

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



جامعة الإخوة منتوري قسنطينة I
Frères Mentouri Constantine I University
Université Frères Mentouri Constantine I

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie et Écologie végétale

كلية علوم الطبيعة والحياة
قسم البيولوجيا و علم 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 :

**Formulation d'un Emulgel à base de deux huiles essentielles
d'*Allium sativum* et étude de leur activité antibactérienne et
antifongique**

Présenté par : REZGUI Akram
DJOUAMA Aysel Line

Le 20/06/2023

Jury d'évaluation :

Président : KELLOU K (Pr - Université Frères Mentouri, Constantine 1).
Encadrante : LOUALI Y (MCB - Université Frères Mentouri, Constantine 1).
Examineur : TEMAGOULT M (MAA - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Année universitaire
2022 – 2023

Remerciements

Nous exprimons tout d'abord nos sentiments de profonde gratitude à notre Dieu, le Maître de la vie, des temps et des circonstances, pour nous avoir alloué de sa grâce inestimable et pour nous avoir donné la force, le courage et la patience pour mener à terme ce travail.

« Alhamedou li Allah le Tout Miséricordieux, le très miséricordieux, l'Omniscient Et Le Généreux ».

Nous tenons à remercier tout particulièrement Mme LOUALI Yamouna, qui nous a dirigés tout au long de cette période de préparation de mémoire. Elle a toujours été disponible, à l'écoute de nos nombreuses questions, et s'est toujours intéressée à l'avancée de nos travaux. Les nombreuses discussions que nous avons eues ainsi que ses conseils sont pour beaucoup dans le résultat final de ce travail. Sa capacité d'analyse et son enthousiasme nous ont montré que le monde de la recherche pouvait être un univers passionnant. Enfin, ses nombreuses relectures et corrections de cette thèse ont été très appréciées.

Cette thèse lui doit beaucoup. Pour tout cela merci.

Nous tenons à remercier Mr. KELLOU Kamel, d'avoir accepté d'être président du jury.

On remercie également Mr. TEMAGOULT Mahmoud d'avoir accepté de faire partie du jury et d'examiner notre travail.

Nous remercions également tous les membres du laboratoire de contrôle de qualité de LDM groupe pour nous avoir ouvert les portes de l'entreprise sans aucune limite et de nous avoir fourni les souches fongiques. Et plus particulièrement la responsable du laboratoire Mme BENCHAIIB Ferial, Mr. BENATIA Zakaria le responsable de la

recherche et développement ainsi que *Melle BAIRA Kaouther*, pour leur aide précieuse et disponibilité jusqu'au bout.

Ce travail n'aurait pu être mené à bien sans l'aide de *Mlle SAHLI Safa*, qui nous a donné les notions de base pour la formulation d'émulgel.

Nos vifs remerciements vont à *Mr BENBELKACEM Abdelkader*, *Mme YKHELF Nadia*, *Melle MOUELLEF Adra* ainsi que tous les enseignants de la filière de Biotechnologie et génomique végétale de nous avoir suivi tout au long de notre parcours universitaire.

Nous tenons aussi à remercier : *Monsieur BELBEKRI Nadir* ingénieur du laboratoire BGGV de l'université Les Frères Mentouri Constantine 1, ainsi que tout le personnel du laboratoire, et plus spécialement *Mme BOULDJEJ Ryma* attachée de recherche au laboratoire.

Nous voudrions remercier également *Mme ABDLAZIZ Widad* et *Mme ZERROUGUI Leïla* ingénieur du laboratoire microbiologie de l'université les frères Mentouri Constantine1 de nous avoir fourni les souches bactériennes qui ont fait l'objet de notre étude.

Nos remerciements vont aussi à nos familles, nos amis et toutes les personnes qui nous ont permis d'oublier momentanément le travail dans des repas, sorties ou autres.

À tous ces intervenants, on présente nos remerciements, notre respect et notre gratitude.

Merci à tous ...

Merci pour tout ...

Tables des matières

Introduction générale	1
Chapitre 1 : Revue Bibliographique.....	4
I. Plantes médicinales	4
II. Ail : <i>Allium sativum</i>	4
1. Classification botanique d'<i>Allium sativum</i>.....	4
2. Composition chimique d'<i>Allium sativum</i>	5
A. Alliine.....	6
B. Allicine	6
C. Les composés organo-sulfurés volatils.....	7
3. Types des produits à base d'ail disponibles sur le marché.....	7
4. Huile essentielle d'<i>Allium sativum</i>.....	7
5. Les propriétés pharmacologiques des huiles essentielles d'ail.....	8
A. Activité anti-inflammatoire.....	8
B. Activité anti-oxydante.....	8
C. Activité antibactérienne.....	8
D. Activité antifongique.....	10
III. Les émulsions.....	11
1. Définition.....	11
2. Les divers types d'émulsions.....	11
A. Émulsions simples.....	11
B. Emulsions multiples.....	12
C. Les microémulsions.....	12
3. Les émulgels.....	12
4. Les avantages de l'émulgel.....	13

Chapitre 2 Matériel et méthodes.....	14
I. Matériel.....	14
1. Matériel biologique.....	14
2. Les produits utilisés pour la formulation semi solide « Emulgel ».....	19
3. Les appareils utilisés.....	19
II. Méthodes.....	22
1. Formulation de l'émulgel.....	22
2. Caractérisation de l'émulgel préparé	25
A. Observation macroscopique.....	25
B. Test du PH	25
C. Test microscopique	25
D. Etude de la séparation de l'émulgel	26
3. Etude des activités antibactérienne et antifongique de l'émulgel.....	26
A. Activité antibactérienne.....	26
B. Activité antifongique.....	29
4. Etude de stabilité.....	31
5. Analyse statistiques.....	31
Chapitre 3 : Résultats et discussion.....	32
I. Caractérisation de l'émulgel.....	32
1. Test du pH.....	32
2. Test microscopique.....	33
3. Etude de la séparation de l'émulgel.....	34
II. Etude de l'activité antibactérienne et antifongique.....	34
1. Activité antibactérienne	34
2. Activité antifongique.....	40

III. Etude de stabilité	43
Conclusion et perspectives.....	46
Références bibliographiques	49

Liste des illustrations

Figures	Pages
Figure 01 : Exemples de sulfoxydes présents dans l' <i>Allium</i> .	5
Figure 02 : L'Alliine est le substrat de l'enzyme Alliinase.	6
Figure 03 : Les différents types des produits à base d'ail	7
Figure 04 : Infections cutanées sévères à <i>Staphylococcus aureus</i>	15
Figure 05 : Une infection nécrosante à <i>E. coli</i> .	17
Figure 06 : Dermoscopie des ongles verts par colonisation de l'ongle par <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	17
Figure 07 : Présentation clinique de TC « <i>tinea capitis</i> », causée par <i>Aspergillus niger</i> chez un patient de 4 ans.	18
Figure 08 : Maladie candidose cutanée chez une femme de 67 ans atteinte de diabète.	18
Figure 09 : Le gel de Carbopol	22
Figure 10 : La texture du gel de Carbopol	22
Figure 11 : La neutralisation du PH du gel à l'aide de TEA	23
Figure 12 : Les étapes de la préparation de l'émulsion.	24
Figure 13 : Aspect de l'émulgel après incorporation de l'émulsion dans le gel de Carbopol	24
Figure 14 : Les résultats du test pH des différents échantillons.	33
Figure 15 : Examen microscopique des émulgels RL3%, RC3%, RC2% au grossissement 10x40.	33
Figure 16 : Aspect de l'émulgel après centrifugation.	34
Figure 17 : Effet des 3 échantillons de l'émulgel sur la souche « <i>staphylococcus aureus</i> » après 24h.	35

Figure 18 : Effet des 3 échantillons de l'émulgel sur la souche « <i>Bacillus subtilis subsp.spiziznii</i> » après 24h.	36
Figure 19 : Effet de l'émulgel sur la souche <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .	36
Figure 20 : Effet des différents échantillons de l'émulgel sur <i>E.coli</i> .	37
Figure 21 : Représentation graphique de l'effet antibactérien des trois échantillons de l'émulgel et des deux huiles essentielles d'ail sur quatre souches bactériennes.	39
Figure 22 : Effet des 3 échantillons d'émulgel sur <i>Aspergillus niger</i> .	41
Figure 23 : Résultat du témoin négatif d' <i>Aspergillus niger</i>	41
Figure 24 : Représentation graphique de l'effet antifongique des trois échantillons d'émulgel et des deux huiles essentielles d'ail sur deux souches fongiques.	43
Figure 25 : Résultats de centrifugation après stabilité	44
Figure 26 : Résultat de l'observation microscopique après stabilité.	45
Tableau 1 : Classification botanique récente d' <i>Allium sativum</i>	4
Tableau 2 : Composition chimique de l'ail frais en g/100g.	5
Tableau 3 : Les deux types des émulsions simples	11
Tableau 4 : Les souches bactériennes et fongiques utilisés pour étudier les activités antibactériennes et antifongiques de l'émulgel.	14
Tableau 5 : Les appareils utilisés lors de la formulation de l'émulgel et les études de stabilité et des activités antibactérienne/antifongique.	21
Tableau 6 : Schéma explicatif de la répartition des disques dans le boites de pétri	28
Tableau 7 : Schéma explicatif de la répartition des champignons dans les boites pétri.	30
Tableau 8 : Apparence physique des échantillons.	32
Tableau 9 : Les taux d'inhibition des trois échantillons et des deux huiles essentielles sur quatre souches bactériennes.	38

Tableau 10 : Les résultats des témoins positifs (deux antibiotiques) et des témoins négatif	40
Tableau 11 : Les taux d'inhibition des trois échantillons et des deux huiles essentielles sur les deux souches fongiques.	42
Tableau 12 : Les taux d'inhibition des témoins positifs et négatifs sur les deux souches fongiques.	43
Tableau 13 : Apparence physique des échantillons après 1 mois de stabilité dans 30°C et 40°C.	44

Liste des abréviations

ACSOs	Allyl cystéine sulfoxide
SAC	S-allylcysteine
SAMC	S-allyl-mercapto cysteine
DAS	Diallyl sulfides
DADS	Diallyl disulfides
DATS	Diallyl trisulfides
MICI	Maladie intestinale inflammatoire
NO	Oxyde nitrique
E2	Prostaglandine
EPS	exopolysaccharides bactériens
<i>E.coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
<i>S. aureus</i>	<i>Staphylocoque aureus</i>
OSHA	Occupational Safety and Health Administration
<i>C. albicans</i>	<i>Candida albicans</i>
TEA	Triethanolamine
pH	Le potentiel hydrogène
RL	Variété Rouge Locale
RC	Variété Rouge Chinoise
Milieu MH	Mueller-Hinton
Milieu SDA	Sabouraud
GI	Le taux d'inhibition des champignons « Mycelial growth inhibition »

Résumé

Formulation d'un Emulgel à base de deux huiles essentielles d'*Allium sativum* et étude de leur activité antibactérienne et antifongique

Résumé

Au fil des siècles, l'ail a conquis sa place en tant que superaliment et remède naturel. Grâce à la présence de composés actifs tels que l'allicine. L'*Allium sativum* possède des propriétés naturelles antibactériennes, antifongiques et antioxydantes, ce qui en fait un choix idéal pour soutenir la santé, renforcer le système immunitaire et promouvoir le bien-être général. Dans cette perspective, et afin de valoriser les résultats des recherches scientifiques antérieures, nous avons entrepris le développement d'une formulation semi-solide antibactérienne et antifongique à usage topique en utilisant les huiles essentielles des variétés d'ail Rouge locale et Rouge chinoise. L'objectif est de créer un produit efficace et pratique qui exploite les propriétés pharmacologiques de l'ail pour lutter contre les infections bactériennes et fongiques, tout en préservant ses bienfaits thérapeutiques.

La préparation de l'émulgel s'est déroulée en deux phases distinctes : une pour la formation du gel et une autre pour la préparation de l'émulsion. Ensuite, les activités antibactériennes et antifongiques ont été évaluées sur quatre souches bactériennes (*E.coli*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus*), ainsi que sur deux souches fongiques (*Aspergillus niger* et *Candida albicans*).

Les échantillons d'émulgels préparés ont révélé une sensibilité accrue des bactéries gram positives par rapport aux bactéries gram négatives. Par exemple, la bactérie *Staphylococcus aureus* a été inhibée par tous les émulgels, avec un diamètre d'inhibition de 40mm. De même, chez *Bacillus subtilis*, un diamètre d'inhibition similaire a été observé avec l'émulgel contenant une concentration 3% d'huile essentielle de la variété d'ail rouge locale. Cette sensibilité peut être attribuée à la structure de la paroi cellulaire riche en lipides des bactéries gram négatives, qui limite l'accès de l'allicine à l'ARN et à l'ADN, inhibant ainsi leur activité. De plus, l'émulgel préparé a démontré une puissante activité antifongique contre l'*Aspergillus*, avec un taux d'inhibition de 83,3% pour l'émulgel contenant l'huile essentielle de la variété Rouge locale à une concentration de 3%. En outre, ce dernier a présenté des taux d'inhibitions supérieurs aux deux autres émulgels. L'étude de stabilité réalisée sur l'émulgel a révélé une stabilité exceptionnelle dans les deux conditions, normale et accélérée.

Mots clés : Emulgel, huile essentielle, Ail, activité antibactérienne, activité antifongique...

Formulation of an Emulgel based on two essential oils of *Allium sativum* and study of their antibacterial and antifungal activity.

Abstract:

Over the centuries, garlic has established itself as a superfood and natural remedy. Thanks to the presence of active compounds such as Allicin, *Allium sativum* possesses natural antibacterial, antifungal, and antioxidant properties, making it an ideal choice for supporting health, boosting the immune system, and promoting overall well-being. With this in mind, and in order to leverage the findings of previous scientific research, we have embarked on the development of a semi-solid, topical antibacterial and antifungal formulation using essential oils from local Red and Chinese Red garlic varieties. The objective is to create an effective and convenient product that harnesses the pharmacological properties of garlic to combat bacterial and fungal infections while preserving its therapeutic benefits.

The preparation of the emulgel was carried out in two distinct phases: one for the gel formation and another for the emulsion preparation. Subsequently, the antibacterial and antifungal activities were evaluated against four bacterial strains (*E. coli*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Staphylococcus aureus*), as well as two fungal strains (*Aspergillus niger* and *Candida albicans*).

The prepared emulgel samples showed increased sensitivity of gram-positive bacteria compared to gram-negative bacteria. For example, the bacteria *Staphylococcus aureus* were inhibited by all emulgels, with an inhibition zone diameter of 40mm. Similarly, in *Bacillus subtilis*, a similar inhibition diameter was observed with the emulgel containing a 3% concentration of essential oil from the local red garlic variety. This sensitivity can be attributed to the lipid-rich cell wall structure of gram-negative bacteria, which limits the access of allicin to RNA and DNA, thereby inhibiting their activity. Additionally, the prepared emulgel demonstrated potent antifungal activity against *Aspergillus*, with an inhibition rate of 83.3% for the emulgel containing essential oil from the local red variety at a concentration of 3%. Moreover, the latter exhibited higher inhibition rates than the other two emulgels. The stability study conducted on the emulgel revealed exceptional stability under both normal and accelerated conditions.

Keywords: Emulgel, essential oil, Garlic, antibacterial activity, antifungal activity...

تركيب امولجل Emulgel باستعمال زيتين أساسيين من الثوم (*Allium sativum*) ودراسة نشاطه المضاد للبكتيريا والفطريات

ملخص :

على مر القرون، استحوذ الثوم على مكانته كغذاء فائق القيمة وعلاج طبيعي. بفضل وجود مركبات نشطة مثل الأليسين، يتمتع الثوم الأحمر بخصائص طبيعية مضادة للبكتيريا والفطريات ومضادة للأكسدة، مما يجعله خيارًا مثاليًا لدعم الصحة وتعزيز الجهاز المناعي وتعزيز الرفاهية العامة. في هذا السياق، ولكي نستفيد من نتائج الأبحاث العلمية السابقة، قمنا بتطوير تركيبة نصف صلابة ذات خصائص مضادة للبكتيريا والفطريات للاستخدام الموضعي، باستخدام زيوت أساسية من الثوم الأحمر المحلي والثوم الأحمر الصيني. الهدف هو إنشاء منتج فعال وعملي لمكافحة العدوى البكتيرية والفطرية، مع الحفاظ على فوائد الثوم العلاجية.

تمت عملية تحضير الامولجل Emulgel في مرحلتين متميزتين: الأولى لتكوين الجل والثانية لإعداد المستحلب. ثم تم تقييم الأنشطة المضادة للبكتيريا والفطريات على أربع سلالات بكتيرية (*Bacillus subtilis*، *E.coli*)، بالإضافة إلى سلالتين فطريتين (*Aspergillus niger*، *Candida albicans*)، (*Staphylococcus aureus*، *Pseudomonas aeruginosa*).

أظهرت عينات الإيمولجل Emulgel المحضرة حساسية متزايدة للبكتيريا Gram + مقارنة Gram - على سبيل المثال، تم تثبيط بكتيريا *Staphylococcus aureus* بواسطة جميع العينات، مع قطر تثبيط يبلغ 40 مم. بالمثل، في حالة *Bacillus subtilis*، لوحظ قطر تثبيط مماثل مع إيمولجل يحتوي على تركيز 3% من زيت الثوم الأحمر المحلي. يمكن أن تعزى هذه الحساسية إلى هيكل جدار الخلايا الدهنية الغني للبكتيريا Gram -، مما يحد من وصول الأليسين إلى الحمض النووي الريبوزي ARN والديوكسيريبوز ADN. وبالإضافة إلى ذلك، أظهر الإيمولجل المحضر نشاطًا مضادًا قويًا ضد الفطر *Aspergillus*، مع معدل تثبيط يبلغ 83.3% للإيمولجل الذي يحتوي على زيت الثوم الأحمر المحلي بتركيز 3%. علاوة على ذلك، أظهر هذا الإيمولجل معدلات تثبيط أعلى من الإيمولجلين الآخرين.

أظهرت دراسة الاستقرار التي أجريت على الإيمولجل استقرارًا استثنائيًا في الظروف العادية والمسرعة.

الكلمات المفتاحية :

إيمولجل، زيت اساسي، ثوم، نشاط مضاد للبكتيريا، نشاط مضاد للفطريات...

Introduction

L'ail est une plante vivace constituée de bulbes souterrains. Botaniquement connue sous le nom d'*Allium sativum*, elle fait partie de la famille des *Alliaceae* et est apparentée aux oignons (*Allium cepa*), à la ciboulette (*Allium schoenoprasum*) ainsi qu'aux plantes ornementales comme l'étoile de Perse (*Allium cristophii*). Elle est cultivée à grande échelle sur tous les continents depuis des milliers d'années. Son origine est liée à l'Asie centrale [1].

Allium sativum (ail) est l'un des légumes les plus cultivés par l'homme. Non seulement pour son goût et son odeur spécifiques, mais aussi pour ses propriétés thérapeutiques. La présence de nombreuses substances biologiquement actives dans l'ail, en particulier dans son bulbe souterrain, rend la plante apte à être utilisée en médecine alternative. De plus, en raison des nouveaux défis auxquels est confrontée la médecine contemporaine, l'activité thérapeutique de cette espèce est étudiée et la plante est de plus en plus appliquée dans les traitements [2].

Comme d'autres plantes, l'ail possède un système de défense exquis composé de nombreuses molécules, qui renforcent le système immunitaire humain. Il est également connu comme plante médicinale appliquée comme médicament pour abaisser la tension artérielle, réduire le cholestérol sérique et les triglycérides et inhiber la formation de plaquettes [3].

L'ail possède également plusieurs propriétés pharmacologiques telles que : l'activité anti-oxydante, anticancéreuse, anti-inflammatoire, antimicrobienne et antifongique. Les composants bioactifs de cette plante sont principalement responsables de ses propriétés curatives [3].

Les effets bénéfiques associés à la consommation d'ail sont attribués aux divers composés soufrés qu'il contient, tels que l'allicine, l'ajoène, le vinyl-dithiine et d'autres composés organo soufrés volatils. Tous ces composés sont métabolisés à partir de l'alliine, et sont présents dans plusieurs produits à base d'ail, qui peuvent être classés en différentes catégories, notamment la poudre d'ail, le macérât d'huile d'ail, l'extrait d'ail vieilli et l'huile essentielle d'ail [4].

Les produits pharmaceutiques administrés par voie cutanée varient en terme de formulation, allant du liquide aux poudres en ce qui concerne la consistance. Parmi eux, les

préparations semi-solides gagnent en importance. Les préparations topiques semi-solides telles que les crèmes, les pommades et les lotions présentent certaines limites telles que : le caractère collant et la faible capacité d'étalement, qui entraînant une faible biodisponibilité et des fluctuations des concentrations efficaces du médicament. De plus, elles ont également un faible coefficient d'étalement et nécessitent un frottement lors de l'application sur la peau. Les problèmes de stabilité limitent également leur efficacité [5].

En raison de tous ces aspects, les gels transparents ont amélioré l'importance des voies transdermiques à la fois dans les cosmétiques et dans les préparations pharmaceutiques. Un système d'administration transdermique de médicaments constitue la meilleure alternative pour réduire et éviter les inconvénients associés à l'administration orale et parentérale de médicaments dans le corps [5].

L'objectif principal assigné à cette étude est de valoriser les résultats obtenus l'année précédente par REHAB et BEDJAOUI sur l'étude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles, hydrolats, jus aqueux et méthanolique de deux variétés d'*Allium sativum* [6]. Cela sera réalisé en préparant une forme semi-solide à application cutanée tout en conservant les propriétés pharmacologiques de l'huile essentielle d'*Allium sativum*. De plus, l'étude vise à examiner les propriétés antibactérienne et antifongique de l'émulgel préparé afin d'assurer son efficacité.

Dans une première partie, une revue bibliographique sera présentée, portant sur la description de la plante d'*Allium sativum*, sa classification botanique, sa composition chimique, ainsi que les propriétés pharmacologiques de l'huile essentielle d'ail. Des notions générales sur les émulsions, y compris leurs types, leurs composants, et les avantages liés à la formulation des émulgels seront également abordés.

La deuxième partie du manuscrit exposera le matériel et les méthodes utilisés pour la formulation d'un émulgel à base des huiles essentielles des deux variétés d'ail (Rouge Locale et Rouge Chinoise). Cette partie couvrira également l'étude des activités antibactérienne et antifongique, ainsi que la stabilité de l'émulgel.

Les résultats obtenus lors de cette étude ainsi que la comparaison entre les résultats des différents échantillons RL 3%, RC 3%, RC 2% seront présentés dans la troisième partie.

Enfin, la quatrième partie traitera de la conclusion et les perspectives futures de cette étude.

Chapitre 1
Revue Bibliographique

Chapitre 1 : Revue bibliographique

I. Plantes médicinales

Une plante médicinale est définie comme toute espèce végétale qui contient un ou plusieurs de ses organes ou matériaux pouvant être utilisés à des fins de traitement ou comme matière première pour former des médicaments utiles [7].

Diverses parties de la plante sont utilisées en médecine traditionnelle, notamment l'écorce, les fleurs, les fruits, les feuilles, les résines, les racines, les graines et les tiges. La valeur médicinale de ces plantes réside dans les composés chimiques présents dans différentes parties des plantes qui produisent un effet physiologique spécifique sur le corps humain [8].

II. Ail : *Allium sativum*

1. Classification botanique d'*Allium sativum*

Auparavant classifié dans la famille des *Liliaceae*, L'ail était autrefois appelé *Allium controversum*, ce qui suggère des problèmes avec la classification de cette espèce [9]. Des révisions taxonomiques récentes placent l'ail dans la famille des *Alliaceae*, qui comprend environ 700 espèces [10]. La classification botanique d'*Allium sativum* est représentée dans le **Tableau 1**.

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

Tableau 1 : Classification botanique récente d'*Allium sativum* [11].

2. Composition chimique d'*Allium sativum* :

L'ail contient des concentrations élevées de composés organo-sulfurés, ce qui lui confère une saveur et un goût caractéristiques et sont également responsables de ses effets bénéfiques [3]. Les composants essentiels de l'ail frais sont présentés dans le **Tableau 2**. En plus de cela, environ 33 composés soufrés et 17 acides aminés ont été identifiés et isolés [12].

Composants (g)			Minéraux (mg)		Vitamines (mg)			
	1	2	1	2	1	2	1	2
Eau	63,7	64	Minéraux	1,42(g)		C	30	14
Protéines	7	6,05	Na	17		B6	1.2	
Glucides disponibles -sucres	24,5	28,41	Mg	21		Folates (µg)	3	
	2,4	-	P	134	136	Proportion comestible/Déchets %	87	12
-Amidon	22,1	-	K	446		Energie STD (kcal)	133	138
Fibres	3		Ca	38	38			
Lipides	0,5	0,12	Fe	1.4	1.40			

Tableau 2: Composition chimique de l'ail frais en g/100g 1 : [13], 2 : [14] IN [15].

Le groupe des composés soufrés des plantes d'*Allium*, appelé S Alk(en)yl_ cysteinesulfoxides (ACSOs), contient des composés responsables de leur odeur et saveurs typiques [16] IN [10], ce groupe est représenté dans la **Figure 1**.

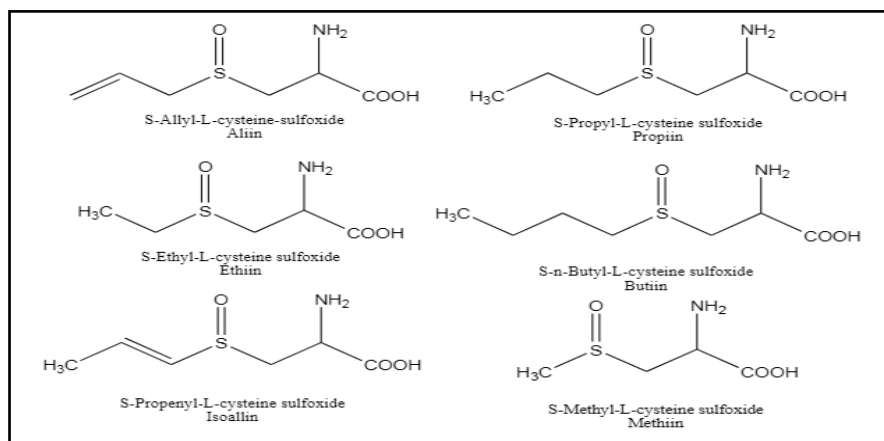


Figure 1: Exemples de sulfoxydes présents dans l'*Allium* [10].

Les composés soufrés présents dans l'ail sont repartis en deux groupes, en fonction de leur solubilité, soit dans l'eau, ou dans l'huile.

- Les composés solubles dans l'eau sont : l'Alliin, Cysteine, S-allylcysteine (SAC), et le S-allyl-mercapto cysteine (SAMC) [4].
- Les composés solubles dans l'huile sont : Allicin, Diallyl sulfides (DAS), Diallyl disulfides (DADS), Diallyl trisulfides (DATS), et l'Ajoene [4].

A. Alliine :

L'alliine est un acide aminé non protéique stable qui forme le composé sulfurique d'origine responsable de la majorité des matières volatiles odorantes produites à partir d'ail écrasé ou coupé. Il a été identifié pour la première fois en 1948 dans le laboratoire de Stroll et Seebrook [17]. La molécule de l'alliine se trouve dans le cytoplasme des cellules des bulbes d'ail et est séparé de l'allinase ; une enzyme constituant l'un des principaux composants protéiques de l'ail (*Allium sativum L.*). l'allinase est une glycoprotéine localisée dans la vacuole cellulaire qui, lors de l'écrasement de l'ail, cette dernière catalyse la conversion de l'acide aminé soufré non protéique, l'alliine ((+S)-allyl-L-cystéine sulfoxyde) en allicine (thiosulfinate de diallyle), qui est le composant biologiquement actif bien connu de l'ail fraîchement broyé, ainsi qu'en pyruvate et en ammoniac [18].

B. Allicine :

L'allicine est le principal thiosulfinate produit dans l'ail, représentant 70 % du thiosulfinate total présent ou formé dans les gousses d'ail fraîchement écrasés. Il est responsable de l'odeur piquante de l'ail et il a été démontré qu'il possède plusieurs propriétés pharmacologiques, notamment des activités antimicrobiennes, anticancéreuses, ainsi qu'une capacité de diminution des lipides sériques et de la pression oculaire. C'est une molécule instable et très réactive qui se dégrade rapidement pour former des sulfures secondaires [19] [20]. Les différents produits de la transformation de l'allicine sont représentés dans la **Figure 2**.

De nombreuses études ont fourni des preuves solides que la plupart des fonctions biologiques et des avantages pour la santé de l'ail sont attribués à l'allicine. Ceci est rendu possible par ses fortes propriétés modificatrices et anti-oxydantes [21].

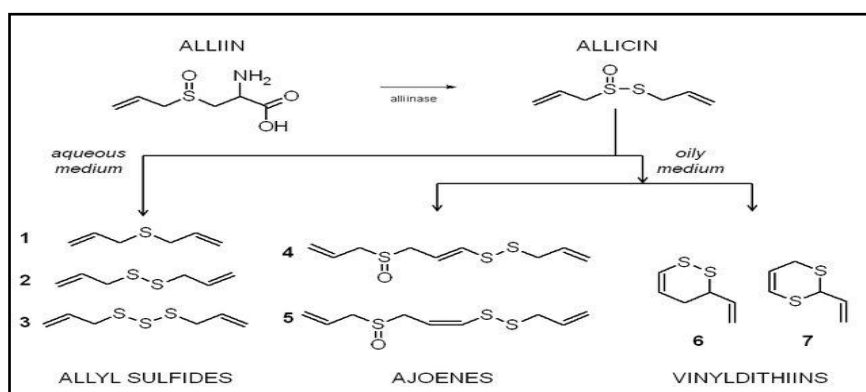


Figure 2 : L'alliine est le substrat de l'enzyme allinase. L'allicine ; le produit, se transforme rapidement en différents groupes de molécules selon les conditions et le milieu [22].

C. Les composés organo-sulfurés volatils :

Diallyl sulfides (DAS), Diallyl disulfides (DADS), Diallyl trisulfides (DATS) et le sulfurdioxyde sont formés par la décomposition de l'allicine. Les principaux composés volatils identifiés à partir de l'huile essentielle d'ail sont : DAS, DADS, DATS, dissulfure d'allyle de méthyle, trisulfure d'allyle de méthyle, vinyldithiines et ajoènes [3].

3. Types des produits à base d'ail disponibles sur le marché :

Les produits à base d'ail peuvent être classés dans différentes catégories comme la poudre d'ail, le macérât d'huile d'ail, l'extrait d'ail vieilli et l'huile essentielle d'ail. La description des divers produits à base d'ail est élaborée dans la **Figure 3**.

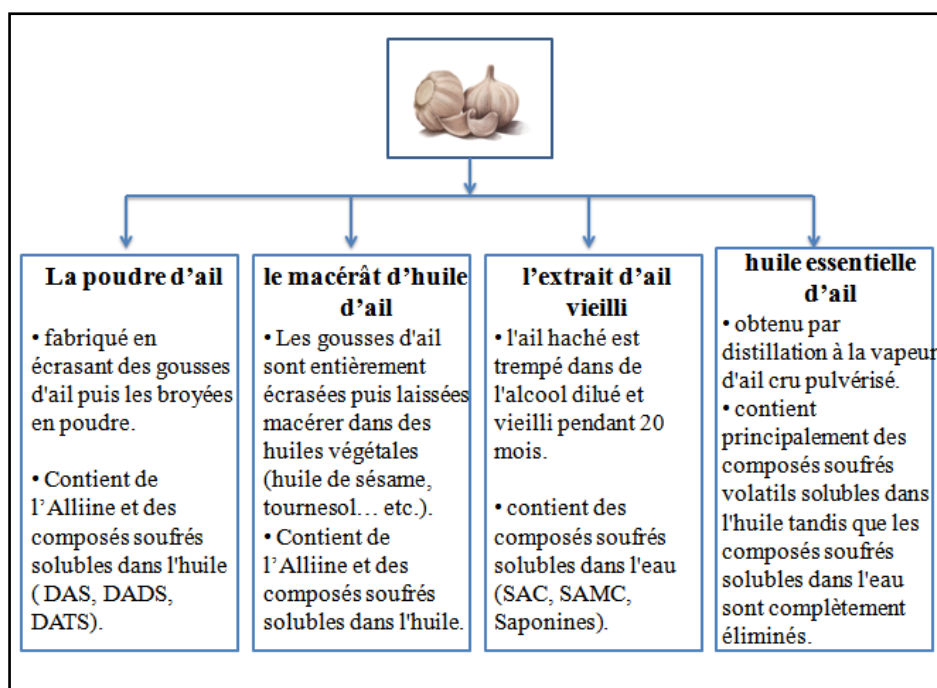


Figure 3 : Les différents types des produits à base d'ail [4].

4. Huile essentielle d'*Allium sativum* :

Les huiles essentielles sont des métabolites secondaires riches en composés phytochimiques qui sont responsables de diverses propriétés pharmacologiques [23]. Les huiles essentielles sont souvent extraites par le procédé d'hydro-distillation, qui utilise la vapeur pour vaporiser les composés volatils présents dans le matériel végétal ; qui seront ensuite condensés et recueillis sous forme d'huiles essentielles [24].

L'huile essentielle d'ail présente plusieurs propriétés bénéfiques, telles que : les activités antimicrobienne [6], anti-oxydante [25], anti-inflammatoire [26], antifongique [17], cardiovasculaire [27] et anticancéreuse [28].

Une étude récente réalisée sur l'huile essentielle d'ail a montrée que cette dernière se compose de : trisulfure de diméthyle (19,86%), le disulfure de diallyle (18,62%), le sulfure de diallyle (12,67%), le tétrasulfure de diallyle (11,34%) et le 3-vinyl-[4 H]-1,2-dithiin (10,11%), suivi du trisulfure de diallyle (5,74%), du trisulfure d'allyle (4,41%), du tétrasulfure de 1,4-diméthyle (4,06%), du disulfure d'allyle (3,95%), du disulfure d'allyle méthyle (3,87%) et du trisulfure d'allyle méthyle (3,76%) [23].

5. Les propriétés pharmacologiques des huiles essentielles d'ail :

A. Activité anti-inflammatoire :

D'après certaines études scientifiques, l'ail peut inhiber les lymphocytes Th1 et les cytokines inflammatoires tout en régulant la production d'IL-10 (L'Interleukine 10), et peut donc aider à résoudre l'inflammation associée aux MICI (maladie intestinale inflammatoire) [29]. Grâce aux composés soufrés anti-inflammatoires comme Z- et E-ajoene et dérivés sulfonyles oxydés d'ajoene qui possèdent une activité anti-prostaglandine, l'ail peut également inhiber la production de l'oxyde nitrique (NO) et la prostaglandine E2 [26].

B. Activité anti-oxydante :

Plusieurs recherches ont rapporté que l'ail présentait des propriétés anti-oxydantes puissantes. Une études à montrée que cette activité est due aux quatre composés : l'alliine, la cystéine allylique, le disulfure d'allyle et l'allicine, et a indiqué que ces composés présentaient différents modèles d'activités anti-oxydantes en tant que composés protecteurs contre les dommages causés par les radicaux libres [25]. Par conséquent, la S-Allyl cystéine (SACS) a montré une activité anti-oxydante [22]. Ce composé peut également protéger les cellules nerveuses et le foie [30], ils ont été utilisés aussi pour le traitement des rats diabétiques à l'alloxane [31].

C. Activité antibactérienne :

• Généralités sur les bactéries :

Les bactéries sont des microorganismes unicellulaires, procaryotes, ce qui signifie qu'ils n'ont pas de noyau ni d'organites. Les bactéries sont largement répandues dans différents habitats, notamment le sol, l'eau, l'air et les organismes végétaux et animaux.

Elles présentent une diversité remarquable en termes de forme, de taille et de capacités métaboliques. Les bactéries jouent un rôle essentiel dans les écosystèmes en tant que décomposeurs, fixateurs d'azote et partenaires symbiotiques. Alors que certaines bactéries sont bénéfiques et nécessaires à divers processus biologiques, d'autres peuvent causer des maladies chez les plantes, les animaux et les humains. Elles peuvent être pathogènes et provoquer des infections en produisant des toxines ou en envahissant les tissus de l'hôte [32].

Une infection bactérienne de la peau désigne une infection causée spécifiquement par des bactéries. Elles peuvent se manifester sous différentes formes, telles que la cellulite, la folliculite, les furoncles ou l'impétigo. Ces infections surviennent souvent lorsque les bactéries pénètrent dans la peau par une coupure, une éraflure ou une autre blessure cutanée [33]. Les bactéries possèdent un système de barrière, la formation de biofilm, qui inhibe l'entrée des désinfectants, des antibiotiques et des molécules immunitaires de l'hôte dans les cellules bactériennes, et constitue une cause majeure de la résistance aux médicaments des bactéries [34]. Certains produits naturels ont été signalés pour fournir des ressources efficaces pour l'inhibition de la formation de biofilm. L'allicine présent dans l'huile essentielle d'ail est l'un des produits qui peuvent empêcher la formation de ce biofilm en inhibant l'adhésion bactérienne précoce et la sécrétion d'EPS (exopolysaccharides bactériens) [35] [36] [37].

- **Effet d'ail sur les bactéries**

Dans la médecine traditionnelle, les plantes d'*Allium* sont depuis longtemps associées au traitement des infections [38]. Actuellement Les propriétés antimicrobiennes de ces espèces ont fait l'objet de plusieurs articles de revue récents. Cette activité est principalement retrouvée avec l'huile essentielle d'ail [39]. Les composés qui possèdent cette activité antibactérienne sont le DADS, le DAS, le DATS et l'allicine. L'allicine a une particularité qui lui est propre, celle d'empêcher aux bactéries de développer une résistance à celle-ci. L'activité antibiotique d'1mg d'allicine équivaut à 15 UI de pénicilline [39].

Une étude a été réalisée sur l'effet inhibiteur des huiles essentielles et hydrolats des deux variétés d'ail (une variété rouge locale et une autre variété rouge chinoise) sur la croissance de trois souches bactériennes (*E.coli*, *Bacillus subtilis subsp.spizizenii* et *Pseudomonas aeruginosa*) par la technique d'aromatogramme. Elle a montré que ces deux produits possèdent une activité antimicrobienne très importante et se caractérisent également 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 [6].

D. Activité antifongique :

- **Généralités sur les champignons :**

Les champignons sont un groupe diversifié d'organismes eucaryotes qui incluent des microorganismes tels que les levures et les moisissures, ainsi que des organismes macroscopiques tels que les champignons. Ils se caractérisent par leur capacité à obtenir des nutriments par digestion et absorption externes. Les champignons ont une composition unique de paroi cellulaire, généralement constituée de chitine ou de cellulose, et leur corps est composé de structures filamenteuses appelées hyphes. Ils jouent des rôles importants dans différents écosystèmes en tant que décomposeurs, symbiotes et agents pathogènes [40].

Les infections fongiques superficielles sont des maladies courantes dans le monde. Ils peuvent affecter divers endroits du corps. Il est estimé que 20 à 25 % de la population mondiale pourrait souffrir d'infections fongiques. L'état chaud et humide de la peau humaine permet aux champignons de prospérer, car des températures de surface de 25 à 28 °C sont idéales pour la croissance [41].

- **Effet d'ail sur les champignons :**

De nombreux champignons se sont révélés sensibles aux extraits d'*Allium*, en particulier ceux de l'ail. Les propriétés antifongiques observées pour les extraits d'*Allium* et les composés sulfurés semblent être associées à leur capacité de réduire la croissance et d'inhiber la synthèse des lipides, des protéines et des acides nucléiques [17].

L'allicine présente dans les extraits d'ail possède une activité antifongique, en particulier chez les espèces *candida*, en provoquant un blocage de la synthèse lipidique qui va conduire à l'inhibition de la croissance fongique [39].

III. Les émulsions :

1. Définition :

Les émulsions sont des systèmes dispersés thermodynamiquement instable ou de stabilité limitée qui consistent en une dispersion de fines gouttelettes d'un liquide dans un autre liquide non miscible. Selon la définition courante, la phase liquide sous forme de gouttelettes est appelée phase dispersée, phase discontinue ou phase interne, tandis que l'autre liquide est désigné comme phase dispersante, phase continue ou phase externe. Les deux phases de l'émulsion, qui ne se mélangent pas, présentent des solubilités différentes. L'une de ces phases est hydrophobe ou lipophile, souvent appelée phase huileuse (bien qu'elle ne soit pas nécessairement lipidique). L'autre phase est hydrophile et est également appelée phase aqueuse [42].

2. Les divers types d'émulsions :

A. Émulsions simples :

Les émulsions simples se composent d'une phase lipophile, d'une phase hydrophile et d'un émulsifiant. Selon que la phase continue est lipophile ou hydrophile, on distingue deux types d'émulsions [42], ces derniers sont représentés dans le **Tableau 3**.

SENS DE L'ÉMULSION	PHASE DISPERSÉE	PHASE DISPERSANTE	SYMBOLES
Émulsion Huile dans Eau (= Huile/Eau = Oil/Water) = émulsion de type aqueux = émulsion à eau externe	lipophile	hydrophile	L/H, O/W, H/E
Émulsion Eau dans Huile (= Eau/Huile = Water/Oil) = émulsion de type huileux = émulsion à huile externe	hydrophile	lipophile	H/L, W/O, E/H

Tableau 3 : Les deux types des émulsions simples [42].

En ce qui concerne la taille moyenne des gouttelettes, on distingue des émulsions plutôt grossières, appelées macro émulsions ou émulsions (1 à 10 μm), et des émulsions plus fines, de taille submicronique, appelées mini ou nano émulsions (0.1 à 1 μm) [42].

B. Emulsions multiples :

Les émulsions multiples sont le plus souvent utilisées en pharmacie et en cosmétique. Leur formulation est plus complexe que celle des émulsions simples. Il s'agit d'émulsions ou de dispersion d'une émulsion dans une phase dispersante. Les émulsions doubles (On y distingue trois phases : interne / intermédiaire/ externe).

Chaque phase d'une émulsion peut contenir des ingrédients actifs distincts, ce qui permet la présence d'actifs incompatibles, l'un étant dans la phase interne et l'autre dans la phase externe. Ce type d'émulsion offre également la possibilité de protéger un principe actif contenu dans la phase aqueuse interne ou la phase huileuse interne, ou plus généralement, de séparer des ingrédients solubles qui ne doivent pas être en contact dans la même phase [42].

C. Les microémulsions :

Les microémulsions suscitent un grand intérêt en raison de leurs propriétés particulières. Malgré une composition équivalente, elles sont moins visqueuses que les émulsions conventionnelles et présentent une apparence transparente. La transparence est perçue positivement par les consommateurs car elle est associée à la pureté. Bien que les microémulsions soient encore peu courantes dans les industries biologiques, elles ont connu un développement significatif au cours des dernières décennies et sont de plus en plus utilisées dans les secteurs de la cosmétique et de la pharmaceutique. En cosmétique, on les retrouve parfois sous forme de crèmes et de lotions qui, malgré des fractions volumiques élevées de phase dispersée (20 à 40 %), présentent une faible viscosité. Cependant, leur utilisation est limitée en raison du surcoût associé à l'utilisation de concentrations élevées en tensioactifs, ainsi que des risques accrus d'irritation cutanée [42].

3. Les émulgels :

Comme leur nom l'indique, les émulgels sont des compositions qui combinent du gel et de l'émulsion. Ils sont utilisés comme véhicule pour administrer divers médicaments à la peau, adoptant une émulsion de type huile dans l'eau et eau dans l'huile. Ces émulgels ont la capacité de pénétrer efficacement la peau. L'ajout d'un agent gélifiant dans la phase aqueuse transforme une émulsion classique en émulgel. Les molécules peuvent principalement pénétrer la peau par trois voies : à travers la couche cornée intacte, les canaux sudoripares ou le follicule sébacé. La couche cornée, qui constitue plus de 99% de la surface totale de la peau, est la principale voie d'absorption percutanée des médicaments. Le passage à travers cette couche externe est l'étape limitante pour l'absorption percutanée. Les principales étapes

de l'absorption percutanée comprennent l'établissement d'un gradient de concentration, qui génère la force motrice pour le mouvement du médicament à travers la peau, la libération du médicament du véhicule et la diffusion du médicament à travers les différentes couches de la peau [43].

4. Les avantages de l'émulgel :

- Plus sélectif sur un site spécifique.
- Capacité à mettre fin facilement aux médicaments en cas de besoin
- Pratique et facile à appliquer.
- Incorporation de médicaments hydrophobes
- Meilleure stabilité
- Faisabilité de la production et faible coût de préparation
- Libération contrôlée [43].

Chapitre 2
Matériel et méthodes

Chapitre 2 : Matériel et Méthodes.

I. Matériel

1. Matériel biologique

Matériel végétal

Lors de cette étude, deux principes actifs d'origine végétale ont été sélectionnés pour la formulation de l'émulgel : une huile essentielle provenant d'une variété locale d'*Allium sativum* « Rouge locale » qui a été procurée au niveau de sa source à Ain Ben'sbaa, la commune de Hamma Bouziane, wilaya de Constantine, et une autre huile essentielle extraite d'une variété chinoise « Rouge chinoise », procurée du marché de gros de oued Athmania, commune de la wilaya de Mila.

Les deux huiles essentielles ont été fournies par REHAB Nesrine et BEDJAOUI Abir Haibat ALLAH [6].

Les souches utilisées

L'étude des activités antimicrobienne et antifongique de l'émulgel a été réalisée sur quatre souches bactériennes pathogènes (deux souches à gram négatif et deux autres à gram positif), ainsi que sur deux souches fongiques (**Tableau 4**). Les souches bactériennes utilisées proviennent du Laboratoire de microbiologie de l'université Frères Mentouri Constantine.

Les deux souches fongiques ont été fournis par l'entreprise « Laboratoires Diagnostics Maghrébins - LDM Group, Constantine ».

Les souches bactériennes		Les souches fongiques
Gram +	Gram -	<i>Aspergillus niger</i>
<i>Bacillus subtilis subsp.spiziznii</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>candida albicans</i>
<i>staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>	

Tableau 4 : Les souches bactériennes et fongiques utilisés pour étudier les activités antibactériennes et antifongiques de l'émulgel.

- **Les caractéristiques des souches bactériennes utilisées**

- **Bactéries Gram +** Les bactéries Gram positives sont un type de bactéries qui se colorent positivement avec la technique de coloration Gram, qui est utilisée pour différencier les bactéries en fonction de la composition de leur paroi cellulaire. Les bactéries à Gram positif ont une paroi cellulaire épaisse principalement composée de peptidoglycane. Certaines bactéries à Gram positif sont pathogènes et peuvent causer des maladies chez les humains, comme des infections respiratoires, des infections cutanées et des infections des voies urinaires. Cependant, il existe également des bactéries bénéfiques Gram-positif qui jouent un rôle important dans divers processus biologiques, tels que la fermentation alimentaire et la production d'antibiotiques [44].

Staphylocoque aureus : *S. aureus* est une bactérie à Gram positif. Cette bactérie en forme d'amas irrégulier fait partie de la famille des *Micrococaceae*, elle est tuée à plus de 62°C (température de pasteurisation), et est capable de tolérer cette température au moins une demi-heure [45]. *S. aureus* est connue pour causer un large éventail d'infections, allant des infections cutanées mineures aux affections plus graves telles que la pneumonie, les infections de la circulation sanguine et les infections de sites chirurgicaux [46].

L'homme est un réservoir naturel de *S. aureus*. 30 à 50 % adultes en bonne santé sont colonisés, dont 10 à 20 % sont colonisés de manière persistante. Les personnes colonisées par *S. aureus* courent un risque accru d'infections ultérieures. Les taux de colonisation staphylococcique sont élevés chez les patients atteints de diabète de type 1, les toxicomanes par voie intraveineuse, les patients sous hémodialyse, les patients chirurgicaux et les patients atteints du syndrome d'immunodéficience acquise [46]. Un exemple d'une infection cutanée sévère à *S. aureus* est présenté dans la **Figure 4**.



Figure 4 : Infections cutanées sévères à *Staphylococcus aureus* [47].

Bacillus subtilis subsp.spizizenii: Est une bactérie à Gram positif que l'on trouve couramment dans le sol, la poussière et divers produits alimentaires [48]. *Bacillus subtilis* est capable de se développer à différentes températures, y compris celle du corps humain, mais il ne possède pas de mécanismes de fixation spécialisés pour coloniser les humains. Bien qu'il puisse temporairement résider sur la peau et dans le tractus gastro-intestinal humain, il est peu probable qu'il colonise d'autres parties du corps. *Bacillus subtilis* produit une toxine extracellulaire appelée subtilisine, qui a de faibles propriétés toxiques mais peut provoquer des réactions allergiques chez les individus exposés de manière répétée. Cela peut poser un problème dans les installations de fermentation où une concentration élevée de subtilisine peut être présente. Les limites d'exposition à la subtilisine sont réglementées par l'OSHA [49].

- **Bactéries Gram -** : Les bactéries Gram-négatives sont un type de bactéries qui se colorent négativement avec la technique de coloration de Gram, ce qui indique une composition différente de leur paroi cellulaire par rapport aux bactéries Gram-positives. La paroi cellulaire des bactéries Gram-négatives est plus fine et contient une membrane externe. Des exemples de bactéries Gram-négatives comprennent *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Klebsiella pneumoniae* [44].

Escherichia coli : *Escherichia coli*, une bactérie Gram-négative, anaérobie facultative, en forme de bâtonnet, coliforme du genre *Escherichia*, se trouve couramment dans l'intestin grêle. La relation commensale entre la bactérie et son hôte est symbiotique. Cependant, *E. coli* est devenu un agent pathogène bien adapté à son hôte par la perte et le gain de gènes [50]. Les infections cutanées à *Escherichia coli* sont relativement rares mais lorsque la peau est endommagée, peut-être par des brûlures, à la suite d'une intervention chirurgicale ou en raison de conditions telles que l'eczéma, *E. coli* peut causer des infections cutanées (**Figure 5**) [51]. Les incidents de cellulite dus à *E. coli* sont inhabituels et surviennent principalement chez les patients immunodéprimés [52].



Figure 5 : Une infection nécrosante à *E. coli* [53]. A : L'examen initial a révélé une tache étoilée bien délimitée impliquant le côté gauche du bas du dos. B : Après le traitement de la cellulite à *E. coli*, la plaie a évolué vers une ulcération de 6 cm × 5 cm × 1 cm avec une bordure gris violacé.

Pseudomonas aeruginosa : Est une bactérie Gram-négative, aérobie, en forme de bâtonnet, capable de causer diverses infections chez les hôtes immunocompétents et immunodéprimés [54]. Les infections causées par les espèces de *Pseudomonas* constituent une menace particulière pour tous les patients souffrant de brûlures étendues, ainsi que pour les autres patients chirurgicaux gravement malades. Ces bactéries opportunistes prolifèrent rapidement et envahissent les tissus non viables tels que la plaie brûlée [55].



Figure 6 : Dermoscopie des ongles verts par colonisation de l'ongle par *Pseudomonas aeruginosa* [56].

- Les caractéristiques des champignons utilisés :

Aspergillus niger : Est un champignon ascomycète filamenteux qui appartient au genre d'*Aspergillus*. Ce champignon est responsable de la maladie de la "moisissure noire" [57]. Une étude récente réalisée par Perrine Parize *et al* sur l'effet néfaste d'*Aspergillus* sur la santé humaine, a montrée que ce groupe de champignons peut affecter les patients immunodéprimés en leur provoquant la maladie de « tinea capitis » **Figure 7**. Ainsi que « l'otite externe invasive » qui peut conduire à une ostéomyélite de la base du crâne avec paralysie progressive des nerfs crâniens et peut entraîner une déficience auditive et neurologique irréversible [58].



Figure 7 : Présentation clinique de TC « tinea capitis », causée par *Aspergillus niger* chez un patient de 4 ans [59].

Candida albicans : *C. albicans* est un membre du microbiote humain sain, qui colonise en harmonie avec les autres membres du microbiote plusieurs endroits dans le corps, y compris, le tractus gastro-intestinal, l'appareil reproducteur féminin, la cavité buccale et la peau. Cependant, les perturbations de cet équilibre délicat, peuvent permettre à *C. albicans* de proliférer rapidement et de provoquer une infection [60].







Figure 8 : Maladie candidose cutanée chez une femme de 67 ans atteinte de diabète [61].

3. Les produits utilisés pour la formulation semi solide « Emulgel » :

- Carbopol – 980 (de la société Lubrizol).
- Tween 20.
- Huile de vaseline.
- Triethanolamine (BP, Ph, Eur., USP-NF) pharma grade.

4. Les appareils utilisés :

Les appareils	Photos
<p align="center">Agitateur multipostes (non chauffant) DAIHAN SCIENTIFIC WISE STIR MS-MP8 – 8 POSTES</p>	
<p align="center">Agitateur magnétique chauffant avec grande plaque chauffante STUART/COLE-PARMER</p>	
<p align="center">Balance analytique AS 220.R2 PLUS RADWAG</p>	

<p>Seven Compact pH meter S220 METTLER TOLEDO</p>	 A photograph of a white and blue Seven Compact pH meter S220 by Mettler Toledo. The device has a digital display showing '6.434' and a keypad. A glass electrode is mounted on an adjustable arm and is submerged in a beaker of blue liquid.
<p>pH meter Level 1 inoLab</p>	 A photograph of a white inoLab Level 1 pH meter. It features a large digital screen and a keypad with several function buttons. A glass electrode is attached to the top of the device.
<p>Centrifugeuse de laboratoire NF 1200 nuve</p>	 A photograph of a white laboratory centrifuge, model NF 1200 R by Nuve. It has a digital display and several control buttons on the front panel.
<p>Centrifugeuse Réfrigérée Eppendorf 5415R</p>	 A photograph of a white Eppendorf 5415 R refrigerated centrifuge. It has a digital display and two large blue knobs on the front panel for speed and time control.

<p>Microscope optique binoculaire de MOTIC B1 220 A</p>	
<p>Etuve Mod. INB400 Memmert®</p>	
<p>Spectrophotomètre BioMate 3</p>	

Tableau 5 : Les appareils utilisés lors de la formulation de l'émulgel et les études de stabilité et des activités antibactérienne/antifongique.

II. Méthodes :

L'objectif assigné à cette étude est de valoriser les résultats obtenus l'année précédente par REHAB et BEDJAOUI sur l'étude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles, hydrolats, jus aqueux et méthanolique de deux variétés d'*Allium sativum* [6], en préparant une forme semi-solide à application cutanée tout en conservant les propriétés pharmacologiques de l'huile essentielle d'*Allium sativum*. La forme pharmaceutique choisie est celle de l'émulgel qui est plus facile à étaler et à enlever, et qui possède également une durée de conservation plus longue que les autres formes semi-solides [62].

Concernant le choix des proportions des différents constituants, ces derniers ont été recommandés par SAHLI Safa et CAID Aymen [62].

1. Formulation de l'émulgel :

Etape 1 : La préparation d'un gel en utilisant un agent gélifiant

Une quantité suffisante de Carbopol 980 a été pesée et saupoudrée sur un bécher contenant de l'eau purifiée tout en agitant continuellement en utilisant un agitateur magnétique (DAIHAN SCIENTIFIC WISE STIR). Le gel a été neutralisé à un pH de 7 à l'aide de Triéthanolamine (TEA) (**Figure 11**). Puis laissé reposer pendant la préparation de l'émulsion. L'aspect final du gel est représenté dans les **Figures 9 et 10**.



Figure 9 : Le gel de Carbopol.



Figure 10 : La texture du gel de Carbopol.



Figure 11 : La neutralisation du PH du gel à l'aide de TEA.

Etape 2 : La préparation de l'émulsion

- **Phase huileuse :**

Cette phase a été obtenue en mélangeant dans un bécher, une quantité d'huile de vaseline avec l'agent émulsifiant Tween 20, sous agitation en utilisant un agitateur chauffant (STUART/COLE-PARMER).

Le mélange a été chauffé à une $T = 70\text{ C}^\circ$, jusqu'à ce que l'agent émulsifiant soit fondu.

- **Phase aqueuse :**

L'eau purifiée et l'agent émulsifiant ont été mélangés dans un bécher, puis chauffés à $T = 70\text{ C}^\circ$ à l'aide d'un agitateur chauffant (STUART/COLE-PARMER), jusqu'à ce que l'agent émulsifiant soit complètement fondu.

La phase aqueuse a été introduite par la suite dans la phase huileuse en 3 fois et sous agitation pendant 15 min, jusqu'à ce que l'émulsion soit homogène et bien refroidie.

Les étapes de la préparation de l'émulsion sont représentées dans **la Figure 12**.

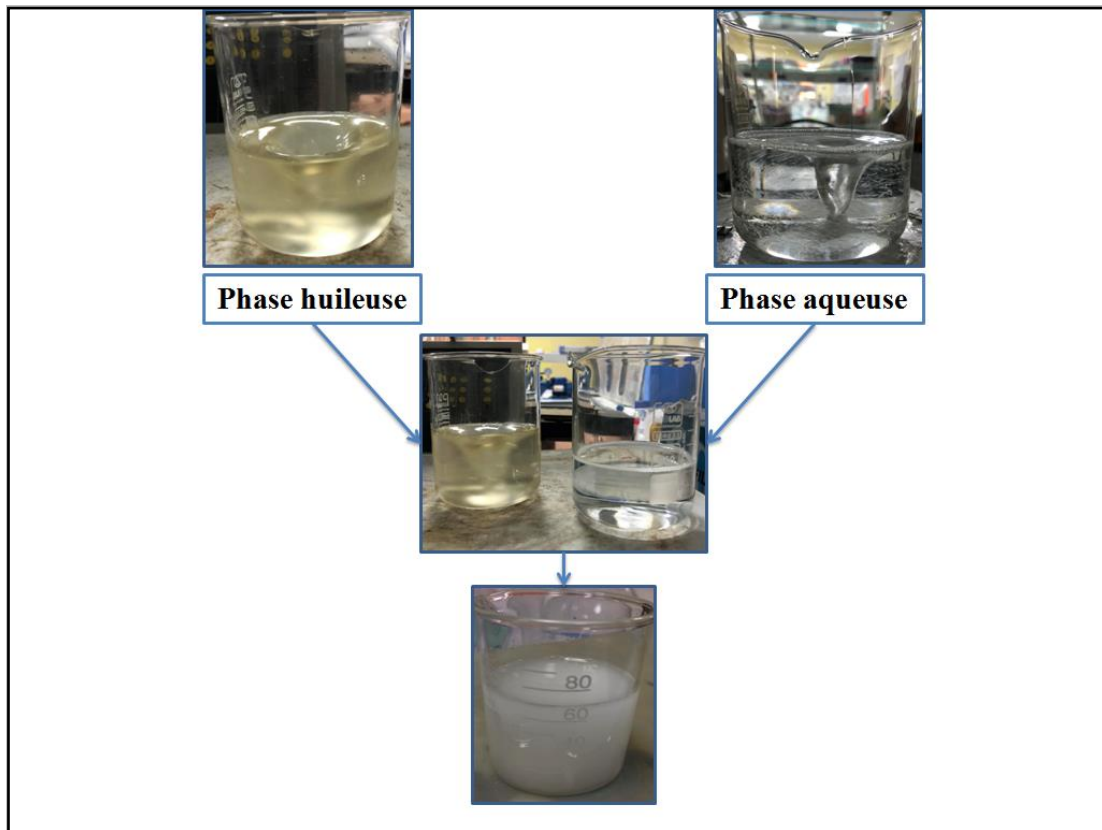


Figure 12 : Les étapes de la préparation de l'émulsion.

Etape 3 : La préparation de l'émulgel

L'émulsion a été incorporée petit à petit dans le gel tout en remuant manuellement à l'aide d'une spatule jusqu'à l'obtention d'un émulsion bien homogène. Le résultat final après incorporation est représenté dans **la Figure 13**.



Figure 13 : Aspect de l'émulsion après incorporation de l'émulsion dans le gel de Carbopol.

Etape 4 : L'ajout du principe actif.

Pour préparer 3 échantillons (variété Rouge locale 3%, variété Rouge chinoise 3% et 2%), le placebo a été divisé en 3 boîtes contenant chacune 50g d'émulgel.

- **L'émulgel RL (Rouge locale) 3%** : 1.5g d'huile essentielle d'*Allium sativum* (Rouge Locale) a été incorporé dans 50g d'émulgel.
- **L'émulgel RC (Rouge locale) 3%** : 1.5g d'huile essentielle d'*Allium sativum* Rouge Chinoise) a été incorporé dans 50g d'émulgel.
- **L'émulgel RC (Rouge locale) 2%** : 1g d'huile essentielle d'*Allium sativum* Rouge locale) a été incorporé dans 50g d'émulgel.

Tout en remuant les échantillons à l'aide d'une spatule jusqu'à l'obtention d'un mélange bien homogène.

2. Caractérisation de l'émulgel préparé :

Pour la caractérisation de l'émulgel, et vu qu'il n'existe pas une monographie pharmacopée relative à la forme " émulgel ". Nous avons choisi la méthode mentionnée dans la référence [63].

A. Observation macroscopique :

Consiste à évaluer la couleur, la texture, l'homogénéité et la présence ou l'absence de séparations des phases. Il est important de contrôler les caractéristiques macroscopiques, car le changement de ces derniers peut nous renseigner sur l'incompatibilité entre les composants ou les mauvaises conditions de conservation.

B. Test du PH :

Les valeurs de PH des différents échantillons ont été mesurées à l'aide d'un PH mètre « METTLER TOLEDO S220 ».

Les électrodes ont été entièrement immergées dans les formules semi-solides et le pH a été noté.

C. Test microscopique :

L'analyse microscopique des trois échantillons de l'émulgel a été réalisée à l'aide d'un microscope optique « MOTIC B1 220 v » au grossissement 40x10.

Pour effectuer ces analyses, des petites gouttes de l'émulgel ont été déposées entre lame et lamelle puis diluée avec de l'eau distillée pour faciliter l'observation. Cette technique vise à détecter les formes d'instabilité qui peuvent être invisibles à l'œil nu.

D. Etude de la séparation de l'émulgel:

Après la préparation de l'émulgel, des essais de centrifugation ont été effectués pour vérifier la séparation des phases. Ces essais ont été effectués en prélevant une quantité de chaque échantillon dans un tube à centrifuger bouché et centrifugé à 19 °C à une vitesse de 3000 tr/min pendant 10 min.

3. Etude des activités antibactérienne et antifongique de l'émulgel :

A. Activité antibactérienne :

La technique utilisée pour étudier l'activité antibactérienne des quatre échantillons de l'émulgel est celle de diffusion des disques. Cette méthode repose sur le principe que le disque imprégné d'émulgel, est placé sur une boîte contenant un milieu gélosé préalablement inoculée avec les souches bactériennes. L'émulgel diffuse radialement vers l'extérieur à travers le milieu gélose. La concentration de l'émulgel au bord du disque est élevée et diminue progressivement à mesure que la distance du disque augmente à un point où il n'est plus inhibiteur pour l'organisme, qui grandit alors librement. Une zone ou un halo clair est formé autour du disque après incubation si l'émulgel inhibe la croissance bactérienne [64].

Etape 1 : Préparation des milieux de culture dans les boîtes de pétri.

- Le milieu gélosé Mueller-Hinton est chauffé dans un micro-onde, jusqu'à ce qu'il soit totalement fondu.
- Le milieu a ensuite été laissé attiédir puis versé dans des boîtes de Pétri afin de bien refroidir, pour commencer l'ensemencement des bactéries.

Etape 2 : Préparation de l'inoculum.

- A partir d'une culture bactérienne jeune et pure, quatre ou cinq colonies ont été prélevés à l'aide d'une anse métallique.
- Les colonies prélevées ont été transférés dans un tube stérile qui contient 10ml d'eau physiologique stérile.
- Les tubes contenant l'inoculum ont été incubés pendant 15min à Température ambiante, afin de mesurer la densité des bactéries.

- Le spectromètre utilisé pour mesurer la densité des bactéries est un Spectrophotomètre UV visible de marque THERMOSCIENCE, cette dernière doit être comprise entre 0.08 et 0.1 pour une longueur d'onde de 600 nm (environ 10^8 UFC/mL). Cette méthode est utilisée pour normaliser le nombre approximatif de bactéries dans une suspension liquide en comparant la turbidité de la suspension d'essai avec celle de l'étalon McFarland. Si la densité des bactéries dépasse les normes, on peut la réduire en rajoutant de l'eau physiologique.

Etape 3 : Ensemencement des bactéries et dépôt des disques.

- Les écouvillons utilisés lors de cette étape sont stériles. Ces derniers étaient imbibés de la suspension bactérienne préalablement préparée.
- L'excédent d'inoculum a été retiré en pressant légèrement l'écouvillon contre la paroi du tube à un niveau supérieur à celui du liquide.
- Les milieux MH ont été ensemencés à l'aide des écouvillons contenant de l'inoculum.
- Pour assurer une distribution uniforme de l'inoculum, il faut tourner la boîte 180° et répéter la procédure d'ensemencement.
- Les boîtes ont été laissées séchées pendant 3 à 5 minutes.
- Nous avons utilisé dans cette étape, des disques de papier Wattman n°1 de 6 mm de diamètre.
- A l'aide de pinces stériles, les disques ont été trempés dans l'émulgel, puis placés sur la surface des boîtes inoculées et séchées (il est nécessaire d'appuyer légèrement sur le disque afin d'assurer un contact complet entre le disque et la surface).
- Les boîtes ont été divisées sur 4, afin de réaliser 3 répétitions de l'émulgel et une pour l'huile essentielle, pour comparer le taux d'activité.
- Les témoins positifs ont été réalisés en utilisant deux antibiotiques (*Gentamicine* et *Amoxiciline*), tandis que les témoins négatifs ont été réalisés en absence de disque et en plaçant un disque imbibé de placebo.
- Les boîtes ont été scellées avec du parafilm et incubées pendant 24h à $T=37^\circ\text{C}$ dans une étuve de marque (Mod. INB400 Memmert®).

La répartition des disques dans chaque boîte est représentée dans le **Tableau 6**

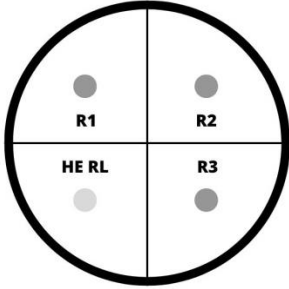
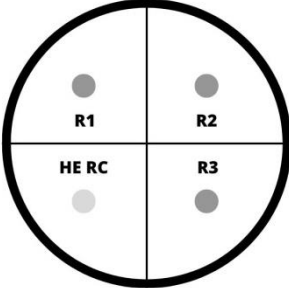
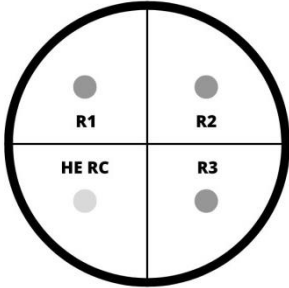
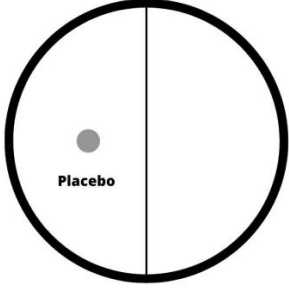
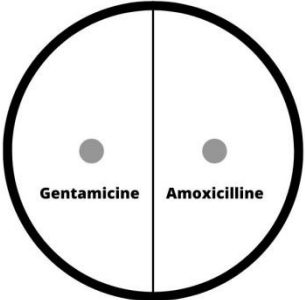
Echantillons	Pour chaque souche bactérienne
RL 3%	
RC 3%	
RC 2%	
Témoin négatif	
Témoin positif	

Tableau 6 : Schéma explicatif de la répartition des disques dans le boîtes de pétri.

B. Activité antifongique :

La méthode utilisée lors de cette étude consiste à étaler les échantillons de l'émulgel préalablement préparés sur toute la surface des boîtes de pétri contenant le milieu de culture. Puis, inoculer la souche fongique en contact avec l'échantillon et suivre sa croissance.

Etape 1 : Préparation des milieux de culture.

Le milieu de culture choisi pour l'étude de l'activité antifongique de l'émulgel est le milieu Sabouraud ; il s'agit d'un milieu d'isolement non sélectif utilisé pour la croissance et le maintien de champignons pathogènes et non pathogènes.

Le milieu SDA (Sabouraud) a été liquéfié au micro-onde, jusqu'à ce qu'il soit complètement fondu, de sorte qu'il puisse être versé dans les boîtes de Pétri. Ensuite, il a été laissé refroidir à 45-50 °C, puis versé dans les boîtes de pétri (il est nécessaire de laisser les boîtes contenant les milieux de culture au moins 10min, pour qu'elles se solidifient).

Etape 2 : Ensemencement des souches fongiques.

- Au cours de cette étape, les échantillons de l'émulgel préparé ont été étalés sur $\frac{3}{4}$ de la surface du milieu de culture (pour 3 répétitions) à l'aide d'écouvillons stériles ($\frac{1}{4}$ restant a été laissé pour l'huile essentielle, afin de comparer l'effet de cette dernière avec celui de l'émulgel).
- Les champignons ont été par la suite ensemencés en prélevant 2 ou 3 colonies, en les inoculant par contact avec le gel contenant l'échantillon et l'huile essentielle préalablement étalés.
- Les témoins positifs ont été réalisés en utilisant deux antimycosiques (*Terbinafine* et *Econazol*), tandis que les témoins négatifs ont été réalisés en étalant le placebo sur la moitié de la surface du milieu de culture et en inoculant des colonies directement sur le milieu dans l'autre moitié de la boîte.
- Les boîtes ont été scellées avec du parafilm et incubées pendant 24h à T= 37 C° dans une étuve de marque (Mod. INB400 Memmert®).

La répartition des boîtes est représentée dans le Tableau ci-dessous.

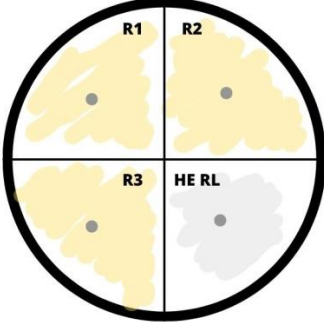
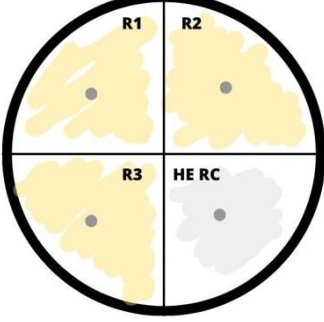
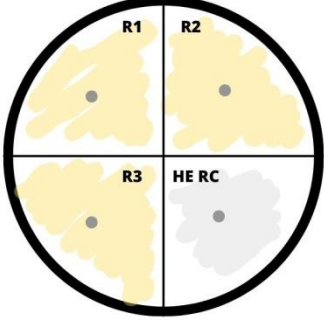
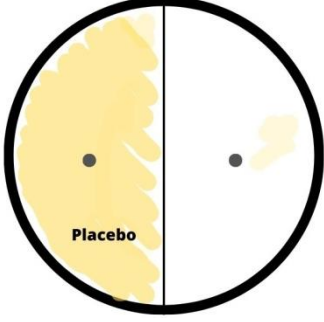
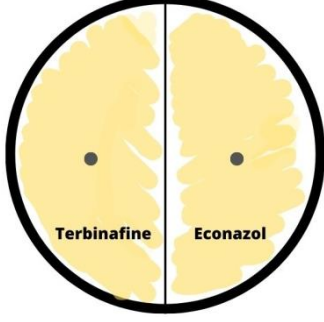
Echantillons	Pour chaque souche fongique
RL 3%	
RC 3%	
RC 2%	
Témoin négatif	
Témoin positif	

Tableau 7 : Schéma explicatif de la répartition des champignons dans les boîtes pétri.

Le taux d'inhibition GI « Mycelial growth inhibition » a été calculé en pourcentage à partir de la différence entre la croissance du mycélium traité et celui du témoin en utilisant l'équation suivante :

$$\text{GI (\%)} = (\text{C}-\text{T})/\text{C} *100$$

C représente la moyenne de l'extension hyphale (mm) des témoins négatifs,

T représente la moyenne de l'extension hyphale (mm) des champignons traités avec les échantillons.

4. Etude de stabilité :

L'émulgel a été mis en stabilité pendant 1 mois dans diverses conditions :

Conditions de stabilité accélérées : il s'agit de soumettre les produits aux conditions de stockage exagérées, afin d'accélérer sa dégradation (Température = 40 C°, Humidité = 75%).

Conditions de stabilité à long terme ou en temps réel : les produits ont été mis dans des conditions de stockage recommandées (Température = 30 C°, Humidité = 65%).

Les échantillons ont été analysés après 1 mois de stabilité pour le pH, la séparation des phases par centrifugation et test microscopique et pour les activités antibactériennes et antifongiques.

Chapitre 3
Résultats et Discussion

Chapitre 3 : Résultats et discussion.

I. Caractérisation de l'émulgel :

- **Observation macroscopique :** Les échantillons préparés présentait les caractéristiques suivantes :
- **Aspect :** Crémeux, visqueux, texture homogène et lisse, absence de grumeaux à l'étalement, aspect brillant.
- **Couleur :** Une couleur blanchâtre.
- **Odeur :** Odeur d'ail très forte.

Les résultats obtenus sont représentés dans le **Tableau 8**.

Les échantillons	Couleur	Homogénéité	Consistance	Séparation des phases	Odeur
(RL) 3%	Blanchâtre	Excellente	Excellente	Aucune	Forte
(RC) 3%	Blanchâtre	Excellente	Excellente	Aucune	Forte
(RC) 2%	Blanchâtre	Excellente	Excellente	Aucune	Forte

Tableau 8 : Apparence physique des échantillons.

1. Test du pH :

Le pH pourrait être considéré comme l'un des paramètres les plus essentiels pour l'administration efficace, la stabilité et la compatibilité des formulations topiques. Vu que ces formulations vont être mises en contact direct avec la peau. Il doit se situer dans la plage de pH physiologique de la peau (entre 4.5 et 6.5), afin d'éviter le problème d'irritation [5].

A cet effet, nous avons effectué un test à l'aide d'un pH mètre. Les valeurs du pH mesurées des 3 échantillons sont comprises entre 6.8 et 6.9 (**Figure 14**). Ces valeurs sont légèrement supérieures à celles de la peau. De plus, la plupart des germes présentent un développement optimal dans des milieux ayant un pH proche de la neutralité (pH 6,5 - 7,5) qui correspond aux valeurs d'émulsions les plus couramment formulées en cosmétiques. Il est donc nécessaire de réduire la quantité du TEA ajoutée lors de la neutralisation du gel afin d'ajuster le pH à une valeur plus proche de la neutralité [65].

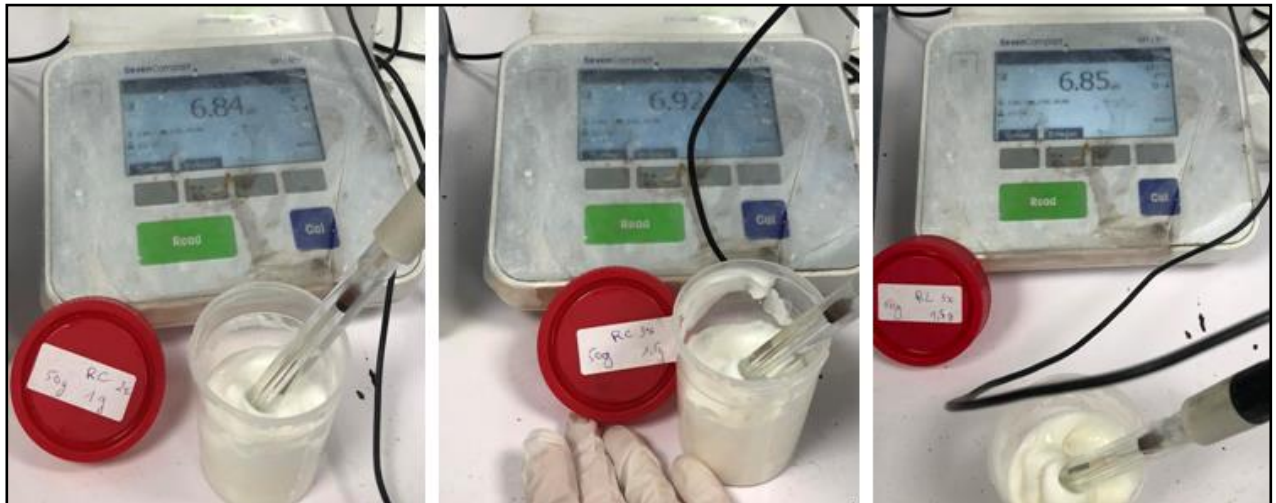


Figure 14 : Les résultats du test pH des différents échantillons.

2. Test microscopique :

En examinant les échantillons de l'émulgel au microscope, il apparaît clairement que la structure de ces derniers est diphasique. Les résultats montrent que l'émulgel contient deux phases hydrophile et lipophile ; l'une est dispersée dans l'autre. L'examen microscopique n'a montré aucun signe d'instabilité pour les formulations RL3%, RC3% et RC2% (il n'y a aucune forme de séparation). (**Figure 15**).

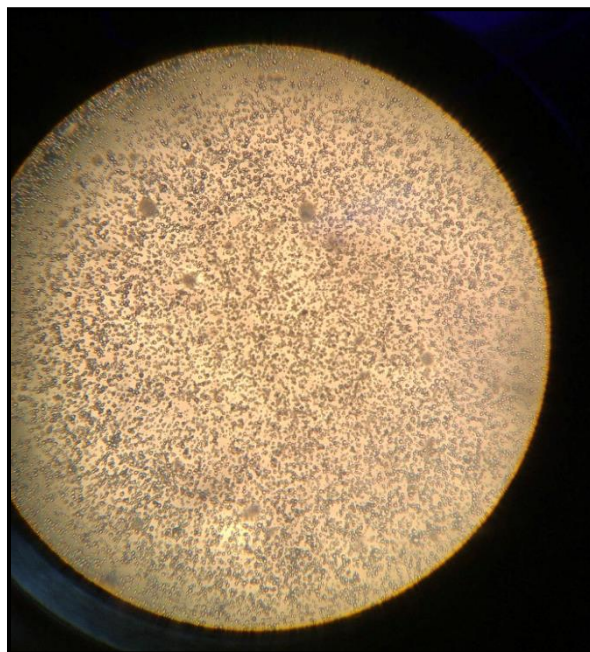


Figure 15 : Examen microscopique des émulgels RL3%, RC3%, RC2% au grossissement 10x40.

3. Etude de la séparation de l'émulgel :

La phase dispersée a tendance à se séparer et à remonter vers le haut de l'émulsion en formant une couche de gouttelettes d'huile. Ce phénomène est appelé crémage. Le crémage est l'un des premiers signes d'instabilité imminente de l'émulsion et doit être pris au sérieux. Une bonne méthode de test pour prédire le crémage est la centrifugation, afin d'accélérer la séparation des phases [66].

Après centrifugation, on remarque que l'aspect des trois échantillons reste le même et ne présente aucun crémage ou séparation des phases (**Figure 16**). Ce résultat confirme que les formulations préparées sont extrêmement stables.



Figure 16 : Aspect de l'émulgel après centrifugation.

II. Etude de l'activité antibactérienne et antifongique :

L'objectif principal de cette étude consiste à démontrer l'efficacité de l'émulgel préparé sur des souches bactériennes et fongiques.

1. Activité antibactérienne :

L'activité antimicrobienne d'ail contre de nombreux agents pathogènes a fait l'objet de plusieurs études récentes. Les résultats obtenus lors de cette étude en utilisant la méthode des disques, ont montré que différentes espèces bactériennes présentaient différents niveaux de

sensibilité aux échantillons d'émulgels préparés à partir des huiles essentielles des deux variétés d'ail, locale et chinoise.

L'effet inhibiteur maximal a été remarqué sur les bactéries gram positives, et plus précisément sur la souche « *Staphylococcus aureus* » qui a été totalement inhibée par les 3 échantillons (RL 3%, RC 3% et RC 2%). Le résultat est présenté dans la **Figure 17**.

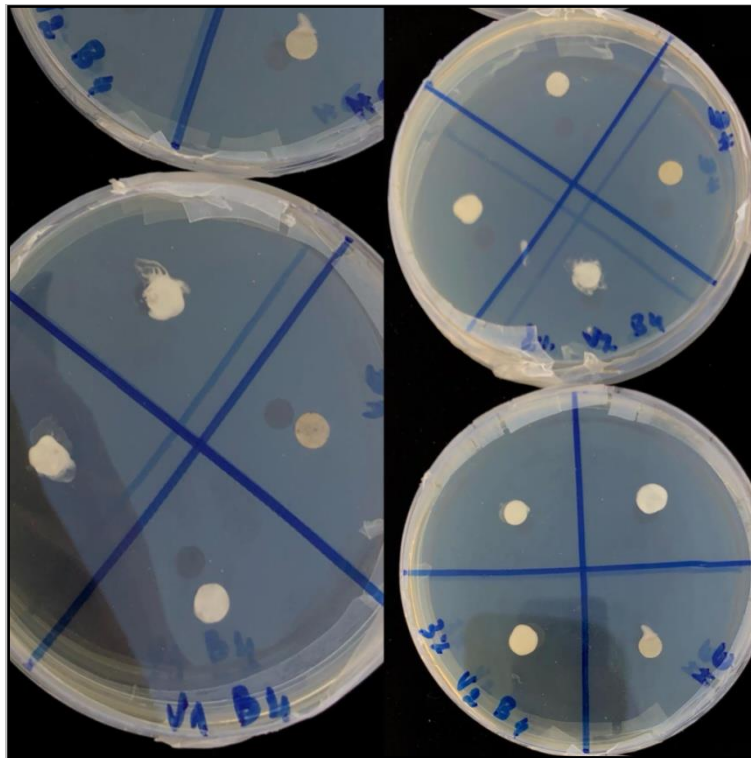


Figure 17 : Effet des 3 échantillons de l'émulgel sur la souche « *staphylococcus aureus* » après 24h.

Ces résultats concordent avec ceux obtenus par Fujisawa *et al* lors d'une étude réalisée sur l'effet antibactérien de l'extrait aqueux d'ail sur *Staphylococcus aureus* dans l'hamburger. Les différentes concentrations (1, 2 et 3 ml) ont été efficaces pour réduire la croissance de *S. aureus* et empêcher la performance de la protéine induisant la synthèse de l'ARN dans cette bactérie [67].

La souche à Gram positif *Bacillus subtilis subsp. spizizenii* a été complètement inhibée par l'échantillon RL à 3%, tout comme la première souche mentionnée. Tandis que, les deux autres échantillons ont favorisé la croissance de la souche, comme le montre la **Figure 18**. Notamment, l'échantillon RC à 3% a présenté un rendement supérieur par rapport à celui de l'échantillon RC à 2%.

Les résultats permettent de conclure que les concentrations de 2% et 3% de la variété chinoise ne sont pas efficaces pour inhiber la croissance de la souche *Bacillus subtilis subsp. spizizenii*.

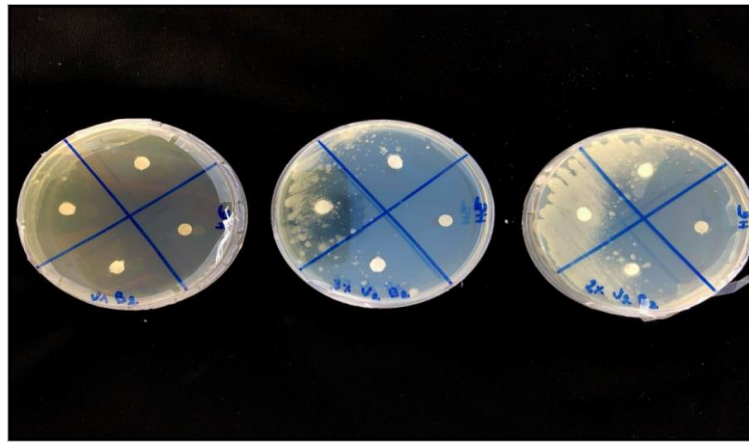


Figure 18 : Effet des 3 échantillons de l'émulgel sur la souche «*Bacillus subtilis subsp.spizizenii* » après 24h.

Une observation supplémentaire révèle que les bactéries Gram négatives sont plus résistantes que les bactéries Gram positives, car la zone d'inhibition observée chez bactéries gram positives est supérieure à celle observée chez les bactéries gram négatives.

L'effet inhibiteur minimal des différents échantillons était observé chez *Pseudomonas aeruginosa*. On remarque l'apparition des halos d'inhibition dans les premières heures, mais après 24h, les bactéries reprennent leur croissance (**Figure 19**).

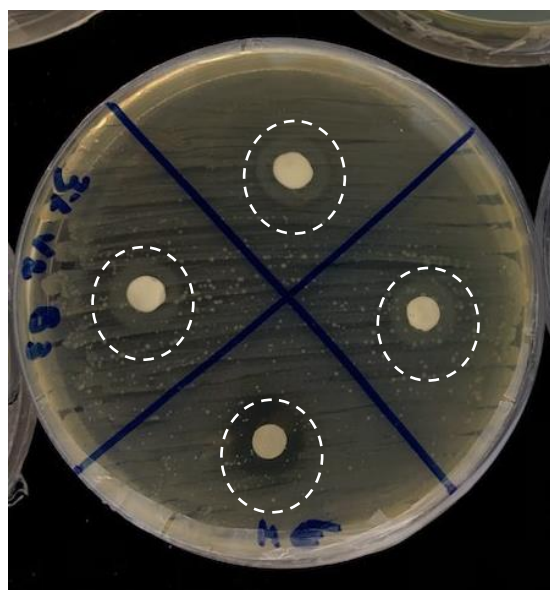


Figure 19 : Effet de l'émulgel sur la souche *Pseudomonas aeruginosa*.

Dans une étude sur l'effet antibactérien de l'*Allium sativum* (ail), Alli Ja1 *et al* ont constaté que les *staphylocoques* (*S. aureus*) étaient très sensibles à l'ail par rapport aux *Pseudomonas aeruginosa* [68].

Cependant, la deuxième souche à gram négatif, *E. coli* était complètement résistante à tous les échantillons d'émulgel. Elle ne présentait aucune sensibilité à ces échantillons (**Figure 20**).

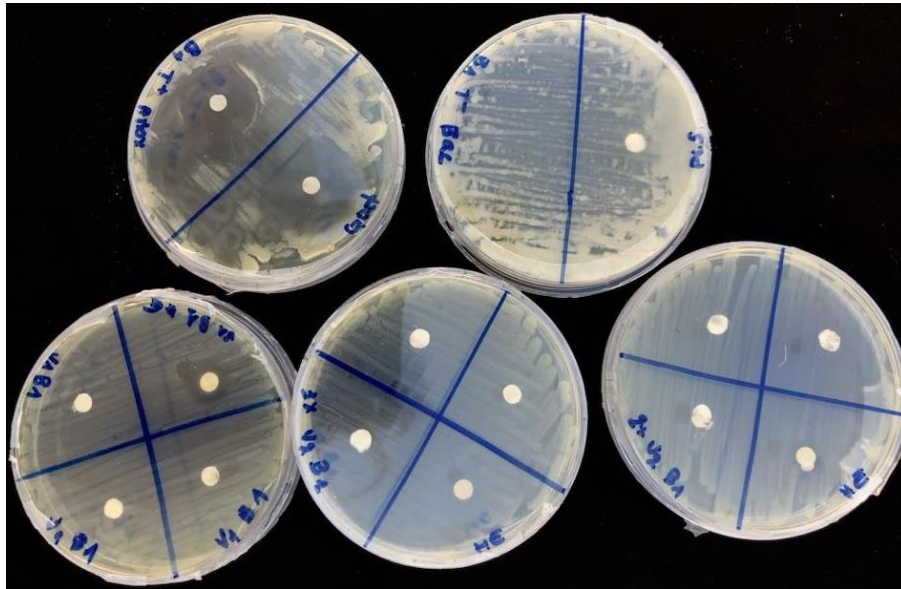


Figure 20 : Effet des différents échantillons de l'émulgel sur *E.coli*.

Ces résultats ne concordent pas entièrement avec l'étude réalisée par Abiy et Berhe. Leur étude a montré que l'ail produisait de larges halos clairs, plus importants que ceux observés avec les antibiotiques utilisés dans leur étude. Ils ont conclu que l'ail pourrait être utilisé comme agent antibactérien très efficace contre *S.aureus* et *E.coli* [69]. Cependant, ils ont également noté que *S. aureus* était plus sensible à l'ail que *E. coli*.

De tels résultats pourraient être liés à la perméabilité naturelle d'*E. coli* et la teneur en lipides membranaires de ces deux bactéries parce que *E. coli* a une teneur en lipides membranaires 10 fois plus élevée que *S. aureus*, ce qui signifie que 20% de la membrane d'*E. coli* est constituée de lipides alors que celle de *S. aureus* n'est composée que de 2% de lipide [69].

En effet, la nature de la paroi cellulaire des bactéries gram négatives peut être responsable de l'obtention de ces résultats. Il a été rapporté dans une autre étude que la paroi cellulaire des bactéries gram-négatives contient 15,0-20,0% de polysaccharides et 10,0-20,0%

de lipides, tandis que les bactéries gram-positives contiennent 35,0-60,0% de polysaccharides et seulement 0,0 à 2,0% de lipides [68].

Ce qui rend l'allicine dans les souches gram négatives incapable d'atteindre l'objectif, car il est piégé dans cette teneur en lipides [67] IN [45]. L'activité antimicrobienne de l'ail dépend totalement du composé allicine, qui est trois fois plus efficace sur les bactéries à Gram positif que sur les bactéries à Gram négatif [69].

Alli Ja1 *et al*, suggèrent dans leur étude que le mécanisme d'action de l'allicine est représenté par l'inhibition totale de la synthèse de l'ARN et l'inhibition partielle de la synthèse de l'ADN et des protéines, car l'ARN est la cible principale de l'allicine [68].

Afin de comparer l'effet antibactérien entre les trois échantillons de l'émulgel et l'huile essentielle. Nous avons effectué une analyse statistique. Les résultats de cette analyse sont représentés dans le **Tableau 9** et **10**, ainsi que la **Figure 21**.

	<i>Emulgel RL</i> 3%	<i>Emulgel RC</i> 3%	<i>Emulgel RC</i> 2%	<i>Huile</i> <i>essentielle</i> <i>RL</i>	<i>Huile</i> <i>essentielle</i> <i>RC</i>
Escherichia coli	6mm ± 0,00	6mm ± 0,00	6mm ± 0,00	12mm ± 0,00	10mm ± 2,00
Bacillus subtilis	40mm ± 0,00	8mm ± 1,00	6.3mm ± 0.6	40mm ± 0,00	40mm ± 0,00
Pseudomonas aeruginosa	11mm ± 1,00	11.7mm ± 0.6	11.3mm ± 0.6	14mm ± 0,00	15.5mm ± 1.5
Staphylococcus aureus	40mm ± 0,00	40mm ± 0,00	40mm ± 0,00	40mm ± 0,00	40mm ± 0,00

Tableau 9 : Les taux d'inhibition des trois échantillons et des deux huiles essentielles sur quatre souches bactériennes.

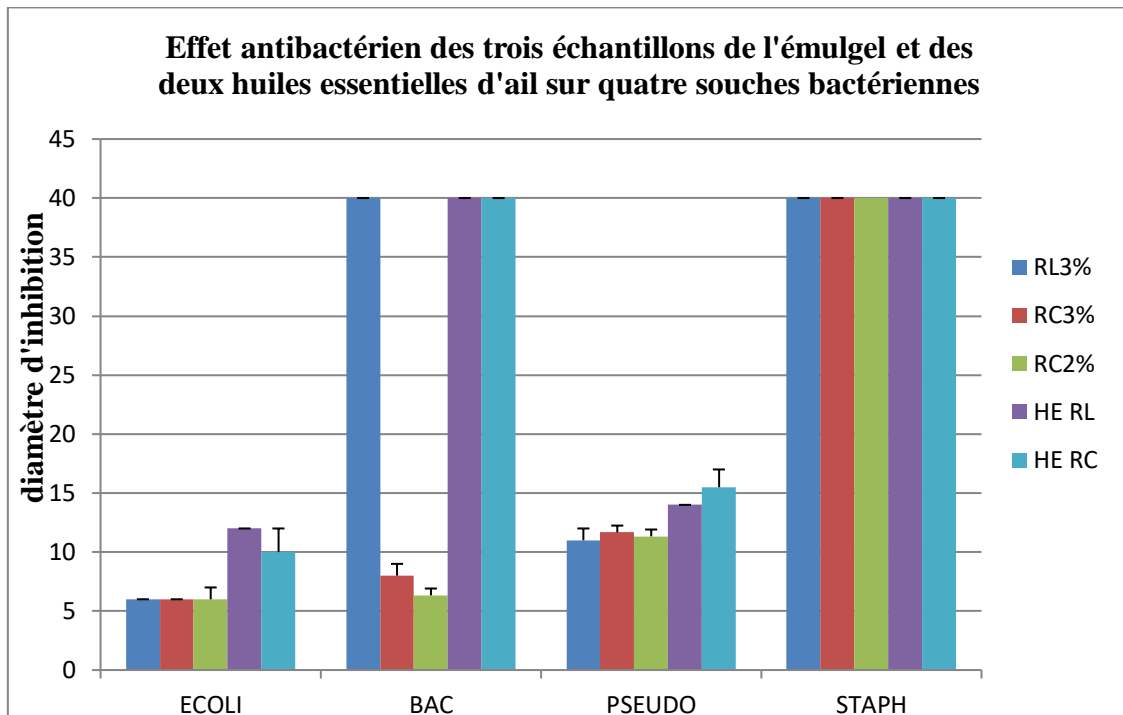


Figure 21 : Représentation graphique de l'effet antibactérien des trois échantillons de l'émulgel et des deux huiles essentielles d'ail sur quatre souches bactériennes.

En observant le diagramme présenté ci-dessus, nous constatons que la zone d'inhibition des bactéries est plus étendue lors de l'utilisation des deux huiles essentielles, RL et RC, par rapport aux émulgels RL 3%, RC 3% et RC 2%. Cela est dû à la concentration des huiles essentielles, qui est plus élevée à celle des émulgels.

De plus, lorsque nous comparons les résultats des trois émulgels, nous remarquons que l'émulgel RL 3% affiche un rendement supérieur à celui des deux autres émulgels. Ces résultats correspondent à ceux obtenus l'année précédente avec R. Nesrine et B. Abir, qui montrent que l'huile essentielle de la variété RL est plus efficace par rapport à celui de RC [6].

A. Les résultats des témoins :

L'antibiotique Gentamicine a provoqué une inhibition significative chez les trois bactéries, à savoir *E. coli*, *Bacillus subtilis* et *Pseudomonas aeruginosa*, par rapport à l'Amoxicilline. En revanche, *Staphylococcus aureus* s'est révélé plus sensible à l'Amoxicilline qu'à la Gentamicine.

Il est également observé que l'émulgel RL 3% présente un effet antibactérien plus prononcé sur les bactéries gram-positives que les antibiotiques utilisés.

Les résultats des témoins sont représentés sur le **Tableau 10**.

	Amoxicilline	Gentamicine	Placebo	Bactéries
<i>Escherichia coli</i>	25mm	30mm	6mm	Croissance
<i>Bacillus subtilis</i>	33mm	35mm	6mm	Croissance
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	12mm	34mm	6mm	Croissance
<i>Staphylococcus aureus</i>	40mm	16mm	6mm	Croissance

Tableau 10 : Les résultats des témoins positifs (deux antibiotiques) et des témoins négatifs.

2. Activité antifongique :

Les résultats de cette étude révèlent un effet extrêmement puissant de l'ail sur *Aspergillus niger*, qui a été entièrement inhibé par les trois échantillons d'émulgel (**Figure 22 et 23**). De plus, on observe après 24h, que le taux d'inhibition en présence d'émulgel était de 76.67% à 83.33%.

En ce qui concerne les résultats des huiles essentielles et des témoins positifs, il a été observé que les huiles essentielles ainsi que les deux antimycosiques utilisés (Terbinafine et Econazol) ont complètement inhibé *Aspergillus niger*. Par conséquent, nous pouvons conclure que l'émulgel présente un effet antifongique similaire à celui des antimycosiques.

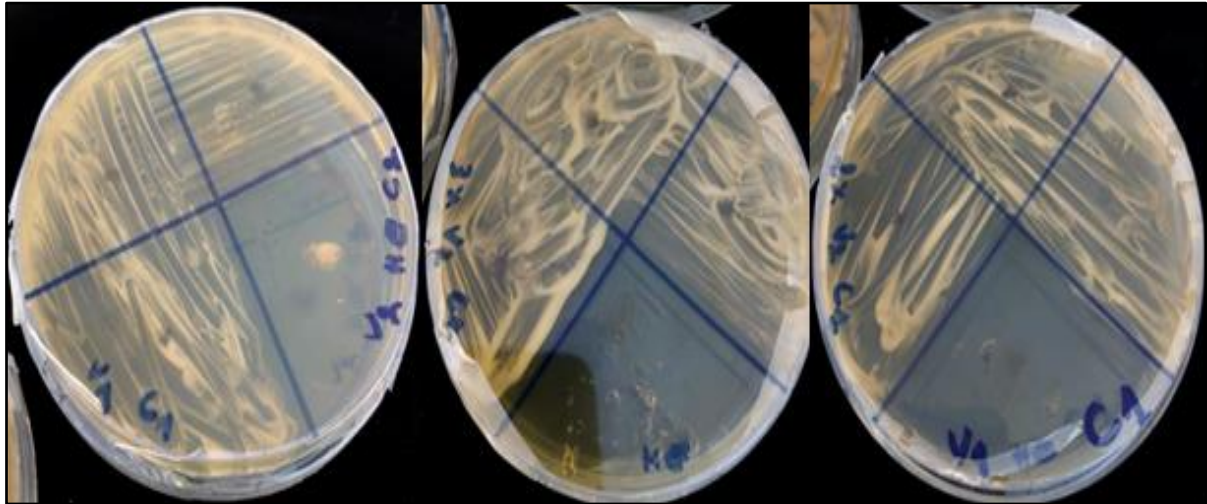


Figure 22 : Effet des 3 échantillons d'émulgel sur *Aspergillus niger*.

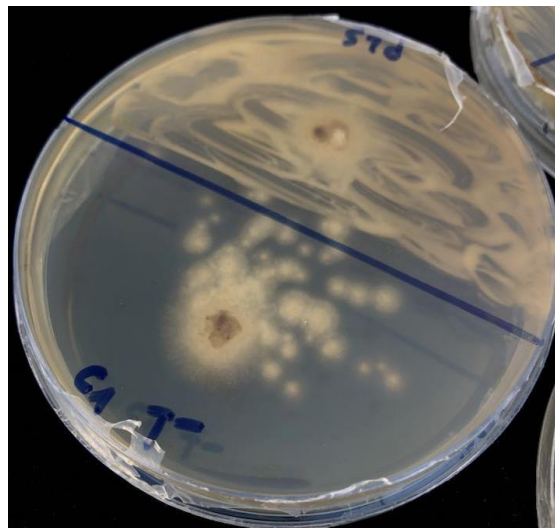


Figure 23 : Résultat du témoin négatif d'*Aspergillus niger*.

Dans son étude sur l'activité antifongique potentielle des gousses d'ail fraîches (*Allium sativum L.*), Emad Abdallah a trouvé que le jus d'ail était extrêmement efficace contre *Aspergillus niger*, surpassant largement le médicament antifongique commercial (Clotrimazole) [70].

Une étude supplémentaire a démontré l'efficacité de l'extrait d'éthanol d'ail dans l'inhibition de la croissance de trois isolats fongiques liés aux moisissures présentes dans les céréales alimentaires, à savoir *Aspergillus niger*, *Aspergillus ustus* et *Penicillium sp.* Ce qui correspond parfaitement avec nos résultats [71].

Dans leur article, Aala *et al.* ont observé que l'hyphe traitée avec de l'allicine présente une désintégration du cytoplasme, se décompose au niveau de la membrane cellulaire et de la paroi cellulaire, ce qui entraîne l'effondrement de l'hyphe [72]. Ce qui explique l'inhibition d'*Aspergillus* dans notre étude.

Toutefois, les résultats de l'étude d'Emad Abdallah ont démontré que le jus d'ail inhibait la croissance de *Candida albicans*, ce qui est en contradiction avec nos propres résultats, car aucun émulsion n'a eu d'influence sur la croissance de cette souche. Cependant, il a également été constaté que la zone d'inhibition pour *Aspergillus* était plus grande que celle observée pour *Candida* [70]. Plusieurs hypothèses peuvent expliquer pourquoi l'émulsion d'ail a un effet plus important sur *Aspergillus* que sur *Candida*. Tout d'abord, les espèces de champignons peuvent avoir des sensibilités différentes aux composés actifs de l'ail.

De plus, les mécanismes d'action des composés peuvent varier entre les deux espèces. En outre, la composition de l'émulsion d'ail, telle que la concentration en composés actifs et la formulation, peut favoriser son activité contre *Aspergillus*. Ces différences dans la sensibilité et la réponse aux composés actifs, ainsi que les variations dans la formulation de l'émulsion, peuvent contribuer à l'effet différencié observé entre *Aspergillus* et *Candida*. Cependant, des études supplémentaires sont nécessaires pour confirmer ces hypothèses et comprendre plus en détail les mécanismes sous-jacents.

Les résultats des témoins positifs ont révélés que les deux antimycosiques présentent un effet antifongique supérieur à celui de l'émulsion préparé.

Les taux d'inhibition des différents échantillons ainsi les résultats des témoins positifs sont représentés dans les **Tableau 13** et **14** ainsi que la **Figure 24**.

<i>Souches</i>	<i>RL3%</i>	<i>RC2%</i>	<i>RC3%</i>	<i>HE RL</i>	<i>HE RC</i>
<i>ASP</i>	83.3% ± 5.8	76.7% ± 5.8	76.7% ± 5.8	75% ± 5	46.7% ± 5.8
<i>Candida</i>	75.8% ± 5.25	42.4% ± 21	48.5% ± 34.4	40.9% ± 4.5	48.5% ± 5.25

Tableau 11 : Les taux d'inhibition des trois échantillons et des deux huiles essentielles sur les deux souches fongiques.

Souches Terbinafine Econazol placebo Champignons

ASP	80%	80%	10%	0%
Candida	72.7%	81.8%	9%	0%

Tableau 12 : Les taux d’inhibition des témoins positifs et négatifs sur les deux souches fongiques.

Malgré une concentration plus faible dans l’émulgel (3% et 2%), les deux huiles essentielles, qui sont concentrés a 100% ont donné un rendement inférieur. On peut suggérer que la quantité d’huile essentielle utilisée n’était pas suffisante en raison de la méthode de diffusion sur gélose (méthode de puits) employée lors de l’étude de l’activité antifongique.

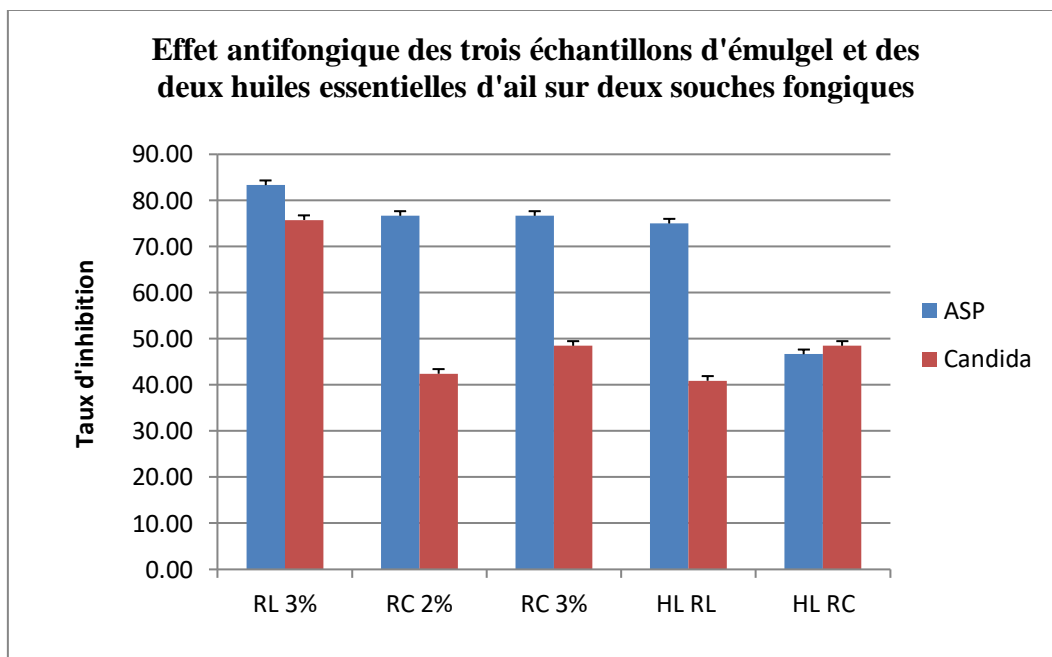


Figure 24 : Représentation graphique de l’effet antifongique des trois échantillons d’émulgel et des deux huiles essentielles d’ail sur deux souches fongiques.

III. Etude de stabilité :

Les résultats de l’étude de stabilité indiquent l’absence de toute odeur détectable dans les formulations, indépendamment de la température. De plus une excellente homogénéité a été observée dans toutes les formulations, sans aucun signe de séparation de phases. De plus,

aucune granularité n'a été constatée dans les formulations, quel que soit le niveau de température. Les détails de ces observations sont récapitulés dans le **Tableau 15**.

	RL 3%		RC 3%		RC 2%	
	30°C	40°C	30°C	40°C	30°C	40°C
Aspect	Crémeux et homogène	Crémeux et homogène	Crémeux et homogène	Crémeux et homogène	Crémeux et homogène	Crémeux et homogène
Couleur	Blanchâtre	Jaunâtre	Blanchâtre	Jaunâtre	Blanchâtre	Jaunâtre
Séparation de phases	Aucune	Aucune	Aucune	Aucune	Aucune	Aucune
pH	7.01	6.95	6.95	6.86	6.92	6.87

Tableau 13 : Apparence physique des échantillons après 1 mois de stabilité dans 30°C et 40°C.

En outre, les résultats du test de pH n'ont révélé aucune différence significative, ce qui indique la stabilité de l'émulgel. Les résultats de la centrifugation et de l'observation au microscope confirment également l'absence de toute séparation des phases dans l'émulgel. Les résultats de centrifugation et de l'observation microscopique sont présentés dans les **Figures 25** et **26**.



Figure 25 : Résultats de centrifugation après stabilité.

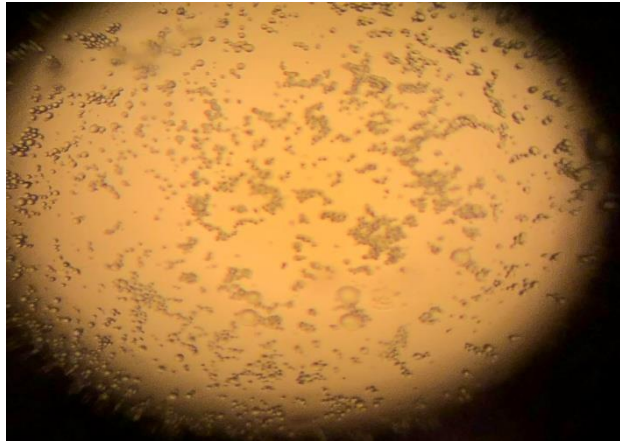


Figure 26 : Résultat de l'observation microscopique après stabilité.

Cependant, un changement de couleur a été constaté dans les émulsions conservées dans les boîtes de stabilité à 40°C. Ces observations suggèrent l'occurrence d'une réaction enzymatique de type Maillard de l'alliine. Cette réaction est connue pour être influencée par la température et peut se produire entre des groupes aminés libres d'acides aminés, de peptides ou de protéines, et des groupes carbonyles de sucres réducteurs [73].

Les résultats de l'activité antifongique après la période de stabilité indiquent que l'émulsion reste efficace contre la souche d'*Aspergillus*. Cependant, en ce qui concerne l'activité antibactérienne, les résultats précis n'ont pu être déterminés. Plusieurs hypothèses ont été avancées pour expliquer la disparité d'activité entre l'effet antibactérien et antifongique d'un émulsion. Une première hypothèse suggère que des interactions spécifiques entre les composants de l'émulsion et les parois cellulaires pourraient entraîner une inhibition sélective de la croissance des bactéries plutôt que des champignons après la période de stabilité. Une autre hypothèse est que les bactéries et les champignons peuvent avoir des sensibilités différentes aux ingrédients actifs présents dans l'émulsion, qui après la stabilité ont subi une altération, perdant ainsi leur efficacité. Ce qui pourrait expliquer la différence d'efficacité. Cependant, il est important de souligner que ces hypothèses nécessitent une étude plus approfondie pour être confirmées.

*Conclusion et
perspectives*

L'objectif principal de cette étude était de poursuivre le travail des recherches scientifiques précédentes en produisant un émulsion contenant les huiles essentielles de deux variétés d'ail (variété Rouge Locale et Rouge Chinoise), qui présente des propriétés antibactériennes et antifongiques.

Les principales conclusions de cette étude mettent en évidence les éléments suivants :

Les échantillons d'émulsion préparés ont démontré différents niveaux de sensibilité vis-à-vis des quatre espèces bactériennes testées (*Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus*). Les bactéries gram positives ont montré une sensibilité plus élevée par rapport aux bactéries gram négatives. Cette sensibilité pourrait être liée à la nature de la paroi cellulaire des bactéries gram négatives, qui possède une membrane riche en lipides. Cette composition lipidique rend l'allicine moins capable d'atteindre sa cible principale, qui est principalement l'ARN, tout en inhibant également l'ADN et les protéines.

En outre, une comparaison des résultats des trois émulsion révèle que l'émulsion RL 3% présente un taux d'inhibition supérieur à celui des deux autres émulsion. Cette observation s'explique par l'efficacité accrue de l'huile essentielle de la variété Rouge Locale par rapport à celle de la variété Rouge Chinoise.

L'émulsion présente également une activité antifongique extrêmement puissante contre l'*Aspergillus*. Cette efficacité est attribuée à l'action de l'allicine sur les hyphes, provoquant une désintégration du cytoplasme, la décomposition de la membrane cellulaire et de la paroi cellulaire, conduisant ainsi à l'effondrement de l'hyphes.

Néanmoins, les résultats ont révélé que l'émulsion n'est pas efficace contre *E. coli* et *Candida albicans*, en contradiction avec plusieurs études antérieures. Cette observation peut être attribuée à une forte résistance au principe actif contenu dans le gel, en raison de la concentration d'huile essentielle présente dans l'émulsion, cela suggère qu'une augmentation du pourcentage d'huile essentielle d'ail pourrait être nécessaire pour rendre l'émulsion efficace contre *e coli* et *candida*. Par conséquent, il est nécessaire d'augmenter le pourcentage de l'huile essentielle d'ail dans l'émulsion.

L'étude de stabilité réalisée sur l'émulsion a démontré son exceptionnelle stabilité dans les deux conditions (normale et accélérée).

Compte tenu du fait que l'ail est un produit naturel avec des effets secondaires minimes, facilement accessible et économique par rapport aux autres principes actifs, l'émulgel à base d'huiles essentielles d'ail se présente comme un choix préférentiel en tant qu'agent antibactérien et antifongique naturel prometteur.

À l'avenir, notre objectif est de confirmer les résultats de l'activité antibactérienne de l'émulgel après la période de stabilité en utilisant une densité bactérienne adéquate.

D'autres pistes de recherche envisageables :

1. Étude de l'activité sur une plus large gamme de souches bactériennes et fongiques : Il serait intéressant d'élargir l'éventail des micro-organismes testés pour évaluer l'efficacité de l'émulgel sur différentes souches bactériennes et fongiques, y compris celles résistantes aux antibiotiques.
2. Évaluation des mécanismes d'action : Il serait pertinent de comprendre les mécanismes d'action de l'émulgel à l'ail sur les bactéries et les champignons. Des études plus approfondies pourraient être menées pour déterminer si l'émulgel agit par altération de la paroi cellulaire, inhibition des enzymes clés ou interférence avec les processus métaboliques des micro-organismes ciblés.
3. Optimisation de la formulation : Des recherches supplémentaires pourraient viser à optimiser la formulation de l'émulgel en ajustant la concentration des ingrédients actifs, tels que les huiles essentielles d'ail, pour améliorer son efficacité antimicrobienne tout en minimisant les effets indésirables sur la peau.
4. Étude de la cytotoxicité et de la sécurité : Il serait important d'évaluer la cytotoxicité et la sécurité de l'émulgel sur les cellules humaines, notamment les cellules de la peau, pour s'assurer de son innocuité et de son potentiel d'utilisation topique.
5. Étude de la persistance de l'effet antimicrobien : Il serait intéressant de déterminer la durée de l'effet antimicrobien de l'émulgel après son application sur la peau, afin de mieux comprendre son potentiel en termes de prévention des infections bactériennes et fongiques.

En conclusion, les perspectives de recherche sur l'effet antibactérien et antifongique de l'émulgel à l'ail incluent l'étude de différentes souches microbiennes, l'exploration des

mécanismes d'action, l'optimisation de la formulation, l'évaluation de la sécurité et de la cytotoxicité, ainsi que l'étude de la persistance de l'effet antimicrobien. Ces recherches permettront de mieux comprendre l'utilisation potentielle de l'émulgel à l'ail dans le domaine de la dermatologie et de la lutte contre les infections cutanées. Permettront de mieux comprendre l'utilisation potentielle de l'émulgel à l'ail dans le domaine de la dermatologie et de la lutte contre les infections cutanées.

*Références
bibliographiques*

Références bibliographiques :

- [1] N. Sethi, S. Kaura, N. Dilbaghi, M. Parle, et M. Pal, « GARLIC: A PUNGENT WONDER FROM NATURE », *Int. Res. J. Pharm.*, vol. 5, p. 523-529, août 2014, doi: 10.7897/2230-8407.0507106.
- [2] A. Magryś, A. Olender, et D. Tchorzewska, « Antibacterial properties of *Allium sativum* L. against the most emerging multidrug-resistant bacteria and its synergy with antibiotics », *Arch. Microbiol.*, vol. 203, n° 5, p. 2257-2268, juill. 2021, doi: 10.1007/s00203-021-02248-z.
- [3] S. Ourouadi, H. Moumene, N. Zaki, B. Abdelali, A. Ouatmane, et A. Hasib, « Garlic (*Allium Sativum*): A Source of Multiple Nutraceutical and Functional Components (Review) », *J. Chem. Biol. Phys. Sci.*, vol. 7, p. 009-021, nov. 2016.
- [4] T. Verma *et al.*, « Medicinal and therapeutic properties of garlic, garlic essential oil, and garlic-based snack food: An updated review », *Front. Nutr.*, vol. 10, p. 1120377, févr. 2023, doi: 10.3389/fnut.2023.1120377.
- [5] B. A. Khan *et al.*, « Fabrication and Characterizations of Pharmaceutical Emulgel Co-Loaded with Naproxen-Eugenol for Improved Analgesic and Anti-Inflammatory Effects », *Gels*, vol. 8, n° 10, p. 608, sept. 2022, doi: 10.3390/gels8100608.
- [6] N. REHAB et A. H. A. BEDJAOU, « 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. », Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master, Frères Mentouri Constantine 1, Constantine, ALGERIE, 2022.
- [7] M. F. Balandrin, J. A. Klocke, E. S. Wurtele, et Wm. H. Bollinger, « Natural Plant Chemicals: Sources of Industrial and Medicinal Materials », *Science*, vol. 228, n° 4704, p. 1154-1160, juin 1985, doi: 10.1126/science.3890182.
- [8] A. K. Verma, M. Kumar, et R. W. Bussmann, « Medicinal plants in an urban environment: the medicinal flora of Banares Hindu University, Varanasi, Uttar Pradesh », *J. Ethnobiol. Ethnomedicine*, vol. 3, p. 35, nov. 2007, doi: 10.1186/1746-4269-3-35.
- [9] The Herb Society of America, « Garlic Guide.pdf - Garlic An Herb Society of America Guide The Herb Society of America 9019 Kirtland Chardon Rd. Kirtland Ohio 44094 ©2004 2006 The | Course Hero ». <https://www.coursehero.com/file/128431663/Garlic-Guidepdf/> (consulté le 22 mai 2023).

Références bibliographiques

- [10] A. K. Apawu, « Reversed-Phase HPLC Determination of Alliin in Diverse Varieties of Fresh Garlic and Commercial Garlic Products. », *Electronic Theses and Dissertations.*, East Tennessee State University, 2009.
- [11] E. BACAR et H. MESKINE, « Contribution À L'étude De L'activité Antibactérienne De L'ail (*Allium Sativum* L) », *Mémoire de Master, UNIVERSITE 8 MAI 1945, GUELMA*, 2014. Consulté le: 15 juin 2023. [En ligne]. Disponible sur: <https://www.theses-algerie.com/2115757575957998/memoire-de-master/universite-8-mai-1945---guelma/contribution-%C3%A0-l-%C3%A9tude-de-l-activit%C3%A9-antibact%C3%A9rienne-de-l-ail-allium-sativum-l->
- [12] K. C. Agarwal, « Therapeutic actions of garlic constituents », *Med. Res. Rev.*, vol. 16, n° 1, p. 111-124, janv. 1996, doi: 10.1002/(SICI)1098-1128(199601)16:1<111::AID-MED4>3.0.CO;2-5.
- [13] Institut français pour la nutrition, Centre informatique sur la qualité des aliments, et Centre national d'études vétérinaires et alimentaires, Éd., *Répertoire général des aliments: table de composition composition tables*, 2ème ed. rev. et Augm. Paris [Maisons Alfort]: INRA Technique & documentation-Lavoisier CNEVA, 1995.
- [14] H. Scherz, S. W. Souci, Deutschland, et Deutsche Forschungsanstalt für Lebensmittelchemie, Éd., *Food composition and nutrition tables: = Die Zusammensetzung der Lebensmittel, Nährwert-Tabellen*, 5., rev. Completed ed. Stuttgart: Medpharm Scientific Publ. [u.a.], 1994.
- [15] H. MEDJOU DJ, « ETUDE DU COMPORTEMENT AU SECHAGE DE SIX LEGUMES : CAROTTE, COURGETTE, CARDON, POMME DE TERRE, AIL ET OIGNON », *Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de Magister en Sciences Alimentaires, Université des frères Mentouri, Constantine, ALGERIE*, 2017. Consulté le: 8 mai 2023. [En ligne]. Disponible sur: <https://www.theses-algerie.com/1786109393538251/memoire-de-magister/universite-freres-mentouri-constantine-1/carotte-courgette-cardon-pomme-de-terre-ail-et-oignon>
- [16] H. Horie et K.-I. Yamashita, « Non-derivatized analysis of methiin and alliin in vegetables by capillary electrophoresis », *J. Chromatogr. A*, vol. 1132, n° 1-2, p. 337-339, nov. 2006, doi: 10.1016/j.chroma.2006.09.018.
- [17] P. Rose, M. Whiteman, P. K. Moore, et Y. Z. Zhu, « Bioactive S-alk(en)yl cysteine sulfoxide metabolites in the genus *Allium*: the chemistry of potential therapeutic agents », *Nat. Prod. Rep.*, vol. 22, n° 3, p. 351-368, juin 2005, doi: 10.1039/b417639c.

Références bibliographiques

- [18] L. J. W. Shimon *et al.*, « Two structures of alliinase from *Allium sativum* L.: apo form and ternary complex with aminoacrylate reaction intermediate covalently bound to the PLP cofactor », *J. Mol. Biol.*, vol. 366, n° 2, p. 611-625, févr. 2007, doi: 10.1016/j.jmb.2006.11.041.
- [19] T. Miron, A. Rabinkov, D. Mirelman, L. Weiner, et M. Wilchek, « A spectrophotometric assay for allicin and alliinase (Alliin lyase) activity: reaction of 2-nitro-5-thiobenzoate with thiosulfinates », *Anal. Biochem.*, vol. 265, n° 2, p. 317-325, déc. 1998, doi: 10.1006/abio.1998.2924.
- [20] T. Miron, T. Bercovici, A. Rabinkov, M. Wilchek, et D. Mirelman, « [3H]Allicin: preparation and applications », *Anal. Biochem.*, vol. 331, n° 2, p. 364-369, août 2004, doi: 10.1016/j.ab.2004.03.054.
- [21] T. Miron *et al.*, « A spectrophotometric assay for allicin, alliin, and alliinase (alliin lyase) with a chromogenic thiol: reaction of 4-mercaptopyridine with thiosulfinates », *Anal. Biochem.*, vol. 307, n° 1, p. 76-83, août 2002, doi: 10.1016/s0003-2697(02)00010-6.
- [22] B. Dethier, K. Nott, et M. L. Fauconnier, « (Bio)synthesis, extraction and purification of garlic derivatives showing therapeutic properties », *Commun. Agric. Appl. Biol. Sci.*, vol. 78, n° 1, p. 149-155, 2013.
- [23] A. Plata-Rueda *et al.*, « Insecticidal activity of garlic essential oil and their constituents against the mealworm beetle, *Tenebrio molitor* Linnaeus (Coleoptera: Tenebrionidae) », *Sci. Rep.*, vol. 7, n° 1, p. 46406, avr. 2017, doi: 10.1038/srep46406.
- [24] B. M. Nadjib et F. Amine, « MÉTHODES D'EXTRACTION ET DE DISTILLATION DES HUILES ESSENTIELLES : REVUE DE LITTÉRATURE », 2019.
- [25] L. Y. Chung, « The antioxidant properties of garlic compounds: allyl cysteine, alliin, allicin, and allyl disulfide », *J. Med. Food*, vol. 9, n° 2, p. 205-213, 2006, doi: 10.1089/jmf.2006.9.205.
- [26] D. Y. Lee, H. Li, H. J. Lim, H. J. Lee, R. Jeon, et J.-H. Ryu, « Anti-inflammatory activity of sulfur-containing compounds from garlic », *J. Med. Food*, vol. 15, n° 11, p. 992-999, nov. 2012, doi: 10.1089/jmf.2012.2275.
- [27] J. Kleijnen, P. Knipschild, et G. Riet, « Garlic, onions and cardiovascular risk factors. A review of the evidence from human experiments with emphasis on commercially available preparations [see comments] », *Br. J. Clin. Pharmacol.*, vol. 28, n° 5, p. 535-544, nov. 1989, doi: 10.1111/j.1365-2125.1989.tb03539.x.

Références bibliographiques

- [28] H. Sumiyoshi et M. J. Wargovich, « Garlic (*Allium sativum*): A review of its relationship to cancer », *Asia Pac. J. Pharmacol.*, vol. 4, n° 2, p. 133-140, janv. 1989.
- [29] G. Hodge, S. Hodge, et P. Han, « *Allium sativum* (garlic) suppresses leukocyte inflammatory cytokine production in vitro: potential therapeutic use in the treatment of inflammatory bowel disease », *Cytometry*, vol. 48, n° 4, p. 209-215, août 2002, doi: 10.1002/cyto.10133.
- [30] P. Goetz et K. Ghedira, *Phytothérapie anti-infectieuse*. in *Phytothérapie pratique*. Paris Berlin Heidelberg [etc.]: Springer, 2012.
- [31] K. T. Augusti et C. G. Sheela, « Antiperoxide effect of S-allyl cysteine sulfoxide, an insulin secretagogue, in diabetic rats », *Experientia*, vol. 52, n° 2, p. 115-120, févr. 1996, doi: 10.1007/BF01923354.
- [32] G. J. Tortora, B. R. Funke, et C. L. Case, *Microbiology: an introduction*, Twelfth edition. Boston: Pearson, 2016.
- [33] T. P. Habif, *Clinical dermatology: a color guide to diagnosis and therapy*, 6. ed. S.l.: Elsevier, 2016.
- [34] N. Høiby, « A short history of microbial biofilms and biofilm infections », *APMIS Acta Pathol. Microbiol. Immunol. Scand.*, vol. 125, n° 4, p. 272-275, avr. 2017, doi: 10.1111/apm.12686.
- [35] H. Matsuura, T. Ushiroguchi, Y. Itakura, N. Hayashi, et T. Fuwa, « A furostanol glycoside from garlic, bulbs of *Allium sativum* L. », *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)*, vol. 36, n° 9, p. 3659-3663, 1988, doi: 10.1248/cpb.36.3659.
- [36] L. Lihua, W. Jianhuit, Y. Jialini, L. Yayin, et L. Guanxin, « Effects of allicin on the formation of *Pseudomonas aeruginosa* biofilm and the production of quorum-sensing controlled virulence factors », *Pol. J. Microbiol.*, vol. 62, n° 3, p. 243-251, 2013.
- [37] M. Ranjbar-Omid, M. Arzanlou, M. Amani, S. K. Shokri Al-Hashem, N. Amir Mozafari, et H. Peeri Doghaheh, « Allicin from garlic inhibits the biofilm formation and urease activity of *Proteus mirabilis* in vitro », *FEMS Microbiol. Lett.*, vol. 362, n° 9, p. fnv049, mai 2015, doi: 10.1093/femsle/fnv049.
- [38] K. S. Farbman, E. D. Barnett, G. R. Bolduc, et J. O. Klein, « Antibacterial activity of garlic and onions », *Pediatr. Infect. Dis. J.*, vol. 12, n° 7, p. 613-614, juill. 1993, doi: 10.1097/00006454-199307000-00013.
- [39] C. Ghesquiere, « Les bienfaits de l'ail dans les maladies cardiovasculaires », Thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie, UNIVERSITE DE PICARDIE JULES

Références bibliographiques

- VERNE, France, 2016. Consulté le: 8 mai 2023. [En ligne]. Disponible sur: <https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01443858>
- [40] C. J. Alexopoulos, C. W. Mims, et M. Blackwell, *Introductory mycology*, 4th ed. New York: Wiley, 1996.
- [41] Z. Jaulim, N. Salmon, et C. Fuller, « Fungal skin infections: current approaches to management: Fungal skin infections », *Prescriber*, vol. 26, n° 19, p. 31-35, oct. 2015, doi: 10.1002/psb.1394.
- [42] O. Doumeix, *Opérations unitaires en génie biologique*. in Collection biologie technique. Bordeaux: SCÉRÉN-CNDP-CRDP [Aquitaine], 2011.
- [43] S. K. Yadav, M. K. Mishra, A. Tiwari, et A. Shukla, « EMULGEL: A NEW APPROACH FOR ENHANCED TOPICAL DRUG DELIVERY », *Int. J. Curr. Pharm. Res.*, vol. 9, n° 1, p. 15, déc. 2016, doi: 10.22159/ijcpr.2017v9i1.16628.
- [44] M. T. Madigan, *Brock biology of microorganisms*, Fourteenth edition. Boston: Pearson, 2015.
- [45] A. S. Mozaffari Nejad, S. Shabani, M. Bayat, et S. Ebrahim Hosseini, « Antibacterial Effect of Garlic Aqueous Extract on Staphylococcus aureus in Hamburger », *Jundishapur J. Microbiol.*, vol. 7, n° 9, sept. 2014, doi: 10.5812/jjm.13134.
- [46] F. D. Lowy, « Staphylococcus aureus infections », *N. Engl. J. Med.*, vol. 339, n° 8, p. 520-532, août 1998, doi: 10.1056/NEJM199808203390806.
- [47] G. Marazza, L. Borradori, et S. Harbarth, « Infections cutanées sévères à Staphylococcus aureus producteur de leucocidine de Panton-Valentine : un nouveau défi », *Rev Med Suisse*, vol. 109, p. 1106-1111, mai 2007.
- [48] P. E. Granum et T. Lund, « Bacillus cereus and its food poisoning toxins », *FEMS Microbiol. Lett.*, vol. 157, n° 2, p. 223-228, janv. 2006, doi: 10.1111/j.1574-6968.1997.tb12776.x.
- [49] Environmental Protection Agency, « ATTACHMENT I--FINAL RISK ASSESSMENT OF BACILLUS SUBTILIS », 1997.
- [50] G. Berhanu et M. Pal, « Enterohemorrhagic Escherichia coli Book Chapter », 2021.
- [51] C. Gallois, C. Hauw-Berlemont, C. Richaud, S. Bonacorsi, J.-L. Diehl, et J.-L. Mainardi, « Fatal necrotizing fasciitis due to necrotic toxin-producing Escherichia coli strain », *New Microbes New Infect.*, vol. 8, p. 109-112, nov. 2015, doi: 10.1016/j.nmni.2015.06.003.

Références bibliographiques

- [52] S. Sunder *et al.*, « Life-threatening Escherichia coli cellulitis in patients with haematological malignancies », *J. Med. Microbiol.*, vol. 61, n° 9, p. 1324-1327, sept. 2012, doi: 10.1099/jmm.0.042366-0.
- [53] A. M. Hammond, K. G. Satcher, N. R. Bender, J. J. Schoch, et K. Motaparthy, « Necrotizing Escherichia coli skin and soft tissue infection with malakoplakia-like features mimicking pyoderma gangrenosum », *JAAD Case Rep.*, vol. 12, p. 1-4, juin 2021, doi: 10.1016/j.jdcr.2021.03.047.
- [54] M. G. Wilson et S. Pandey, « Pseudomonas Aeruginosa », in *StatPearls [Internet]*, StatPearls Publishing, 2022. Consulté le: 12 mai 2023. [En ligne]. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK557831/>
- [55] B. A. Pruitt, « Infections Caused by Pseudomonas Species in Patients with Burns and in Other Surgical Patients », *J. Infect. Dis.*, vol. 130, n° Supplement, p. S8-S13, nov. 1974, doi: 10.1093/infdis/130.Supplement.S8.
- [56] M. Starace, A. Alessandrini, N. Brandi, et B. M. Piraccini, « Use of nail dermoscopy in the management of melonychia: Review », *Dermatol. Pract. Concept.*, p. 38-43, janv. 2019, doi: 10.5826/dpc.0901a10.
- [57] M. A. Lima, M. D. C. De Oliveira, A. Pimenta, et P. Uchôa, « Aspergillus niger: A Hundred Years of Contribution to the Natural Products Chemistry », *J. Braz. Chem. Soc.*, 2019, doi: 10.21577/0103-5053.20190080.
- [58] P. Parize *et al.*, « Antifungal therapy of Aspergillus invasive otitis externa: efficacy of voriconazole and review », *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 53, n° 3, p. 1048-1053, mars 2009, doi: 10.1128/AAC.01220-08.
- [59] A. A. Chokoeva, L. Zisova, K. Chorleva, et G. Tchernev, « Aspergillus niger – a possible new etiopathogenic agent in Tinea capitis? Presentation of two cases », *Braz. J. Infect. Dis.*, vol. 20, n° 3, p. 303-307, mai 2016, doi: 10.1016/j.bjid.2016.01.002.
- [60] M. Gulati et C. J. Nobile, « Candida albicans biofilms: development, regulation, and molecular mechanisms », *Microbes Infect.*, vol. 18, n° 5, p. 310-321, mai 2016, doi: 10.1016/j.micinf.2016.01.002.
- [61] L. Maródi, « Mucocutaneous Candidiasis », in *Stiehm's Immune Deficiencies*, Elsevier, 2014, p. 775-802. doi: 10.1016/B978-0-12-405546-9.00040-6.

Références bibliographiques

- [62] A. Caid et S. Sahli, « Elaboration de formulation anti-inflammatoire à base d'extraits de *Schinus molle* L. », 2022, Consulté le: 20 mai 2023. [En ligne]. Disponible sur: <https://di.univ-blida.dz/jspui/handle/123456789/19644>
- [63] S. Djeraba, C. Nehal, et F. Zohra, « Formulation d'un émulsion à base d'actifs naturels », p. 8, 2021.
- [64] L. Ruangpan et E. A. Tendencia, *Laboratory manual of standardized methods for antimicrobial sensitivity tests for bacteria isolated from aquatic animals and environment*. in Aquaculture extension manual, no. no. 37. Tigbauan, Iloilo, Philippines s.l: Southeast Asian Fisheries Development Center, Aquaculture Dept, 2004.
- [65] D. DESPLAN, « CARACTERISATION RHEOLOGIQUE MULTI-EHELLE DES EMULSIONS COSMETIQUES POUR LEUR STABILITE ET LEUR CONSERVATION. », Thèse en vue de l'obtention du grade de docteur, Cergy-Pontoise, France, 2018. Consulté le: 7 juin 2013. [En ligne]. Disponible sur: <https://www.theses.fr/2018CERG0962.pdf>
- [66] I. Nowak, « Analysis of cosmetic creams - stability tests ». Adam Mickiewicz University in Poznań, 2018. Consulté le: 7 juin 2023. [En ligne]. Disponible sur: https://www.cheops-tsar.de/chemlab/en/experiments/advanced/0007_Stability_Test_Cosmetic_Creams.pdf
- [67] H. Fujisawa, K. Suma, K. Origuchi, H. Kumagai, T. Seki, et T. Ariga, « Biological and Chemical Stability of Garlic-Derived Allicin », *J. Agric. Food Chem.*, vol. 56, n° 11, p. 4229-4235, juin 2008, doi: 10.1021/jf8000907.
- [68] A. Ja1, B. Be, O. Io, K. Af, et N. Jc, « In-vitro assessments of the effects of garlic (*Allium sativum*) extract on clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* », *Adv. Appl. Sci. Res.*, vol. 2, n° 4, p. 0-0, 2011.
- [69] E. Abiy et A. Berhe, « Anti-Bacterial Effect of Garlic (*Allium sativum*) against Clinical Isolates of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* from Patients Attending Hawassa Referral Hospital, Ethiopia », *J. Infect. Dis. Treat.*, vol. 02, n° 02, 2016, doi: 10.21767/2472-1093.100023.
- [70] E. Abdallah, « Potential Antifungal Activity of Fresh Garlic Cloves (*Allium sativum* L.) from Sudan », *J. Biotechnol. Res.*, vol. 3, p. 106-109, nov. 2017.
- [71] O. O. Akinmusire, I. O. Omomowo, et I. M. Usman, « Evaluation of the phytochemical properties and antifungal activities of ethanol extract of *Allium sativum*. », *Int. J. Curr. Appl. Sci.*, vol. 3, 2014.

Références bibliographiques

- [72] F. Aala, U. K. Yusuf, R. Nulit, et S. Rezaie, « Inhibitory effect of allicin and garlic extracts on growth of cultured hyphae », *Iran. J. Basic Med. Sci.*, vol. 17, n° 3, p. 150-154, mars 2014.
- [73] K. L. Ríos-Ríos, M. E. Vázquez-Barrios, M. Gaytán-Martínez, A. Olano, A. Montilla, et M. Villamiel, « 2-Furoylmethyl amino acids as indicators of Maillard reaction during the elaboration of black garlic », *Food Chem.*, vol. 240, p. 1106-1112, févr. 2018, doi: 10.1016/j.foodchem.2017.08.016.

Année universitaire : 2022-2023

Présenté par : REZGUI Akram
DJOUAMA Aysel Line

Formulation d'un Emulgel à base de deux huiles essentielles d'*Allium sativum* et étude de leur activité antibactérienne et antifongique

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

Au fil des siècles, l'ail a conquis sa place en tant que superaliment et remède naturel. Grâce à la présence de composés actifs tels que l'allicine. L'*Allium sativum* possède des propriétés naturelles antibactériennes, antifongiques et antioxydantes, ce qui en fait un choix idéal pour soutenir la santé, renforcer le système immunitaire et promouvoir le bien-être général. Dans cette perspective, et afin de valoriser les résultats des recherches scientifiques antérieures, nous avons entrepris le développement d'une formulation semi-solide antibactérienne et antifongique à usage topique en utilisant les huiles essentielles des variétés d'ail Rouge locale et Rouge chinoise. L'objectif est de créer un produit efficace et pratique qui exploite les propriétés pharmacologiques de l'ail pour lutter contre les infections bactériennes et fongiques, tout en préservant ses bienfaits thérapeutiques.

La préparation de l'émulgel s'est déroulée en deux phases distinctes : une pour la formation du gel et une autre pour la préparation de l'émulsion. Ensuite, les activités antibactériennes et antifongiques ont été évaluées sur quatre souches bactériennes (*E.coli*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus*), ainsi que sur deux souches fongiques (*Aspergillus niger* et *Candida albicans*).

Les échantillons d'émulgels préparés ont révélé une sensibilité accrue des bactéries gram positives par rapport aux bactéries gram négatives. Par exemple, la bactérie *Staphylococcus aureus* a été inhibée par tous les émulgels, avec un diamètre d'inhibition de 40mm. De même, chez *Bacillus subtilis*, un diamètre d'inhibition similaire a été observé avec l'émulgel contenant une concentration 3% d'huile essentielle de la variété d'ail rouge locale. Cette sensibilité peut être attribuée à la structure de la paroi cellulaire riche en lipides des bactéries gram négatives, qui limite l'accès de l'allicine à l'ARN et à l'ADN, inhibant ainsi leur activité. De plus, l'émulgel préparé a démontré une puissante activité antifongique contre l'*Aspergillus*, avec un taux d'inhibition de 83,3% pour l'émulgel contenant l'huile essentielle de la variété Rouge locale à une concentration de 3%. En outre, ce dernier a présenté des taux d'inhibitions supérieurs aux deux autres émulgels. L'étude de stabilité réalisée sur l'émulgel a révélé une stabilité exceptionnelle dans les deux conditions, normale et accélérée.

Mots-clefs : Emulgel, huile essentielle, Ail, activité antibactérienne, activité antifongique...

Laboratoires de recherche :

Laboratoire de Génétique, Biochimie et Biotechnologie Végétale GBBV (Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Président : KELLOU K (MAA- Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Encadrante : LOUALI Y (MCB - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Examineur : TEMAGOULT M (MAA- Université Frères Mentouri, Constantine 1).