%	50%	25%	12.5%
Volume de la solution	1000	500	250	125
mère par (μl)				
Volume du solvant	0	500	750	875
DMSO (µl)				

### b. Jus aqueux et méthanolique

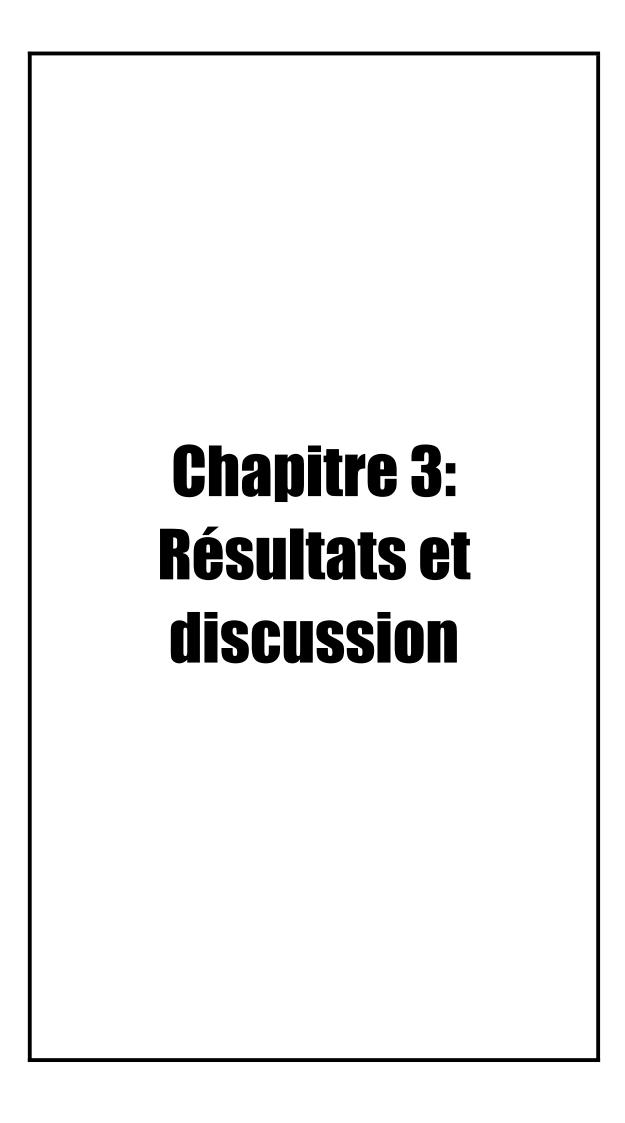
Pour chaque extrait d'ail, deux séries de dilutions ci-après sont préparées (100%, 70%, 60%, 10%) dans des tubes à essai contenant préalablement de l'eau distillée. Sachant que le volume final est de 1000µl (Tableau 5).

Concentration (%)	100%	70%	60%	10%
Volume de la solution mère (μl)	1000	700	600	100
Volume du l'eau (μl)	0	300	400	900

**Tableau 5:** Les différentes dilutions des extrait d'ail (Aqueux et méthanolique)

### 6. Ensemencement et dépôt des disques

- La gélose de MH (Annexe 4) stérile est coulé dans des boites de pétri.
- Un écouvillon stérile est imbibé dans la suspension bactérienne. L'écouvillon est frotté sur la totalité de la surface gélose MH, de haut en bas, en stries serrées selon la méthode quadrants.
- L'opération est répétée deux fois, en tournant la boite de 60° à chaque fois sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même en le passant sur la périphérie de la gélose (BENZEGGOUTA, 2005).
- Nous avons préparé pour chaque souche bactérienne trois répétitions de chaque concentration d'huile essentielle, hydrolat, jus aqueux et méthanolique.
- Des disques de papier Wattman n°1 de 6mm de diamètre stériles imbibés dans 10μl des différents extraits d'huiles essentielle, hydrolat, jus (aqueux et méthanolique).
- Ils sont placés à la surface de la gélose à l'aide d'une pince bactériologique stérile.
- Chaque concentration d'extrait d'ail est placée dans la même boite de pétri puis toutes les boîtes de Pétri sont scellées avec du para-film stérile mise à l'étuve à une température de 37°C pour la bactérie *E. coli* et 28°C pour la bactérie *Bacillus subtilis subsp.spizizenii* et *Pseudomonas aeruginosa* pour évaluer l'effet antibactérien, les diamètres de la zone d'inhibition sont mesurés en millimètre.
- En ce qui concerne les témoins positifs, les disques ont été imprégnés dans 10µl des deux antibiotiques Amoxyciline et la Gentamicine choisis pour leur effet inhibiteur contre les souches étudiées.
- Pour le témoin négatif; les disques sont imbibés dans 10µl d'eau physiologique.



### Chapitre 3 : résultats et discussion

### I. Rendements des huiles essentielles des deux variétés d'ail

Les résultats obtenus montrent un rendement en HE plus important chez la variété RL que chez la variété RC; les valeurs sont respectivement : 0,39% et 0,37%. inversement la valeur la plus importante du rendement en hydrolat a été enregistrée chez la rouge chinoise (7.55%). (Tableau 6).

Tableau 6: Rendement des huiles essentielles et hydrolats des deux variétés d'ail.

Les variétés	Rouge Locale	Rouge Chinoise
Les varietes	Rouge Locale	Rouge Chinoise
Matière végétale(g)	5600	5300
Eau distillé (L)	20	
Durée de distillation (h)	2	
Poids d'HE (g)	22	20
Rendement (%) d'HE	0.39	0.37
Pois d'hydrolat(g)	200	400
Rendement(%)d'hydrolat	3.57	7.55

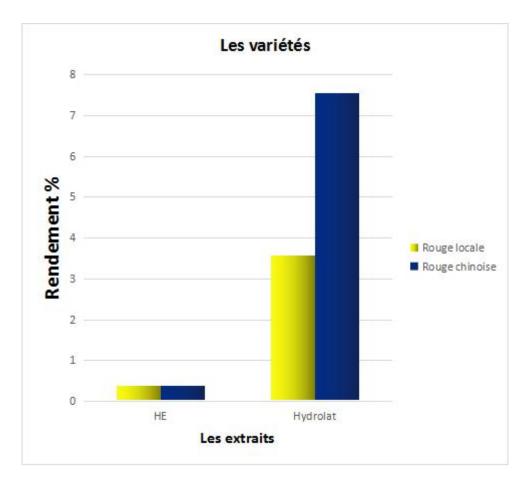


Figure 7: Rendement d'huiles essentiels et hydrolats des deux variétés d'ail :RL et RC.

Ainsi, nous remarquons clairement que le rendement en HE est très minime en comparant avec l'hydrolat (Figure7). Les valeurs observées dans notre étude concernant le rendement en HE des deux variétés sont élevés par rapport à ceux de (DJERBOUA; 2020) où le rendement de RL(0,18%) et RC(0,25%) dans 7500g d'ail à raison de 0,13% et 0,17% dans 5600g malgré l'utilisation des même variété et la même méthode d'extraction.

Alors que les résultats de BOUKERIA et *al* ;2016 ont donné un rendement de 0,72% dans 1000g à raison de 4,03% dans 5600 de rouge locale, des valeurs qui sont supérieurs au notre résultats.

Donc on peut expliquer ces différences de valeurs par la variation de différents facteurs tels que la maturation et l'origine de la plante. Il varie également selon les organes, la température de séchage et la présence des mauvaises herbes. La nature du sol, la qualité de la matière végétale utilisée peuvent aussi influencer le rendement (DJEBBARI et *al*, 2021). Par ailleurs, (WILLIAMS et Lusunzi, 1994), ont démontré que la composition en HE, extraite par hydrodistillation, peut être influencée par la quantité en eau, mise dans le ballon de distillation, car certains composés sont peu solubles dans l'eau.

En générale, cette différence entre les résultats de la teneur en huile essentielle par rapport à la matière pure est due à d'autres facteur tels que, les espèces, les génotypes de la plantes. Elle peut aussi dépendre de la région géographique, l'origine de la plante, la période et la saison de collecte et la méthode d'extraction au laboratoire.

# II. Caractéristiques organoleptiques des huiles essentielles, jus aqueux et méthanolique

Parmi les paramètres qui permettent d'évaluer la qualité d'une HE sont leurs caractères organoleptiques (couleur, odeur et apparence)( Tableau7)

L'analyse a été effectuée par observation visuelle et en inhalant directement l'HE et les jus sur le plan : Aspect, couleur et odeur.

**Tableau 7**: les propriétés organoleptique de des huile essentielles; jus aqueux et méthanolique des deux variétés d'ail : RL et RC.

	Rouge locale			Rouge chinoise		
Extraits	Huile	Jus aqueux	Jus	Huile	Jus aqueux	Jus
	essentielle		méthanolique	essentielle		méthanolique
Aspect	Liquide	Liquide	Liquide	Liquide	Liquide	Liquide
Couleur	Jaune foncé	Jaune très	Jaune claire	Jaune	Jaune foncé	Jaune foncé
		claire		claire		
Odeur	Très forte et	Légèrement	Forte et	Forte et	Très forte et	Forte et
	désagréable	forte et	désagréable	désagréabl	désagréable	désagréable
		désagréable		e		

Les résultats de l'analyse organoleptique montrent que les HE, le jus aqueux et méthanolique ont un aspect liquide, par contre ils différent au niveau de la coloration et de l'odeur, elles sont moins marquantes chez les jus que chez les HE, car les jus sont plus au moins dilués. En ce qui concerne l'odeur elle était forte et désagréable, une des caractéristique des *Alliacées*.

l'HE de la variété RL avait une coloration plus intense et une odeur plus puissante que celle de la variété chinoise. À ce niveau on remarque que les deux variétés montrent une grande variation. On remarque aussi que la couleur des jus (aqueux et méthanolique) de la variété RL sont moins colorés que la RC.

Nos observations concernant les résultats des caractéristiques organoleptiques correspondent à ceux de (BOUKERIA; 2016), et (AIT AMMAR et BEL GUELLEOUI; 2017) qui montrent un aspect liquide pour l'HE d'Ail, une couleur qui varie dans les dégradations du jaune et une odeur aromatique très forte et persistante des *Alliacées*.

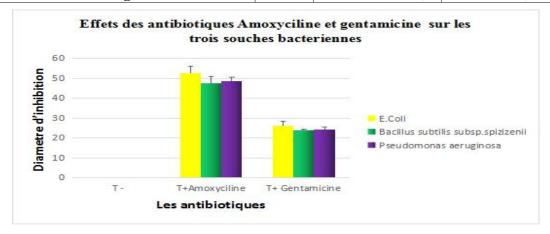
# III. Évaluation de l'activité antibactérienne des deux huiles essentielles; hydrolat; jus aqueux et méthanolique

Les résultats du témoin positif des deux antibiotiques choisis entre autres la Gentamicine qui est un antibiotique de la famille des aminoglycosides utilisé pour traiter divers types d'infections bactériennes, en particulier celles provoquées par des bactéries à Gram négatif (Anonyme2) et L'Amoxyciline qui est un antibiotique β-lactamine bactéricide de la famille des aminopénicillines indiqué dans le traitement des infections bactériennes à germes sensibles (Anonyme3) de type aérobies à Gram + comme la bactérie *Bacillus subtilis subsp spizizenii* et aussi de type aérobies à Gram - comme E. Coli .(Anonyme 4).

Une forte inhibition a été enregistrée des trois bactéries avec les diamètres présentés dans le tableau 8 suivant:

**Tableau 8**: Les taux d'inhibition des antibiotiques (Amoxyciline et Gentamicine ) sur les trois souches bactériennes

Les Bactéries Témoins	T -	T+ Amoxyciline	T+ Gentamicine
E.Coli	0	52,5	26,25
Bacillus subtilis subsp.spizizenii	0	47,5	23,75
Pseudomonas aeruginosa	0	48,5	24,25



**Figure 8:** Représentation graphique de l'effet des antibiotiques (Amoxyciline et Gentamicine) sur les trois souches bactériennes

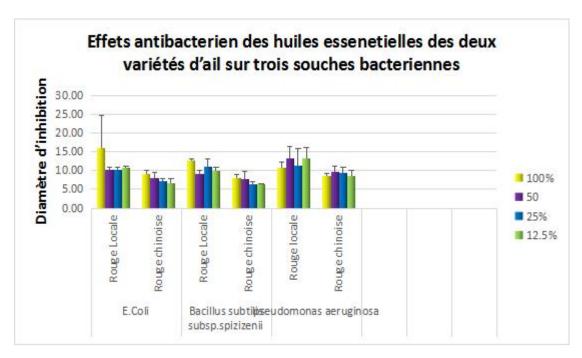
Nos observations concernant les résultats issus de l'activité antibactérienne de l'HE, hydrolat et jus (aqueux et méthanolique) sont présentées ci-après :

• Huile essentielle RL : l'huile à un effet antibactérien sur les deux souches à gram négatives (*E.Coli et Pseudomonas aeruginosa*), avec des zones d'inhibitions de 16mm et 13,33mm respectivement; et la souche bactérienne à Gram positive *Bacillus subtilis subsp.spizizenii* avec des diamètres de 9 à 12,67mm (Tableau 9).

**Tableau 9 :** Les taux d'inhibition d'huile essentielle des deux variétés (RL et RC) sur les trois souches bactérienne :*E.Coli ; Bacillus subtilis subsp.spizizenii et Pseudomonas aeruginosa.* 

	E.Coli.		Bacillus subtilis subsp.spizizenii		Pseudomonas aeruginosa.	
	Rouge	Rouge	Rouge	Rouge	Dauga lagala	Rouge
	Locale	chinoise	Locale	chinoise	Rouge locale	chinoise
100%	16,00 ± 8,66	9,00±1	12,67 ± 0,57	8±1	$10,67 \pm 1,53$	8,67±0,58
50%	10,33±0,58	8,07±1,62	9,00 ± 1	7,70±2,04	13,33± 3,05	9,67±1,53
25%	$10,33 \pm 0,58$	7,33±0,58	$11,00 \pm 2$	6,40±0,53	11,33±4,61	9,33±1,53
12.5%	$10,67 \pm 0,58$	6,73±1,10	$10,00 \pm 1$	6,33±0,29	13,33 ± 2,89	8,67±1,53

✓ On remarque aussi que l'huile a marqué un effet antibactérien avec des diamètres d'inhibitions moyen par rapport aux différentes concentrations appliquées. Pour la variété rouge chinoise les trois bactéries présentent une activité intermédiaire avec une zone d'inhibition de 9mm (cas de *E.Coli*) et 8mm (Cas de *Bacillus subtilis subsp.spizizenii*).(Figure 9)

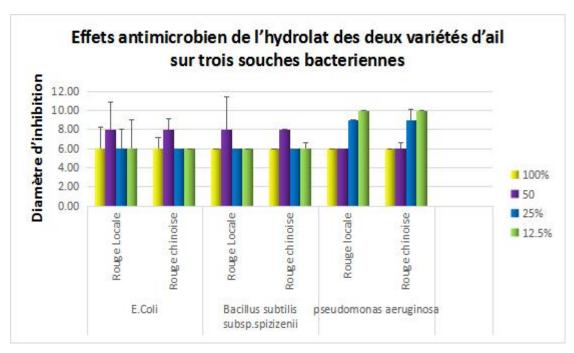


**Figure 9 :** Représentation graphique de l'effet d'HE des deux variétés sur les trois souches bactérienne.

Pour l'hydrolat les résultats ont montré une activité antimicrobienne faible pour les deux variétés sur les différentes souches à Gram- (*E.coli et Pseudomonas aeruginosa*) et à Gram+ (*Bacillus subtilis subsp.spizizenii*). (Figure 10)

**Tableau 10:** Les taux d'inhibition d'hydrolat des deux variétés (RL et RC) sur les trois souches bactérienne: *E.Coli ; Bacillus subtilis subsp.spizizenii et Pseudomonas aeruginosa*.

	E.Coli		Bacillus subtilis subsp.spizizenii.		Pseudomonas aeruginosa.	
	Rouge	Rouge	Rouge	Rouge	Rouge	Rouge
	Locale	chinoise	Locale	chinoise	locale	chinoise
100%	$6,00 \pm 2,30$	6,00±1,15	6,00±0	6,00±0	$6,00\pm0$	6,00±0
50%	8,00 ± 2,89	8,00±1,15	8,00±3,46	8,00±0	$6,\!00\pm0$	6,00±0,58
25%	$6,00 \pm 2$	6,00±0	6,00±0	6,00±0	9,00 ± 0	9,00±1,10
12.5%	6,00 ± 3	6,00±0	6,00±0	6,00±0,58	$10,00 \pm 0$	10,00±0



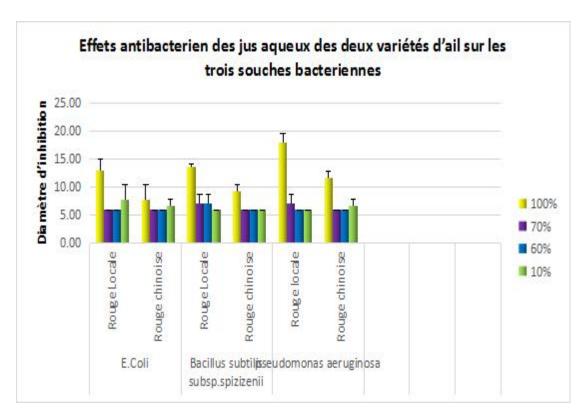
**Figure 10:** Représentation graphique de l'effet d'hydrolat des deux variétés sur trois souches bactériennes.

- ✓ L'activité antimicrobienne la plus élevée de l'hydrolat est marquée chez la bactérie *Pseudomonas aeruginosa* avec une zone d'inhibition moyenne de 10mm pour les deux variétés.
- ✓ La réponse microbienne varie d'une variété à l'autre; on observe une grande sensibilité chez la souche *Pseudomonas aeruginosa* sous l'effet du jus aqueux de la Rouge Locale avec un diamètre de 18mm (Tableau 11).

**Tableau 11:** Les taux d'inhibition de jus aqueux des deux variétés (RL et RC) sur les trois souches bactériennes :*E.Coli ; Bacillus subtilis subsp spizizenii et Pseudomonas aeruginosa*.

	E.Coli		Bacillus subtilis subsp.spizizenii		Pseudomonas aeruginosa	
	Rouge	Rouge	Rouge	Rouge	Rouge	Rouge
	Locale	chinoise	Locale	chinoise	locale	chinoise
100%	13,00 ± 2	7,67±2,89	13,67 ± 0,58	9,33±1,15	18,00±1,73	11,67±1,15
70%	6,00 ± 0	6,00±0	7,00 ± 1,73	6,00±0	7,00 ± 1,73	6,00±0
60%	6,00 ± 0	6,00±0	7,00 ± 1,73	6,00±0	$6,00 \pm 1,73$	6,00±0
10%	7,67 ± 2,89	6,67±1,15	6,00 ± 0	6,00±0	6,00 ± 0	6,67±1,15

✓ Alors que le jus aqueux de la variété rouge locale a eu un effet inhibiteur sur les trois souches *E.coli Bacillus subtilis subsp.spizizenii, et Pseudomonas aeruginosa* avec des diamètres 13, 13,67, 18 mm, ces dernières ont présentées une forte sensibilité au jus sauf pour *Pseudomonas aeruginosa* qui a enregistré une zone d'inhibition de 11,67mm(Figure11).

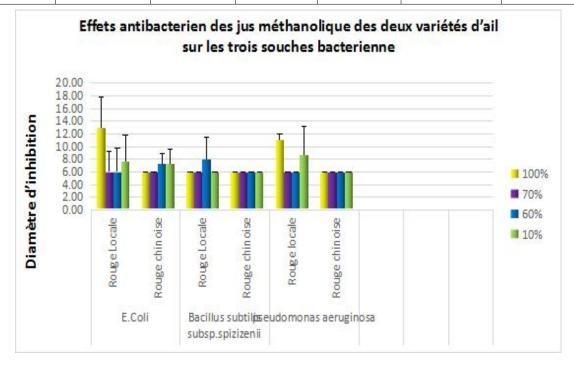


**Figure 11 :** Représentation graphique d'effets de jus aqueux des trois souches bactériennes.

✓ Aucune activité antimicrobienne n'a été observée chez le jus méthanolique pour les trois bactéries chez la variété rouge chinoise avec les différentes concentrations testées. (Tableau 12), par contre des zones d'inhibition ont été enregistrés chez *E. coli* et *pseudomonas aeroginosa* avec des diamètres de 13 et 11mm respectivement par la concentration 100% du jus méthanolique.

**Tableau 12 :** Les taux d'inhibition de jus méthanolique des deux variétés (RL et RC ) sur les trois souches bactériennes : *E.Coli ; Bacillus subtilis subsp.spizizenii ;*\*Pseudomonas aeruginosa .

	E.Coli		Bacillus subtilis subsp.spizizenii		Pseudomonas aeruginosa	
	Rouge	Rouge	Rouge Rouge		Rouge	Rouge
	Locale	chinoise	Locale	chinoise	locale	chinoise
100%	13,00± 4,90	6,00±0	$6,\!00\pm0$	6,00±0	11,00±1	6,00±0
70%	6,00 ±0	6,00±0	$6,\!00\pm0$	6,00±0	6,00±0	6,00±0
60%%	6,00 ±0	7,33±1,53	8,00±3,46	6,00±0	6,00±0	6,00±0
10%	$7,67 \pm 2,88$	7,33±2,31	6,00±0	6,00±0	8,67±4,63	6,00±0



**Figure 12 :** Représentation graphique de l'effet du jus méthanolique des deux variétés RL et RC sur trois souches bactériennes.

Par comparaison avec les travaux de (OKOMBE E et *al*; 2019) qui ont démontré qu'aucune zone d'inhibition n'a été obtenue autour des disques imbibés d'extraits de deux variétés RL et RC d'*Allium sativum L*. sur la multiplication d'*E. coli*. (*Allium sativum L*).

On conclut que les huiles essentielles des deux variétés d'*Allium Sativum* ont une forte activité antibactérienne soit sur les bactéries à Gram négatif ou positif; quant à l'hydrolat il a un effet antibactérien intermédiaire, par contre les jus ( aqueux et méthanolique ) ont une activité moyenne selon la variétés testées .

En comparant avec les résultats de (BENMEDDOUR T *et al;* 2015) qui ont trouvé que le pouvoir inhibiteur des huiles essentielles est moins important par rapport à celui des jus frais.,

Leur résultats ont montré que les extraits d'ail sont les plus inhibiteurs. Les HE d'*Allium Sativum* possèdent un pouvoir inhibiteur faible où les zones d'inhibition ne dépassent pas 15 mm de diamètre et parfois aucune zone n'est visible, par contre Les zones d'inhibition observées avec les jus sont plus grandes (jusqu'à 17 mm).

Cette différence est due probablement selon (SÉVENET et TORTORA; 1994) au problème de diffusion des HE dans le milieu de culture, les jus, hydrosolubles, diffusent mieux.

# IV. Étude comparative de l'effet antibactérien des deux huiles essentielles ;hydrolat ; jus aqueux et méthanolique

D'après nos résultats, on remarque que l'huile essentielle *d'Allium sativum* des deux variétés a présenté une forte activité antibactérienne vis-à-vis des trois souches (*E.Coli; Bacillus subtilis subsp.spizizenii ; Pseudomonas aeruginosa*).



**Figure 13**: Effets des huile essentielles de la rouge locale sur *E.Coli* avec les différents concentration.

Ces résultats permettent de conclure que l'HE a un fort effet inhibiteur sur les trois bactéries avec différentes concentration. Ceci peut être expliqué par l'augmentation du pourcentage des molécules bioactives responsable de son effet antibactérien.

KHEYARET *al*; 2014 et KYUNG et *al*; 2002 ont rapporté que l'allicine d'ail a montré une forte activité antibactérienne sur les bactéries à Gram positif.

Plusieurs études testant l'activité inhibitrice des HE confirment que les bactéries Gram (+) sont plus résistant aux HEs que les bactéries Gram (-). Certaines études montrent que l'allicine d'ail en est la cause. Ce qui ne concorde pas avec les résultats de (KYUNG et *a*l; 2002) qui ont montré une forte activité antibactérienne sur les bactéries à Gram positif.

Cette résistance est liée à la complexité de leur enveloppe cellulaire qui contient une double membrane (BURT; 2004 et BASTIEN; 2008) qui présente une perméabilité sélective, Par contre (DJEBBARI et *al*; 2021) ont montrés que les bactéries Gram (-) peuvent être sensibles à l'action des HEs. En effet, cette sensibilité dépend aussi des propriétés de l'HE, étant donné que l'action inhibitrice et bactéricide des HE est due à leur richesse en molécules actives.

La plus susceptibilité de *E.Coli* vis-à-vis des HEs par rapport aux autres espèces bactériennes testés s'expliquerait par une meilleure perméabilité d'un ou des composé(s) actif (s).

On a remarqué des anneaux d'inhibition pour la bactérie *E.Coli* ainsi que *Bacillus subtilis subsp.spizizenii* avec différentes concentration de l'hydrolat de rouge locale. Ces résultats pourraient être expliqué par une inhibition d'activité antimicrobienne avant 24h et après la bactérie se développe à nouveau.



**Figure 14:** Effet d'hydrolat des deux variétés sur *E.Coli et Bacillus subtilis subsp.spizizenii.* 

Pour le jus aqueux la réponse microbienne varie d'une variété à l'autre; pour la variété rouge locale les 3 souches: *E.coli ; Bacillus subtilis subsp.spizizenii et Pseudomonas aeruginosa* ont présenté une sensibilité notable, alors que la variété rouge chinoise montre une forte résistance.

On observe aussi une grande résistance chez la souche *Pseudomonas* aeruginosa sous l'effet de jus aqueux de RL avec un diamètre de 18 mm et 13,67mm avec la bactérie *Bacillus subtilis subsp.spizizenii* avec une forte concentration.

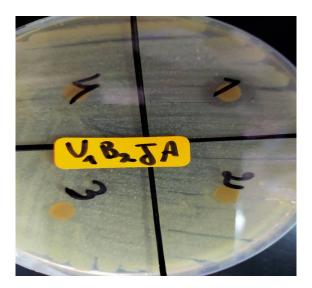
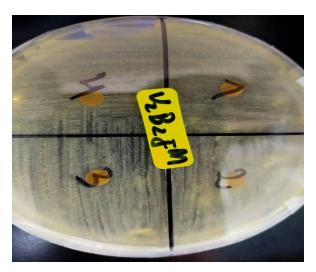


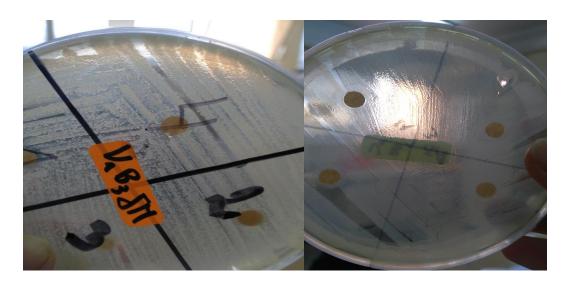
Figure 15: Effet de jus aqueux de rouge locale sur Bacillus subtilis subsp.spizizenii.

Les bactéries *E.coli* et *Pseudomonas aeruginosa* ont une sensibilité intermédiaire aux jus méthanolique avec une forte concentration pour la variété rouge locale; par contre les trois souches sont très résistantes pour la variété rouge chinoise alors qu'on remarque que la bactérie *Bacillus subtilis subsp.spizizenii* est sensible au jus méthanolique des deux variétés.



**Figure 16:** Effet de jus méthanolique de rouge chinoise sur *Bacillus subtilis subsp.spizizenil.* 

On voit un anneau d'inhibition pour la concentration 10% qui est expliqué par une activité bactérienne avant 24h; mais après la bactérie se développe.



**Figure 17:** Formation de l'anneau d'inhibition sous l'effet de jus méthanolique des deux variétés sur *Pseudomonas aeruginosa* et *Bacillus subtilis subsp.spizizenii*.

### V. Détermination de CMI:

Nous avons déterminé la concentration minimale inhibitrice en milieu solide de l'huile essentielle, hydrolat, jus aqueux et méthanolique des deux variétés *d'Allium sativum* par la technique de la diffusion sur disque.

Nos extraits des deux variétés (RL et RC) issue des bulbes d'*Allium sativum* exercent une certaine activité antibactérienne vis-à-vis des 3 souches testées (*E.Coli; Bacillus subtilis subsp.spizizenii; Pseudomonas aeruginosa.*) relativement moyennes estimés aux différentes concentrations.

A la base de cette classification et aux vues des CMI obtenues (25% pour hydrolat, 70% pour le jus aqueux, 60% pour le jus méthanolique), l'huile essentielle et l'hydrolat de la rouge locale et la rouge chinoise auraient une forte activité d'inhibition de type bactéricide.

Nous constatons également que l'activité est proportionnelle au volume des HEs, plus la concentration d'extraits est élevés plus leur activité antibactérienne est meilleure.

Chapitre 3 Résultats et discussion

Selon (LASSAL; 2020) ; la valeur de la CMI dépend des conditions opératoires lors des analyses parmi lesquelles la quantité de l'émulsifiant utilisée qui peut réduire le contact entre l'huile essentielle et la bactérie testée.

(CHERADI et SARNI; 2016) ont reportés que la nature chimique des principes actifs des extraits et des huiles essentielles, montrent une certaine affinité vis à vis des molécules constituant la paroi bactérienne. (CHAO et *al*, 2000), ils ont expliqué que les bactéries à Gram négatif sont dotées d'une couche de peptidoglycanes, prise entre la membrane plasmique et une assise externe constituée de lipopolysaccharides et de protéines. Cette structure peut empêcher la pénétration d'huiles ou d'extraits à travers la paroi pour protéger la couche de peptidoglycanes de la dénaturation et empêcher la multiplication bactérienne.

La paroi des bactéries à Gram négatif riche en lipopolysaccharides, constitue une barrière imperméable aux substances hydrophobes susceptibles d'entrer dans le cytoplasme et bloquer la multiplication cellulaire.

Les huiles essentielles et les extraits de plantes possèdent plusieurs modes d'action sur différentes souches de bactéries, mais d'une manière générale leur action se déroule en trois phases (CAILLET et LACROIX, 2007) :

- ✓ Attaque de la paroi bactérienne par l'huile essentielle ou l'extrait, provoquant une augmentation de la perméabilité puis la perte des constituants cellulaires ;
- ✓ Acidification de l'intérieur de la cellule, bloquant la production de l'énergie cellulaire et la synthèse des composants de structure ;
- ✓ Destruction du matériel génétique, conduisant à la mort cellulaire.

Des études ont confirmé que la majorité des huiles essentielles attaquent en même temps la paroi et la membrane cellulaire puis, la cellule se vide de ses constituants et meurt (ZHIRI, 2006).

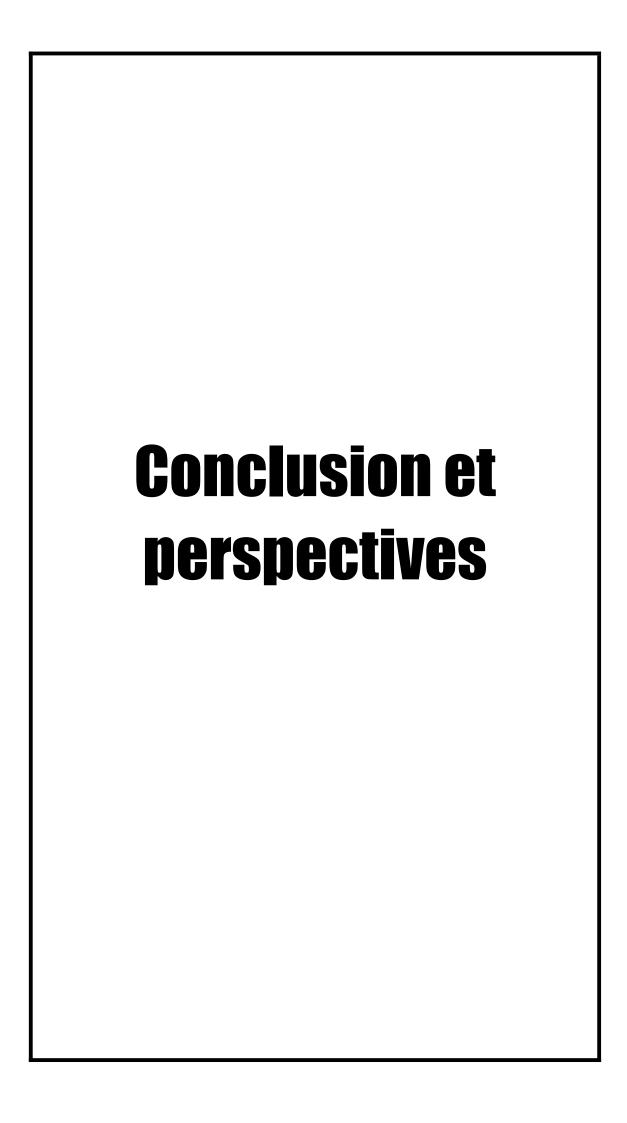
Les principes actifs de l'ail sont très nombreux, on a l'allicine qui donne l'ajoène, l'allyl méthyl trisulfure, Diallyl-dissulfure, Diallyl sulfure, Diallyl trisulfure, Diallyl tétrasulfure en plus des acides phénoliques et les flavonoïdes.

L'effet de l'allicine sur les enzymes à thiol et son pouvoir à traverser la paroi bactérienne, semble être la base de son activité biologique (Meddeb, 2008).

Chapitre 3 Résultats et discussion

L'ail est très riche en Diallyl disulfure (60%) et en Diallyl trisulfure 20% (ARNAL; 2012). Les travaux de AVATO et *a;* (2000), avaient déterminés que la molécule responsable du pouvoir antimicrobien était le Diallyl disulfure.

Les phénols agissent sur trois sites : la paroi, la membrane plasmique et le cytoplasme ; où on remarque l'altération de la structure des mitochondries. Leur effet dépendent de leurs concentrations. A petites doses, l'effet antimicrobien est réversible, ce qu'on appelle le pouvoir bactériostatique (RHAYOUR; 2002, AMARTI et *al*; 2010)



#### Conclusion et perspectives

La lutte contre les infections bactériennes repose principalement sur l'usage des antibiotiques le plus souvent de manière abusive entraînant à la sélection de souches bactériennes multirésistantes d'où l'intérêt de se pencher sur les plantes médicinales considérées comme une source de molécules bioactives à activité antibactérienne pour lutter contre le phénomène d'apparition des résistances.

L'ail (*Allium sativum L*.) est l'une des plus anciennes plantes cultivées, utilisé à la fois pour des applications alimentaires et médicinales. En effet, cette plante contient une gamme extraordinaire de molécules bioactives non seulement comme étant, des agents chimiques contre les maladies, les attaques des herbivores et les prédateurs en général, mais aussi, comme des agents médicinaux actifs, tels que les antimicrobiens et les antioxydants.

Cette étude montre que la variété RL présente un rendement élevé (0,39%) par rapport à la RL (0,37%). Tandis que, pour l'hydrolat le rendement le plus élevé a été enregistré chez la variété chinoise (7,75%).

l'activité antibactérienne des huiles essentielles des deux variétés d'ail rapportée dans cette étude a montré que globalement, les trois souches bactériennes étaient très sensibles à l'huile d'ail des deux variétés sous différentes concentrations par conséquent, les HE des deux variétés inhibent mieux que les trois autres extrait.

Nous constatons aussi que l'effet antibactérien d'hydrolat et du jus aqueux de la rouge locale est plus remarquable sur les trois bactéries par rapport à la variété chinoise. Les résultats montrent que les bactéries *E.coli et Pseudomonas aeruginosa* ont une sensibilité intermédiaire aux jus méthanolique avec une forte concentration pour la variété RL; par contre elles sont très résistantes à la variété chinoise alors qu'on remarque une grande résistance chez *Bacillus subtilis subsp.spizizenii* au jus méthanolique des deux variétés.

Grâce à la composition et les propriétés physico-chimiques des HEs d'ail; la grande activité inhibitrice de l'huile essentielle d'*Allium sativum* sur le

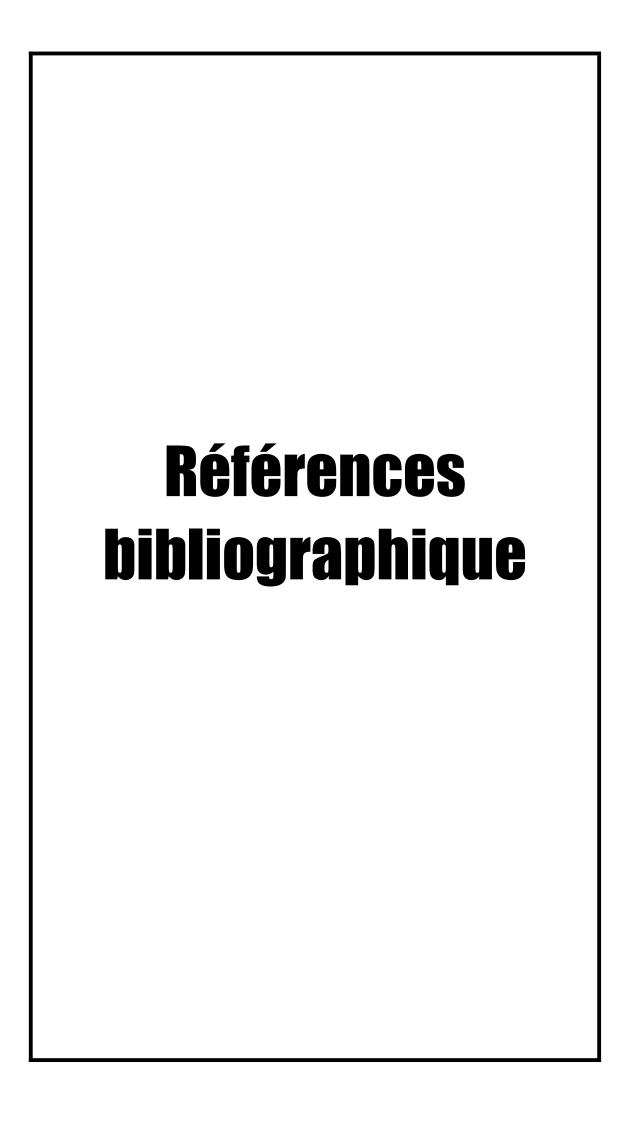
développement bactérien laisse entrevoir des perspectives d'application dans plusieurs domaines industriels, agroalimentaire; pharmaceutique; cosmétique; alimentaire, etc.

En perspective, et toujours dans le cadre de la valorisation, on compte caractériser les composés naturels que renferment d'autres variétés d'*Allium sativum*, notamment au niveau des feuilles. Ceux-ci pourraient, mettre en évidence d'autres composés bioactifs qui possèdent un intérêt pesticide, sachant que notre étude peut être considérée comme une source d'information sur l'activité antibactérienne de ces variétés du genre *Allium* de l'Est Algérien.

#### Nous suggérons aussi :

- ✓ De réaliser d'autres activités biologiques *in vitro* telles que : l'activité antifongique, antiviral, antibactérienne sur d'autres souches.
- ✓ La caractérisation, par des techniques plus poussées, des substances actives responsables de ces pouvoirs, en particulier, les flavonoïdes et les phénols simples.
- ✓ D'élargir notre axe de recherche pour étudier la composition chimique des huiles essentielles; hydrolats et le jus et déterminer les composés actifs responsable de l'activité antibactérienne.

A la fin, nous pensons qu'il serait intéressant de mener d'autres études de valorisation, et de caractérisation sur d'autres plantes cultivées et spontanées, dans le domaine médicinale, pharmaceutique et industrielle.



## Références bibliographique

#### A

- ABDELLI, W., 2017. Caractérisation chimique et étude de quelque activités biologiques des huiles essentielles de Juniperusphoenicea et de Thymus vulgaris.
   Thése de doctorat 3ième cycle LMD : Microbiologie Appliquée :Université Abdelhamid Ibn Badis Mostaganem, 104p.
- AERUGINOSA. UNIVERSITE MOHAMMED V FACULTE DE MEDECINE
   ET DE PHARMACIE –RABAT.
- AIT AMMAR, H et BEL GUELLEOUI, M. (2017). Formulation antiseptique à base de l'ail l'Allium sativum en vue d'une application pharmaceutique.
   Mémoire de Master. Université M' Hamed Bougara Boumerdès.
- AMARTI F, 2009. Composition chimique et activité antimicrobienne des huiles essentielles de Thymus algeriensis Boiss. & Et Thymus ciliatus (Desf.)
   Benth du Maroc. Biotechnol. Agron. Soc. Environ14(1), 141-148.
- AMARTI F, satranl B, Aafi A, Ghanmi M, Farah A, Aberchane M, El Ajjouri M, El AntryS etChaouch A. 2008. Composition chimique et activite antimicrobienne des huiles essentielles de Thymus capitatuset de Thymus bleicherianus du Maroc. Phytotherapie. 6, 342–347.
- AMARTI F., SATRANI B., GHANMI M., FARAH A., AAFI A., AARAB L., EL AJJOURI M., CHAOUCH A, 2010. Composition chimique et activité antimicrobienne des huiles essentielles de Thymus algeriensis Boiss. & Reut. Et Thymus ciliatus (Desf.) Benth.du Maroc. Biotechnol. Agron. Soc. Environ, 14(1), 141-148.
- AMINA Bounihi, 2016). Criblage phytochimique, Étude Toxicologique et Valorisation Pharmacologique de Melissa officinalis et de Mentha rotundifolia (Lamiacées) UNIVERSITÉ MOHAMMED V FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE É RABAT.
- Anonyme, 2004: La menthe. Site web: WWW.ste PHKUP.mexenservices.com.

- Anonyme1: <a href="https://fsnv.univsetif.dz/images/telecharger/SA/Cours%20Protection">https://fsnv.univsetif.dz/images/telecharger/SA/Cours%20Protection</a>
   %20M1%20Production%20v%C3%A9g%C3%A9tale.pdf
- Anonyme2: <a href="https://fr.wikipedia.org/wiki/Amoxicilline">https://fr.wikipedia.org/wiki/Amoxicilline</a>
- Anonyme3: <a href="https://www.vidal.fr/medicaments/substances/amoxicilline-310.html">https://www.vidal.fr/medicaments/substances/amoxicilline-310.html</a>
- Anonyme4: <a href="https://fr.wikipedia.org/wiki/Gentamicine#:~:text=La%20gentamicine">https://fr.wikipedia.org/wiki/Gentamicine#:~:text=La%20gentamicine//e%20est%20un%20antibiotique,des%20bact%C3%A9ries%20%C3%A0%20Gram%20n%C3%A9gatif.</a>
- ANTON, R. (2016). Les constituants spécifiques des Alliaceae The specific constituents of Alliaceae. Phytothérapie 14, 149-153.
- ARNAL B. (2012). 1er colloque santé prévention sud ouest : Phytothérapie, place des herbes et aromates. Toulouse. France.
- AVATO P., Tursil E., Vitali C., Miccolis V., Candido V, 2000. Allylsulfide constituents of garlic volatile oil as antimicrobial agents. Phytomedicine, 7, 239-243.

# B

- BANFITEBIYi G, Msc Yaovi A. Ameyapoh, PhD, Professeur, Holaly E. Gbekley, Phd, Bouraïma Djeri, Phd, Maitre Assistant Kouassi Soncy, Phd Kokou Anani, Phd Simplice D. Karou, Phd, Professeur. (2019). Revue sur l'Ail et ses Composés Bioactifs. European Scientific Journal February 2019 edition Vol. 15, No. 6 ISSN: 1857 7881 (Print) e ISSN 1857-7431.
- BASTIEN F., (2008). Effet larvicide des huiles essentielles sur Stomoxys calcitrans a la réunion. Thèse doctorat. Université Paul-Sabatier. Toulouse. P: 25-26.
- **BELAICHE P, 1979.** L' aromatogramme. Traité de phytothérapie et d' aromathérapie. M.S.A. Editeur. Paris. tome 1- (204)
- BENJILALI B., Tantaoui-elarki A., Ismaili-alaoui M., (1986). Méthode d'étude des Propriétés antiseptiques des huiles essentielles par contact direct en milieu gélosé. Plant. Méd. Phytothér., 155-167.

- BENMEDDOUR Tarek, Laouer Hocine), BENABDI Amira Afaf, Brahimi Safa. Evaluation de l'activite antibacterienne antifongique des extraits de trois especes du genre allium : A. Cepa, fistulosum et sativum cultuivees dans le perimetre agricole de doussen (wilaya de BISKRA); Département des sciences de la nature et de la vie, université de Biskra . Article N°19, Mars 2015, pp.09-14.
- BENZEGGOUTA N. (2005). Etude de l'Activité Antibactérienne des Huiles Infuséesde Quatre Plantes Médicinales Connues Comme Aliments. Mémoire de Magister. Pharmacochimie. Université Mentouri de Constantine. Algérie.
- BERKANE Omar et Toumi Mohamed, 2017. Effet de l'extrait d'ail ( Alium sativum.L) sur la croissance des bactéries lactiques (Streptococcus thermophilus et Lactobacillus bulgaricus). Université Abdel-Hamid Ben Badis de Mostaganem.
- BERKANE Omar ;Toumi Mohamed 2017). ;Effet de l'extrait d'ail ( Alium sativum.L) sur la croissance des bactéries lactiques(Streptococcus thermophilus et Lactobacillus bulgaricus,Université de Mostaganem.
- BERNARD, J R. Regnault-Roger, C. Philogène et Vincent, C. (2002).
   Biopesticides d'origine végétale. Tec et Doc Lavoisier.
- BILLERBECK V-G., Roques C., Vanière P., Marquier P., (2002). Activité antibactérienne et antifongique de produits à base d'huiles essentielles .Rev, Vol X N°3, pp248.
- **BLOCH,A.S 2000**. Pushing the envelope of nutrition support : complementary therapies. Nutrition; 16(3)236-9.
- BLUMENTHAL, M, Goldberg, A,Brinckmann ,J(Ed) (2000). Expanded
   Commission E Monographs, American Botanical Counciel, publié en collaboration avec Intégrative Médicine Communications, Etats-Unis.
- **BODNAR C, 2014**. L'ail en 2014-2015. Bilan de compagne. France agri Mer. France.
- BONDI D., CIANCI P., GERACI C., GIUSEPPE R, 1993. Antimicrobial activity and chemical composition of essential oils from Sicilian aromatic plants. Flavour Frag J; 8:331-7

- BOUDJOUREF, M, 2011. Etude de l'activité antioxydant et antimicrobienne d'extraits d'Artemisia campestris L. Mémoire de Magister en Biochimie, Université Ferhat Abbes, Sétif, Algérie. 99p.
- BOUHADDOUDA, N.Aouadi, S. Labiod, R, 2016. Evaluation of Chemical Composition and Biological Activities of Essential Oil and Methanolic Extract of Origanum vulgare L. ssp. glandulosum (Desf.) Iet swaart from Algeria, International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical .vol 8(1),p: 104-112.
- BOUKHATEM MN, Hamaidi Ms, Saidi F, et al, 2010. Extraction, composition et propriétés physicochimiques de l'huile essentielle du géranium rosat (Pelargonium graveolens L.) cultivé dans la plaine de Mitidja (Algérie). Nat Tech 3:37–45.
- BOUNIHI Amin, 2016. Criblage phytochimique, Étude Toxicologique et Valorisation Pharmacologique de Melissa officinalis et de Mentha rotundifolia (Lamiacées) université mohammed v faculté de médecine et de pharmacie f rabat.
- BOURGOIN, M A. Garzaguajardo, R. Philippe, G Et Souchet S. (2017).
   Étude des propriétés antimicrobiennes de l'extrait d'ail (Allium sativum L.). École supérieure d'agricultures, f49000 Angers, France, Pp:
- BURT S.,(2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods a review. International Journal of Food and Microbiology. 94: 223-253.

#### $\mathbf{C}$

- CAHAGNIER B , 1996. Céréales et produit dérivé In « microbiologie alimentai» tome 1 «aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité des aliments ». Edition Technique etDocumentation Lavoisier., Paris : 392-414
- CAILLET S., Lacroix M., (2007). Les huiles essentielles : leurs propriétés antimicrobiennes et leurs applications potentielles en alimentaire. Laboratoire de Recherche en Sciences Appliquées à l' Alimentation (RESALA) INRS-Institut.

- CANCE,M.C,et Widdowson,1992. The coposition of food. Conception aprifel avec collaboration scientifique de Mf.Six dietecienne.Casbah Editions Alger.
- CAVALLITO, C.J. and Bailey, J.H, 1944. Allicin, the anti-bacterial principe of Allium sativium. J. Am. Chem. Soc., 66 (11): 1950–1951.
- CHAO S.C, YOung D.G. Et Oberg G.J, (2000). Screening for inhibitory activity of essential oils on selected Bacteria, Fungi and viruses. Journal of Essential oil Research, 12, 639-649
- Chebaibi A, Marouf FZ, Rhazi-Filali M et al (2015). Évaluation du pouvoir antimicrobien des huiles essentielles de sept plantes médicinales récoltées auMaroc, Phytothérapie aromathérapie expérimentale
- CHERADI Djamila et Sarni Chafiaa; 2016. Évaluation de l'activité
  antibactérienne de l'extrait aqueux d'ail (Allium sativum)et son application pour
  la conservation de la viande fraiche de dinde.

# D

- **DAVIs, L.E ,SHEN, J,1994**. In vitro synerbism of concentred Allium sativum extract and amphotericin Bagainst cryptococcus neoformans. Planta Medica, 60(6): 546-549.
- **DESHAPANDE, Rg Khan, Mb et al, 1993.** Inhibition of mycobacterian avium complex isolates form AIDS patients by garlic (*Allium sativum*). Journal of antimicrobiol chemtheropy, octobre, 32(4)623-626.
- DETHIER B. (2010). Contribution à l'étude de la synthèse de l'allime de l'ail.
   Mémoire de Master, Université de Liege. Belgique
- DJEBBARI H.,Barki D.,Boumaagouda S(2021).Étude de l'effet antibactérien de l'huile essentielle de deux plantes médicinales (Rosmarinus officinalis et Eucalyptus camaldulensis).MEMOIRE de fin d'étude Présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master.Université de Larbi Tébessi –Tébessa.P28.
- DJEBBARI Hala et ; Barki Dhikra ; Boumaagouda Selma 2021. Étude de l'effet antibactérien de l'huile essentielle de deux plantes médicinales

- (Rosmarinus officinalis et Eucalyptus camaldulensis. Université de Larbi Tébessi-Tébessa- Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie Ferhat Abbas Sétif, pp36-195p.
- **DJERBOUA Romeissa, 2020.** Etude de l'activité antifongique des huiles essentielles et hydrolats de deux variétés d'Ail (*Allium sativum L.*) sur deux champignons affectant le blé (Fusarium sp. et Aspergillus niger) ; Université des Frères Mentouri Constantine 1 Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie.
- DJERBOUA Sabrina&Laifaoui Redouane , 2020. Etude de l'activité antifongique des extraits totaux de quelques plantes spontanées contre les maladies cryptogamiques rencontrées chez le blé à Bouira.

## E

- EDETRANT K,2002. Quebec pharmacie.vol 49,n°10.
- **EDOUARD, A, 1991.** Contribution to ethnobotanical and floristic studies in Western Edetrant K. 2002. Quebec pharmacie.vol 49,n°10.

### F

- FAO (Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture,
   2014). Viande et produits carnés : source de viande.
- FAUCHÈRE, J.-L., & Avril, J. L, 2002. Bactériologie générale et médicale. Ellipses, Editions Paris, (365)
- Feddaoui, H et Bouchelaghem I. (2018). Enquête épidémiologique des principaux pathogènes prévalent sur certaines céréales depuis 2009.
- FENG, B., Hui, R.-j., Tu, Y.-f., Wang, J.-f., & Xuan, J.-g, 2018. Garlic essential oil provides lead discharging effect on human body: An efficacy and mechanism study. Bioactive Compounds in Health and Disease 1, 172-173
- FIGLIUOLO, G, Candido, V, Logozza, G, Miccolis, V, Spagnolettizeli, P.L., 2001.

  Genetic evaluation of cultivated garlie germplasm (*Allium staivum L*. and

A.amploprasum L) Euphytica 121,235-334.

# G

- GAMBOGOU, Banfitebiyi et Ameyapoh, Yaovi et Gbekley, Efui et Djeri, Bouraïma et Soncy, Kouassi et Anani, Kokou et Karou, Simplice Damintoti. (2019). Revue sur l'Ail et ses Composés Bioactifs. European Scientific Journal ESJ. 15. 10.19044/esj.2019.v15n6p74.
- GHANNOUM, M,A, 1990. Inhibition of candida adhesion to buccal epithelial cells by an aqueous extratct of Allium sativum (garlica. Journal of applied Bacteriology, 68 (2):163-169.
- GIRAULT M., Bougeon J, 1971. L'aromatogramme. Cahier de biothérapie; n°29
- GOETZ P et Ghedira K., (2012). Phytotherapie anti-infectieuse. Edition : Springer-Verlag France, Paris. Pp 4-194.
- **GRIMONT, P, 1987.** Taxonomie des Escherichia . Méd Mal Infect, 6-10.

# $\mathbf{H}$

- HAMANI Siham, 2020. Diagnostic des maladies cryptogamiques des céréales dans la région de Bouira.
- HAMZA T, 1993. Introduction à la biologie moderne. Berti Editions. https://fsnv.univsetif.dz/images/telecharger/SA/Cours%20Protection%20M1%20 Production%20v%C3%A9g%C3%A9tale.pdf (1).
- HARBON, JB, 1994. Methods in plant biochemistry, I: Plant phenolics Academic press, London ,UK. Leelarugrayub, N, Rattanapanone, V(2006). March quantitive evaluation of the antioxidant properties of garlic and shallot prepartions. Nutritions, 22(3):266-74.
- **HOSEIN, S,(1998)**, Severre gastro-intstinal symptomes may result from garlic-ritonavir interaction. What's Newa . Available at, ;http://WWW.catie.ca/.

## I

- IRVING, W., ALa'Aldeen, D. Et Boswell, T, 2005. Medical Microbiology.
   Collection Instant Notes. Taylor et Francis. 350p
- ITCMI (Institut technique des cultures maraichères et industrielles, 2010.
   Fiche technique valorisées des cultures maraichères et industrielles : la culture de l'ail. Alger. Algérie.

# J

- JEAN Guzzo, 2011. Optimisation du protocole de recherche des Escherichia coli Producteurs de Shiga-toxines (STEC) dans les aliments, <a href="https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-00794936">https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-00794936</a> Submitted on 26 Feb 2013.
- JOLY B. et Reynaud A, 2002. Entérobactéries systématique et méthodes de diagnostic. Edition TEC & DOC. In (Ousaad houria et Rabet Nadia 2017).
- JOSHI, D., Dikshit, R., & Mansuri, S, 1987. Gastrointestinal actions of garlic oil. Phytotherapy Research 1, 140-141.

# K

- KAMAL elmeskini, 2011. Etude épidémiologique des infections à Pseudomonas.
- KHEYAR N ., Meridja D ., , Belhamel K .,(2014). Etude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles d'Inula viscosa, Salvia officinalis et Laurus nobilis de la région de Bejaia. Algerian Journal of Natural Products 2:1(2014)18-26 18.
- KHIATI M ,1998. Guide des maladies infectieuses et parasitaires. OPU, Alger
- KOCH,H .P et LAWSON, L,D ,1996. Garlic :the science and thérapeutique application of *Allium*
- KYUNG K. H., Kim M. H., Park M. S., Kim Y. E. 2002. Alliinase-independent inhibition of Staphylococcus aureus B33 by heated garlic. Journal of Food

Science 67:780-785

#### L

- LABLALTA A, 2018. Activité insecticide et fongicide des extraits et de l'huile essentielle de
- LAFFONT J, 1985. les maladies des céréales et du maïs. AGRI-NAHAN. Pp 4 51.
- LAIFAOUI Redouane et Djerboua sabrina 2020 ;Etude de l'activité
  antifongique des extraits totaux de quelques plantes spontanées contre les
  maladies cryptogamiques rencontrées chez le blé à Bouira. UNIVERSITE AKLI
  MOHAND OULHADJ BOUIRA.
- LASSAL fatima 2020 ; Etude du pouvoir antimicrobien des huiles essentielles de l'ail (Allium sativum. L) Université Abdelhamid Ibn Badis-Mostaganem
   Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
- LE MINOR, L., Popoff, M.Y. Et Bockemuhl, J, 1990. Supplement 1989 to the Kauffmann-White scheme. Res Microbiol 141: 1173-1177.
- LECLERC H, Gaillard J-L, Simonet M, 1995. Microbiologie générale, la bactérie et le mondebactérien. Doin Editeurs, Paris.
- LEILA Lakhdar ,2015. Evaluation de l'activite antibacterienne d'huiles essentielles marocaines sur aggregatibacte actionmycetemcomitans :etude in vitro.
   Faculte de medecine dentaire de rabat centre d'etudes doctorales des Sciences de la vie et de la sante.
- LEVINE, M, 1987. Escherichia coli that cause diarrhea: enterotoxigenic, enteropathogenic, enteroinvasive, enterohemorrhagic, and enteroadherent. Journal of infectious Diseases 155:377-389.
- LUU C, 2002. Les essences majeures antiinfectieuses,1' aromatogramme. Votre diététique N° 53.

#### M

- MAGAN N and Olsen M. 2004-Mycotoxines in food: Detection and control. F.Sc.Technol.p:190-203.
- MANSOUR Mehdi; M. Mazzi Youcef, (2017. Recherche de l'activité antibactérienne des souches du genreAspergillus; Université des Frères Mentouri Constantine Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie.
- MARC, T., Gerard, W. Et Denis, L, 2001. Classification des antiinflammatoires in Guide pharmacologie. Etudiants et professionnels paramédicaux (4èmeEdition). 426p.
- MARUYAMA N, 2006. Suppression of carrageenan and collagen IIinduced inflammation in mice by geranium oil. Mediators Inflamm 3:1–7.
- MEDDEB V, 2008. Étude des effets des rayonnements ionisants sur les propriétés biochimiques et biologiques de l'ail (Allium sativum). Mémoire de Master, université 7 novembre. Carthage.
- MEDDEB V, 2008. Etude des effets des rayonnements ionisants sur les propriétés biochimiques et biologiques de l'ail (Allium sativum). Mémoire de Master, université 7 novembre. Carthage.
- MEHANI M., Ladjel S., (2014). Biological Activity of Essential Oil of Eucalyptus camendulensis on Some Fungi and Bacteria. Journal of Engineering Research and Applications., 4, 71-73.
- MENTHA rotundifolia (Liné, 1762). Thèse de Doctorat, Protection des végétaux, Université.
- MERCIER-FICHAUX, B. (2016). L'ail un alicament qui a du piquant! Garlic as a functional food and spice! Phytothérapie 14, 176-180.
- MÉRENS A, J.P., Bargues L, Cavallo Jd, 2013. Infections à Pseudomonas aeruginosa. EMC-Maladies infectieuses, p. 10(1):1-18.
- MESSADIÉ G, 1995. Les compacts: les grandes découvertes de la science.
- MIEAN, K.H, Mohamed, S, 2001. Flavonoid (myrictetin, Kaempferol, luteolin, and

- apigenin) content of edible tropical plants. JAgric food Chem; 49(6):3106-12.
- MORRISON, B.H, 1994. The useful plants of west tropical Africa. Volume 2: Families EI. Royal Botanic Gardens.
- MOUMENE · F. Benali-Toumi · M. Benabderrahman · A.
   Benyamina · H.Selem · M. M. Dif,2016. Composition chimique et activité antibactérienne des huiles essentielles d'Allium vineale et Allium sativum de l'Ouest Algérien Hammana .

#### N

NURWANTORO, Bintoro V.P., Legowo A.M., Purnomoadi A. et SETIANI
 B.E, 2015. Garlic Antioxidant (*Allium sativum L.*) to Prevent MeatRancidity.
 Procedia Food Science, 3, 137 – 141.

## $\mathbf{O}$

- OKOMBE Embeya Victor Et Nzuzi Mavungu Gaël, 2019. Etude de l'activité antibactérienne (in vitro) des extraits aqueux et méthanoliques de l'ail (Allium sativum L.). Service de Pharmacologie, Toxicologie et Thérapeutique, Faculté de Médecine Vétérinaire, Université de Lubumbashi, B.P. 1825
  Lubumbashi, République Démocratique du Congo. Journal of Applied Biosciences 141: 14419 14425.
- OKOMBE et Nzuzi., J. Appl. Biosci. 2019 Etude de l'activité antibactérienne (in vitro) des extraits aqueux et methanolique.
- OSMAN KA, Al-Rehiayan S (2003) Risk assessment of pesticide to human and the environment. Saudi J Biol Sci 10:81–106
- OULD KADDOUR A et LOtmani M.B, M.C, 2009. Effet des extraits phénoliques d'ail (*Allium sativumL*.) sur la croissance des bactéries lactiques (Streptococcus thermophiluset Lactobacillus bulgaricus). Mémoire de Magister, Université AdelhamidIbn Badis. Mostaganem.

 OUSSAAD Houria et Rabet Nadia, 2017. Caractérisation phénotypique del'antibiorésistance et de quelques facteurs de virulencede souches d'E.coli pathogènes aviaires (APEC) Universite mouloud memmeri de tizi ouzou.faculte des sciences biologiques et agronomiques. Departement debiochimiemicrobiologie.

#### P

- PATRICK B., Jean L., and Michel S, 1988. Bactériologie: Les bactéries des infections humaines. 1er Ed Médecine ÉSciences Flammarion. Paris. pp: 100-108-274.
- PAUl Singleton, 1999. Bactériologie, 4éme édition, Dunod, Paris
- **PIBIRI M-C., (2005)**. Assainissement microbiologique de l'aire et des systèmes deventilation au moyen d'huile essentielle. Thèse N °3311, Lausan Suisse.

## R

- RANDRIANA riveloroger, 2010. Etude de l'activite antimicrobienne d'une plante endemique de madagascar « cinnamosma fragrans », Alternative aux antibiotiques en crevetticulture.
- RASTOINJ.et Benabderrazike.H,2014. Céréales et oléagineuse au Maghreb-Institut de perspective économique du monde méditerranéen. 13-15.
- RHAYOUR K, 2002. Etude du mécanisme de l'action bactéricide des huiles essentielles sur Esherichia coli, Bacillus subtilis et sur Mycobacterium phlei et Mycobacterium fortuitum. Thèse Doctorale. Biologie cellulaire et moléculaire appliquée à l'environnement et la santé. Université Sidi Mohamed Ben Abdellah Faculté des Sciences Dhar Mehraz, Fès.
- RICHARD, C. et Kiredjian, M, 1995. Méthodes de laboratoire pour l'identification des bacilles à gram négatif aérobies stricts: Pseudomonas,

- Alcaligenes, Flavobacterium, Acinetobacter, Brucelle, Bordetella (2 ème édition). Ed Institut. Paris : Pasteur. 42-43p.
- RICHRAD-MOLARD M., 1998. Microbiologique des céréales et des farines In
   « Les industries De première transformation des céréales. Edition Techniques et
   Documentation Lavoisier., Paris :159 -173.
- ROSATO A., Piarulli M., Corbo F., Muraglia M., Carone A., Vitali M E et
   Vitali C.,(2010). In Vitro Synergistic Action of Certain Combinations of
   Gentamicin and Essential Oils. Current Medicinal Chemistry. 17, 3289-3295.

# S

- SABRINA, Necib Samah,2021, Etude de l'effet antifongique des huiles essentielles de trois plantes d'Eucalyptus camaldulensis, Rosmarinus officinalis et Ruta graveolens méthanoliques de l'ail (Allium sativumL.)
- SALEH N.E., Michael F.R., Toutou M.M. (2015). Evaluation of garlic and onion powder as phyto-additives in the diet of sea bass (Dicentrarcus labrax). Egyptian Journal of Aquatic Research, 41, 211–217.
- SALHI Ouanassa ;Melle Soltane Teber, 2018. Contribution à l'étude de l'activité antibactérienne de quelques variétés de Vitis vinifera, Université Echahid Hamma Lakhdar -El OUED.
- SARNI Chafiaa et Sarni.Cafiaa, 2016. Évaluation de l'activité antibactérienne de l'extrait aqueux d'ail (*Allium sativum*) et son application pour la conservation de la viande fraiche de dinde. Mémoire de fin de cycle en vue de l'obtention du Diplôme de Master en sciences agronomiques. Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques. Université Mouloud MAMMERI de Tizi-Ouzou.
- **SÉVENET T., Tortora C. 1994**. Plantes, molécules et médicaments. Nathan, CNRS Editions Paris, 119 p.
- SI BENNASSEUR, A, 2005. Référentiel pour la Conduite Technique de l'ail (*Allium sativum*). Researchgate, 1-9.

- STANIER RY, Doudoroff M, Adelberg Ed A, 1966. Microbiologie Générale.Masson et CieEditeurs.
- STERLING, S.J. and Eagling, R.D. 2001. Agronomic and allicin yield of Australi groum garlic. *ActaHorticult*. 555,63-73.

## $\mathbf{T}$

- TAHRI N., Orch H. Et Zidane L. (2007). Ail et Microbes : Examen critique de la litterature, revue antibiotherapeutique. . Journée Scientifique « Ressources Naturelles et Antibiothérapie » Laboratoire de Biodiversité et Ressources Naturelles. Université Ibn Tofail, Kenitra.
- TRUDEAU Carolin ,2006. Nutrition ,institut des nutraceutiques et des aliments fonctionnels. INAF. Université Laval.

#### $\mathbf{V}$

VINOD KG, Amit R, Vikas Kn, Kalishankar M, 2010. Antimicrobial activity
of Spondias pinnataresin. Journal of Medicinal Plants Research 4(16): 1656-1661.

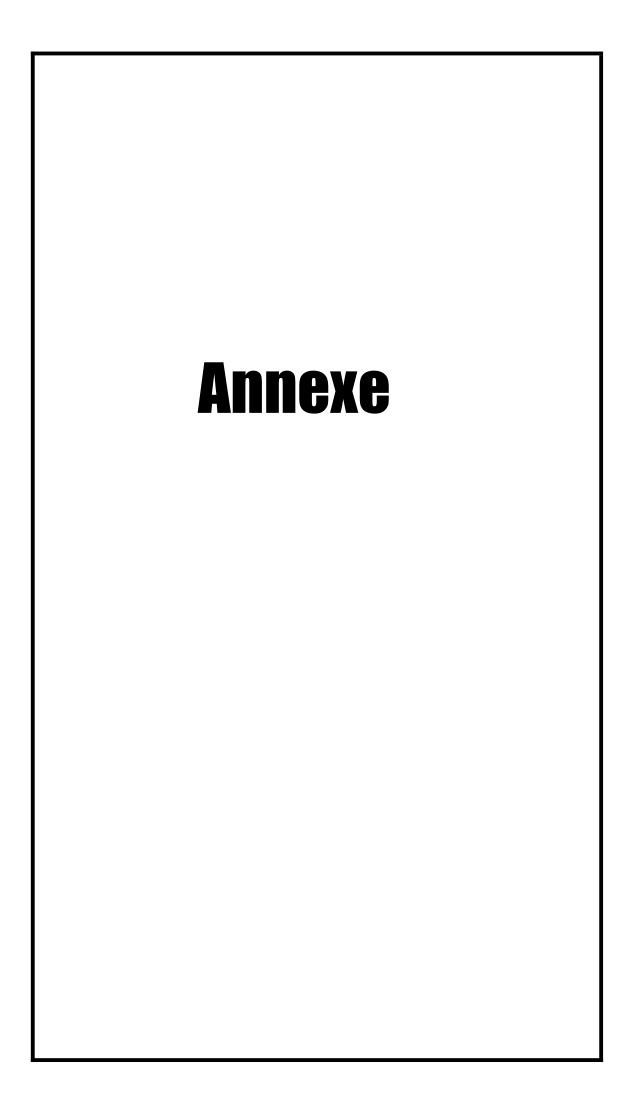
# ${f W}$

- WILLIAMS LR., Lusunzi I.,(1994). Essential oil from Melaleuca dissitiflora: a
  potential source of high quality tea tree oil. Industrial Crops and Products, 2:
  211–217. Annales de la recherche forestière au Maroc, 34: 94.
- WILLOCX,JK,Ash,S ,Catingnani,Gl, 2004.Antioxydants and prevention of chronic disease. Crit Rev Food,Sci Nutr,44(4):275-95.

# Z

 ZAHOUR.A, 1992 . éléments d'amélioration génétique des plantes, Editions Actes.161p.

- ZEINAB hamzeh, 2014 .étude sur l'utilisation de cocktail de Bactériophages pour l'élaboration de surfaces Antibactériennes l'université du Québec a trois-rivières.
- ZHIRI A.,2006. Aromatherapie, un peu d'histoire. Neutra News, 1-16.



#### • Préparation de milieu gélose nutritive:

Le GN est un milieu d'isolement non sélectif pur contrôler le pureté des souches bactériennes.

- Peser 28g de poudre de GN dans un litre d'eau distillée.
- > Chauffer à ébullition pour dissoudre complètement le milieu.
- ➤ Stériliser par l'autoclave à une pression de 121°C pendant 20 min.
- ➤ Laisser refroidir à 45-50°C.
- Verser le GN dans les boites de petri stérilisé jusqu'à ce que le soit solidifié.
- ➤ Conserver les boites au réfrigérateur à 2-8°C.

## • Préparation de l'eau physiologie :

C'est un liquide isotonique avec le sang; c'est-à-dire présentent la même osmolarité que les principaux fluide corporels.

Elle est composée de l'eau distillée plus le chlorure de sodium NaCl diluée à 9% pour un litre d'eau.

Les différentes valeurs de densité sont indiquées dans le tableau suivant :

La bactérie	La densité
Pseudomonas aeruginosa	0,15
Bacillus subtilis	0,06
subsp.spizizenii	
E.Coli	0,10

## • Préparation de gélose Muller Hinton:

Le gélose MH est utilisé pour étudier la sensibilité aux antibiotique des bactéries .

- ➤ Il faut stériliser la gélose à l'autoclave durant 20 min à 121 °C.
- ➤ Il doit être coulé dans les boites de petri sur une épaisseur de 4mm et elles doivent être séchées.

Année universitaire : 2021-2022 Présenté p

Présenté par : REHAB Nesrine

BEDJAOUI Abir Haibet ALLAH

Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Biotechnologie et Génomique Végétale

Contribution à l'étude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles, hydrolats, jus aqueux et méthanolique de deux variétés d'*Allium sativum* sur trois souches de bactéries (*Bacillus subtilis subsp.spizizenii*, *Pseudomonas aeruginosa et E. coli.*)

En Agriculture, la lutte contre les ravageurs et bioagresseurs repose principalement sur l'utilisation de pesticides chimiques qui, malheureusement, perdent de leur efficacité face à des parasites qui développent de plus de plus de résistance à leur encontre suite à leur application répétée. Pour cette raison on a recours aux bio pesticides, issues de plantes comme l'ail (Allium sativum L.) qu'est de plus en plus mis en avant pour ses propriétés antimicrobienne notamment grâce à la présence d'allicine. Ainsi, la présente étude a pour objectif de déterminer l'effet inhibiteur des huiles essentielles, et hydrolat obtenu par hydrodistillation; ainsi que les jus aqueux et méthanolique à partir de deux variétés d'Ail produites localement à savoir : la variété rouge locale et la variété rouge chinoise sur la croissance de trois souches bactériennes (E;coli; Bacillus subtilis subsp.spizizenii et Pseudomonas aeruginosa) par la technique d'aromatogramme. Ainsi, le rendement moyen obtenu pour l'huile essentielle des deux variétés rouge locale et rouge chinoise est de 0,39%, et 0,37 respectivement. Nos résultats montrent que le pouvoir antimicrobien de ces huiles est très important et se caractérise par une action bactéricide contre les germes suscités proportionnels à la concentration appliquée, avec des diamètres de zones d'inhibition qui varient de 9 à 16 mm, et de 6 à 9mm avec la rouge locale et la rouge chinoise respectivement. Quant aux résultats de L'hydrolat ; l'effet inhibiteur observé est moyen pour les deux variétés sur les trois souches bactériennes. En ce qui concerne le jus aqueux de la variété Rouge Locale son activité antimicrobienne s'est observée chez les trois bactéries avec des diamètres de 13 à 18 mm, par contre le jus aqueux de la rouge chinoise à inhiber que la bactérie Bacillus subtilis subsp.spizizenii et Pseudomonas aeruginosa avec des diamètres de 9 et 11mm respectivement .L'effet inhibiteur du jus méthanolique de la variété rouge locale s'observe avec des diamètres moyens que sur E. Coli et Pseudomonas aeruginosa; par contre chez la variété rouge chinoise aucune activité inhibitrice sur les trois souches bactérienne n'a été observée.

**Mots-clefs :** Allium sativum, Huile essentielle, hydrolat, jus aqueux, *E.coli, Bacillus subtilis subsp.Spiziz et Pseudomonas aeruginosa*, activité antimicrobienne ...

Laboratoire de recherche : Génétique, Biochimie et Biotechnologie Végétale GBBV .

Encadreur: LOUALI Yamouna (MCB - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Examinateur 1: BOUCHEMAL Karima (MCB - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Examinateur 2: HAMLA Chourouk (MCB - Université Frères Mentouri, Constantine 1).