



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche
Scientifique



UNIVERSITE ABBES LAGHROUR - KHENCHELA
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
DEPARTEMENT : DE BIOLOGIE MOLECULAIRE ET CELLULAIRE

Mémoire

Présenté en vue de l'obtention du diplôme de

Master académique

FILIERE : Biologie

OPTION : Biochimie appliquée

Thème

*Étude phytochimique et potentialité
antibactérienne des flavonoïdes issus d'une
variété locale d'*Allium sativum**

Présenté par

AZZEDIN Leila

KEZIZ Sami

Soutenu le : 24/05/2016

Jury de soutenance :

Présidente : M^{eme} Merabti Rima

(M.C.B) Univ.Abbès Laghrou-Khenchela

Encadreur : M^{eme} Douaouya Lilia

(M.A.A) Univ.Abbès Laghrou-Khenchela

Examineur : M^{elle} Messai Alima

(M.A.A) Univ.Abbès Laghrou-Khenchela

Promotion : 2016

Le travail a été réalisé au laboratoire de Biochimie à l'université AbbèsLaghrou
- Khenchela -

Remerciements

Nous tenons à remercier en premier temps Dieu le tout puissant qui nous a donné la force, la santé et le pouvoir pour établir ce mémoire

*J'adresse tout d'abord mes sincères remerciements à mon encadreur **M^{me}DOUAOUYA Lilia**..... Merci d'avoir accepté de diriger ce travail, Merci pour votre encadrement sans faille tout au long du période de réalisation de ce travail. C'est un très grand honneur et un très grand plaisir d'avoir pu faire votre connaissance avant tout.....*

Je remercie Mr HAMADA Yousef, le Doyen de faculté des sciences de la nature et de la vie

Nos vifs remerciements s'adressent aux membres de jury; d'avoir accepté d'évaluer ce travail.

Je tiens à remercier M^{elle} MERABTI Rima (MCB) Univ. Abbès Laghrour–Khenchela de m'avoir fait honneur de présider le jury de soutenance.

Un grand merci à M^{elle} MESSAI Alima qu'elle trouve ici l'expression de profonde reconnaissance pour avoir accepté d'examiner ce travail

Je remercie également nos formidable amies: Fadia, Saida, Wissem, Meriem ,Houda pour les nombreux services qu'ils m'ont rendus durant La réalisation de ce travail.

Résumé

Les plantes médicinales restent toujours la source fiable des principes actifs connus par leurs propriétés thérapeutiques.

Dans ce travail l'extrait méthanolique de la plante *Allium sativum* a été testé pour évaluer son activité antibactérienne.

Le screening phytochimique a montré que cette plante contient les flavonoïdes, des saponosides, des coumarines et les composés réducteurs.

A partir de l'analyse des résultats, la CCM de l'extrait méthanolique a dévoilé que cette espèce est riche en flavonoïdes surtout de type flavones et flavonols susceptible d'exprimer l'activité recherchée.

L'analyse quantitative de l'extrait hydrométhanolique, est représentée par le dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes révélant une richesse et corrélation entre ses teneurs ségales à 381,84 µg EA/mg d'extrait et 15.75 µgEQ/mg d'extrait respectivement.

Pour l'activité antibactérienne, un test de sensibilité de quatre souches bactériennes, deux Gram positif: *Bacillus subtilus* (ATCC 21332), *Listeria monocytogenes* (ATCC 25922), et deux Gram négatif: *Klebsiella oxycota* (ATCC 25922) et *Salmonella ssp*, est réalisé en adoptant la méthode des disques, les résultats obtenus présentent une différence significative entre les souches testées et l'effet inhibiteur le plus marqué est obtenu avec la souche *Salmonella ssp* par un diamètre 25mm.

Notre espèce locale d'*Allium sativum* est douée d'une activité antibactérienne remarquable. De ce fait il peut constituer une ressource naturelle pour les futures études sur les infections bactériennes.

Mots clés: Activité antibactérienne, *Allium sativum*, flavonoïdes, polyphénols, souches de référence.

Abstract

The medicinal plants still remain reliable source of active ingredient known for their therapeutic properties. In this work the methanol extract of the plant *Allium sativum* was tested to evaluate its antibacterial activity.

The phytochemical screening showed that this plant contains flavonoids, saponins, coumarins and reducing compounds.

From the analysis of results, the TLC of the methanol extract revealed that this species is rich in flavonoids especially flavones type and flavonols may express the desired activity.

Quantitative analysis of the methanolic extract is represented by the measurement of total polyphenols and flavonoids revealing a rich and correlated content equal to 381.84 EA ug / mg of extract and 15.75 ug EQ / mg of extract respectively.

For the antibacterial activity, sensitivity testing of four bacterial strains, both Gram positive *Bacillus subtilis* (ATCC 21332), *Listeria monocytogenes* (ATCC 25922) and two Gram negative *Klebsiella oxytoca* (ATCC 25922) and *Salmonella ssp* is realized by adopting the disc method, the results show a significant difference between the strains tested and the most marked inhibitory effect is obtained with the strain *Salmonella ssp* with a 25mm diameter.

Our local species *Allium sativum* is endowed with a remarkable antibacterial activity. There fore it may be a natural resource for future studies on bacterial infections.

Keywords: Antibacterial activity, *Allium sativum*, flavonoids, polyphenols, reference strains.

ملخص

تبقى النباتات الطبية دائما المصدر الموثوق من المكونات النشطة المعروفة بخصائصها العلاجية. في هذا البحث قمنا بدراسة النشاط المضاد للبكتيريا للمستخلصات الميثانولية للجزء الهوائي لنبتة الطبية "الثوم" *Allium sativum*.

اثبت التقصي الفيتوكيميائي احتواء المستخلص الميثانولي لنبتة الثوم الفلافونويدات, الصابونينات, الكومارين و المركبات المرجعة.

من تحليل نتائج كشف CCM من مستخلص الميثانول ان هذا النوع غني خصوصا في الفلافونيدات نوع فلافون و فلافونول اللتي قد تكون مسؤولة عن النشاط المطلوب..

التحليل الكمي للمستخلص الميثانولي، و ذلك عن طريق قياس إجمالي البوليفينول والفلافونويد الذي كشف عن الغناء والعلاقة بين محتواهما و المقدر ب 381,84 ميكروغرام/ مغ من المستخلص و 15.75 ميكروغرام/ مغ على التوالي.

بالنسبة للنشاط المضاد للبكتيريا استعملنا اربعة سلالات بكتيرية اثنان منهما موجبة الغرام :

Bacillus subtilus (ATCC 21332), Listeria monocytogenes (ATCC 25922)

واثنان منهما سالبة الغرام: *Klebsiellaoxycola (ATCC 25922) et Salmonella ssp*

باستعمال طريقة الاقراص أظهرت النتائج المحصلة عليها على تأثير كاجح و بشكل أكثر وضوحا مع سلالة السالمونيلا حيث قدر قطر التثبيط ب25مم .

اعطى مستخلص الثوم *Allium sativum* نشاطا ملحوظا ومضادا للبكتيريا و من هذا الواقع قد يكون موردا طبيعيا للدراسات المستقبلية على الالتهابات البكتيرية.

الكلمات المفتوحة: النشاط مضاد للجراثيم، *Allium sativum*، الفلافونويد، بوليفينول، والسلالات المرجعية.

Liste des figures

Numéro	Titre	Page
Figure1	Les principales familles de principes actifs utilisées en phytothérapie : Certains principes actifs sont des métabolites primaires, d'autres sont des métabolites secondaires.	5
Figure 2	Squelette de base des flavonoïdes	9
Figure 3	Les caractéristiques botaniques de l'ail (<i>Allium sativum</i>).	15
Figure4	Principaux composés soufrés d' <i>Allium sativum</i> .	17
Figure 5	<i>Réaction de transformation de l'alliine en allicine</i>	17
Figure 6	Carte géographique montre la région de la récolte	28
Figure 7	Photo du rotavapeur utilisé pour sécher l'extrait méthanolique	30
Figure 8	Courbe d'étalonnage de l'acide gallique (moyenne± SD de trios mesures)	39
Figure 9	Histogramme représente la teneur en polyphénols de la plante <i>Allium sativum</i>	39
Figure10	Courbed'étalonnage de la quercétine(moyenne±SDde trios mesures)	40
Figure 11	Histogrammère présente la teneur en flavonoïdes de la plante <i>Alluimsativum</i>	40
Figure12	Corrélation entre de la teneur en flavonoïdes et celle en polyphénols de la plante <i>Allium sativum</i>	41
Figure 13	Photos des chromatogrammes résultant de l'analyse d'extrait méthanolique par chromatographiesur gel silice (révélation à UV), 365 nm	43

Figure 14	Photos montrant l'effet antibactérien de l'EM _{As} contre <i>Salmonella ssp</i> , <i>Listeria monocytogenes</i> , <i>Bacillus subtilis</i> et <i>Klebsiella oxycota</i>	45
------------------	---	----

Liste des tableaux

<i>Numéro</i>	<i>Titre</i>	<i>Page</i>
Tableau1	Structure des squelettes des polyphénols	7
Tableau2	Variétés d'ail cultivées en Algérie	16
Tableau3	Situation géographique de la région de la récolte	27
Tableau4	Le rendement d'extrait méthanolique d' <i>Allium sativum</i>	37
Tableau5	Analyse phytochimique préliminaire d'extrait méthanolique d' <i>Allium sativum</i> .,	38
Tableau6	CCM de la fraction méthanolique Système solvant:Butanol, Acide acétique, H ₂ O (4% : 1% :5 %) Adsorbant: Gel de silice	42
Tableau7	CCM de la fraction méthanolique Système solvant : acétone, H ₂ O Adsorbant: Gel de silice	43
Tableau8	Diamètre des zones d'inhibition de l'extrait méthanolique d' <i>Allium sativum</i>	45

Liste des abréviations

- ❖ **Abs:** Absorbance
- ❖ **AlCl₃:** Trichlorure d'aluminium
- ❖ **AMM :** L'autorisation de mise sur le marché
- ❖ **ARN :** Acide ribonucléique
- ❖ **BAW :** Butanol, Acide acétique, H₂O
- ❖ **CCM :** Chromatographie sur couche mince
- ❖ **D :** Diamètre
- ❖ **DADS :** Daily disulfide
- ❖ **DMSO :** Dimethylsulfoxyde
- ❖ **EQ:** Equivalent.
- ❖ **EMAS:** Extrait méthanolique *d'Allium sativum*
- ❖ **FeCl₃:**chlorure de fer
- ❖ **HDL :** High density lipoproteins
- ❖ **HHDP :** acidehexahydroxydiphénique
- ❖ **H₂SO₄:** Acide sulfurique.
- ❖ **I₂ :** Diiode
- ❖ **IPA :** Institut Pasteur d'Algérie
- ❖ **LDL :** Lipoprotéines de faible densité
- ❖ **Ps :** Poids de l'extrait sec en gramme (g)
- ❖ **Pp :** Poids de la poudre en gramme (g).
- ❖ **Rf :** Rapport frontal
- ❖ **SD :** Standard déviation
- ❖ **UV :** ultra-violette
- ❖ **VIH :** Human Immunodeficiency Virus
- ❖ **ZI :** Zones d'inhibition

Table des matières

<i>Remerciements</i>	<i>I</i>
<i>Résumés</i>	<i>II</i>
<i>Liste des figures</i>	<i>III</i>
<i>Liste des tableaux</i>	<i>IV</i>
<i>Liste des abréviations</i>	<i>VI</i>
<i>Introduction générale</i>	<i>01</i>

Etude bibliographique

Chapitre I: La phytothérapie

I .La phytothérapie.....	03
II.Définition des plantes médicinales.....	03
III. Les substances naturelles des plantes et leur activités biologiques.....	04
III. 1.Les metabolites primaries.....	04
III. 2.Les metabolites secondaires.....	05
III. 2.1.Polyphénols.....	05
III. 2.1.1.Biosynthèse.....	06
III. 2.1.2.Classe des polyphénols.....	06
III. 2.1.3.Effets biologiques des polyphénols.....	08
III. 2.1.4.Flavonoïde.....	08
III. 2.1.4.1.Structure et classification.....	08
III. 2.1.4.2.Localisation et distribution.....	09
III. 2.1.4.3.Intérêts et les effets biologiques des flavonoïdes.....	09
III. 2.1.5.Les tannins.....	10
III. 2.1.5.1. Localisation et distribution.....	10
III. 2.1.5.2.Structure chimique et classification.....	10
III. 2.1.5.2.1.Tanins hydrolysables.....	11
III. 2.1.5.2.2.Tanins condensés.....	11
III. 2.1.6.Les comarines.....	11
III. 2.2.Les terpènes et stéroïdes.....	12

III. 2.3. Alcaloïdes.....	12
III. 2.3.1. Nature et présence des alcaloïdes.....	13

Chapitre II: Allium sativum

I. Généralités.....	14
I.1. Position systématique.....	14
I.2. Description botanique.....	15
I.3. Variétés de l'ail cultivées en Algérie.....	16
I.4. Principaux composés actifs.....	16
I.5. Effets thérapeutiques de l'ail.....	18
I.5.1. Effet sur le système vasculaire.....	18
I.5.2. Effets anti-cancérogènes.....	18
I.5.3. Effets antioxydants.....	18
I.5.4. Effets hypoglycémisants.....	19
I.5.5. Effets hypolipémiants.....	19
I.5.6. Effets antifongiques.....	19
I.5.7. Effets antiparasitaires.....	19
I.5.8. Effets antiviraux.....	20
I.5.9. Effets antibactériens.....	20

Chapitre III: Les infections bactériennes

I. Les infections bactériennes.....	21
II. Traitement des infections.....	21
II.1. Définition des antibiotiques.....	21
II.2. Classifications des antibiotiques.....	22
II.3. Résistance aux antimicrobiens (antibiotiques).....	22
III. Activité antimicrobienne d'extrait de plante.....	24
IV. Description des souches bactériennes étudiées.....	24
IV.1. <i>Salmonella ssp</i>	24
IV.2. <i>Listeria monocytogenes</i>	25
IV.3. <i>Bacillus subtilis</i>	25
IV.4. <i>Klebsiella oxytoca</i>	26

Etude expérimentale

Chapitre IV: Matériels et méthodes

I. .Matériels et méthodes.....	27
I. 1.Matériel biologique.....	27
I. 1.1. Matériel végétale.....	27
I. 2. Réactifs chimiques et instrumentations.....	28
I. 3.Les souches bactériennes.....	29
II. Méthodes	29
II. 1.Préparation de l'extrait méthanolique.....	29
II. 2.Détermination du rendement d'extraction.....	30
II. 3.Screening chimique des plantes.....	30
II. .3.1.Recherche des tannins.....	31
II. 3.2.Recherche des saponosides	31
II. 3.3.Recherche des flavonoïdes.....	31
II. 3.4.Recherche des coumarines.....	31
II. 3.5.Recherche des composés réducteurs.....	31
II. 3.6.Recherche des alcaloïdes.....	32
II. 4.Etude qualitative	32
II. 4.1.Identification des flavonoïdes par chromatographie sur couche mince.....	32
II. 5.Etude quantitative.....	33
II. 5.1Dosage des polyphénols.....	33
II. 5.1.1.Principe.....	33
II. 5.1.2.Expression des resultants	33
II. 5.2.Dosage des flavonoïdes	34
II. 5.2.1.Principe.....	34
II. 5.2.2.Expression des resultants.....	34

III. Etude de l'activité antibactérienne	34
III. 1.Méthode des disques -Tests d'efficacité.....	34
IV. Etude statistique.....	36

Chapitre V:Résultat et discussion

I. Le rendement de l'extrait.....	37
II. <i>Tests de mise en évidence de certains composés phytochimiques</i>	38
III. <i>Résultats de l'analyse quantitative</i>	38
III. 1. <i>Dosage des polyphénols totaux</i>	38
III. 2. <i>Dosage des flavonoïde</i>	40
IV. <i>L'étude qualitative</i>	41
IV. 1.chromatographie sur couche mince des extraits methanolique de plants <i>Alluim sativum</i>	41
V. Résultat de l'activité antibactéreinne.....	44
<i>Conclusion et perspectives</i>	47
<i>Références bibliographiques</i>	48

Introduction générale

Introduction

La phytothérapie a été utilisée de puis des siècles pour traiter les infections. En Algérie, les plantes sont utilisées de puis long temps et leur utilisation s'inspire d'expériences des populations ainsi que de la médecine arabe classique. Ce pendant, cette utilisation ne suit pas des règles précises et ne tient pas compte des nouvelles nécessités de la thérapeutique actuelle. Beaucoup d'études se sont intéressées à l'étude des plantes utilisées en médecine traditionnelle.

La médecine traditionnelle apporte ses propres solutions pour le traitement des infections bactériennes, fongiques, pour le traitement du paludisme, des infections opportunistes contractées par les personnes vivant avec le VIH/SIDA, du diabète, de l'hypertension artérielle et de la drépanocytose. Une recherche scientifique sur les plantes médicinales s'avère donc nécessaire pour améliorer les recettes des tradipraticiens en vue de la production de médicaments traditionnels améliorés, standardisés et à coûts accessibles à un plus grand nombre de la population [1].

Actuellement, plusieurs questions se sont soulevées concernant la sécurité et l'efficacité des produits chimiques utilisés en médecine. En effet, durant les 20 dernières années, il a été prouvé que l'efficacité des antibiotiques a fortement diminué. Les bactéries en sont devenues de plus en plus résistantes. Face aux limites thérapeutiques, des antibiotiques classiques ont poussé les scientifiques à orienter les recherches vers de nouvelles voies et surtout l'utilisation des principes actifs des plantes (composées phénoliques, alcaloïdes, huiles essentielles...) comme agent antibactérien.

L'ail (*Allium sativum*) appartient à la famille des *Alliacées*, tout comme les oignons, les échalotes et les poireaux. Elle possède la capacité de produire des substances naturelles très diversifiées. A côté des métabolites primaires, elles accumulent fréquemment des métabolites dits secondaires qui représentent une source importante de molécules utilisable par l'homme en particulier dans le domaine pharmacologique [2].

C'est pourquoi nous nous sommes intéressé à entreprendre ce travail qui est subdivisé en deux parties essentielles; initié par une synthèse bibliographique où nous apportons dans le premier chapitre des généralités l'histoire de la phytothérapie et les utilisations des plantes médicinales, le deuxième chapitre expose la plante médicinale choisie «*Allium sativum*» et élucide sa composition en principes actifs et leurs activités biologiques et le troisième chapitre présente les infections bactériennes et les germes sélectionnés pour cette étude.

La deuxième partie est expérimentale dans laquelle sont abordés deux chapitres; le premier présente le matériel et les méthodes analytiques utilisées pour l'extraction des flavonoïdes, leur identification par CCM, étude de leurs teneurs en polyphénols ainsi qu'en flavonoïdes et l'évaluation du pouvoir antibactérien de l'extrait hydroalcoolique de la plante *Allium sativum* en utilisant la technique de diffusion en milieux gélosés sur boîtes de pétri en adaptant la méthode de disques et le deuxième chapitre expose les résultats obtenus suivis de la discussion.

Chapitre I

La phytothérapie

I. La phytothérapie

La phytothérapie, du grec < phyton > qui veut dire plante < therapeia > qui signifie traitement, étudier l'utilisation des plantes médicinales en [3].

La phytothérapie, selon [4] .est le traitement par les plantes ; c'est-à-dire par la consommation ou l'utilisation de produits préparés à partir de plantes sans passer par Une étape de sélection de molécules, on ne consomme donc pas que le principe actif mais tout Ce que contient la plante. Par ailleurs la phytothérapie requiert une connaissance parfaite de Substances chimiques contenues dans un organe végétal et une bonne connaissance de mode D'emploi.

Aussi une pratique basée sur les avancées scientifiques qui recherche des extraits actifs des plantes. Les extraits actifs identifiés sont standardisés. Cette pratique conduit aux phyto médicaments et selon la réglementation en vigueur dans le pays, la circulation des phyto médicaments est soumise à L'autorisation de mise sur le marché (AMM). On parle alors de Pharmacognosie ou de biologie pharmaceutique [5].

II. Définition des plantes médicinales

❖ Définition médicale

Ce sont des plantes inscrit à la pharmacopée, et qui sont considéré comme des médicaments, leur vente est exclusivement réservé aux pharmaciens, et aux herboristes ; a l'exception de 34 d'entre elles qui sont en vente libre par dérogation qu'est correspondre souvent aux plantes aromatique utiliser dans la préparation culinaires ex : antiseptique, antigrippale ... etc [6].

❖ Définition chimique

Les plantes médicinales sont des plantes possédant des molécules a l'intérieur de leur organe (feuille, fleurs....etc.) et pouvant selon des technique chimique (extraction, distillation ...) permettent à l'isolation des principes éléments actifs (huiles, alcool...) pour des buts thérapeutiques [7].

❖ Définition biologique

Les plantes médicinales ce sont des végétaux connus pour leurs pouvoirs bienfaiteurs ; dont l'un de ces organes comme l'écorce, fruits ... etc. possédants des vertus curatives [8].

III. Les substances naturelles des plantes et leurs activités biologiques

Les produits naturels des plantes peuvent être classés en deux catégories, les métabolites Primaires et les métabolites secondaires :

III.1. Les métabolites primaires

Les plantes utilisent l'énergie du rayonnement solaire, le dioxyde de carbone présent dans l'atmosphère, l'eau et les éléments inorganiques du sol qu'elles absorbent par les racines (eau, éléments inorganiques) et par les feuilles (Dioxyde de carbone).

Le processus de base est la photosynthèse qui fixe le carbone contenu dans le dioxyde de carbone atmosphérique, en le combinant aux atomes d'hydrogène contenus dans les molécules d'eau. Les premiers produits formés par la photosynthèse sont des Hydrates de carbones, de faible masse moléculaire (oses). C'est à partir de ces oses (ou sucres) que sont ensuite formés tous les métabolites primaires nécessaires à la survie de la plante : glucides complexes (polymères comme la cellulose, l'amidon ou les pectines), acides aminés (constitutifs des protéines), acides gras (constitutifs des lipides), etc.

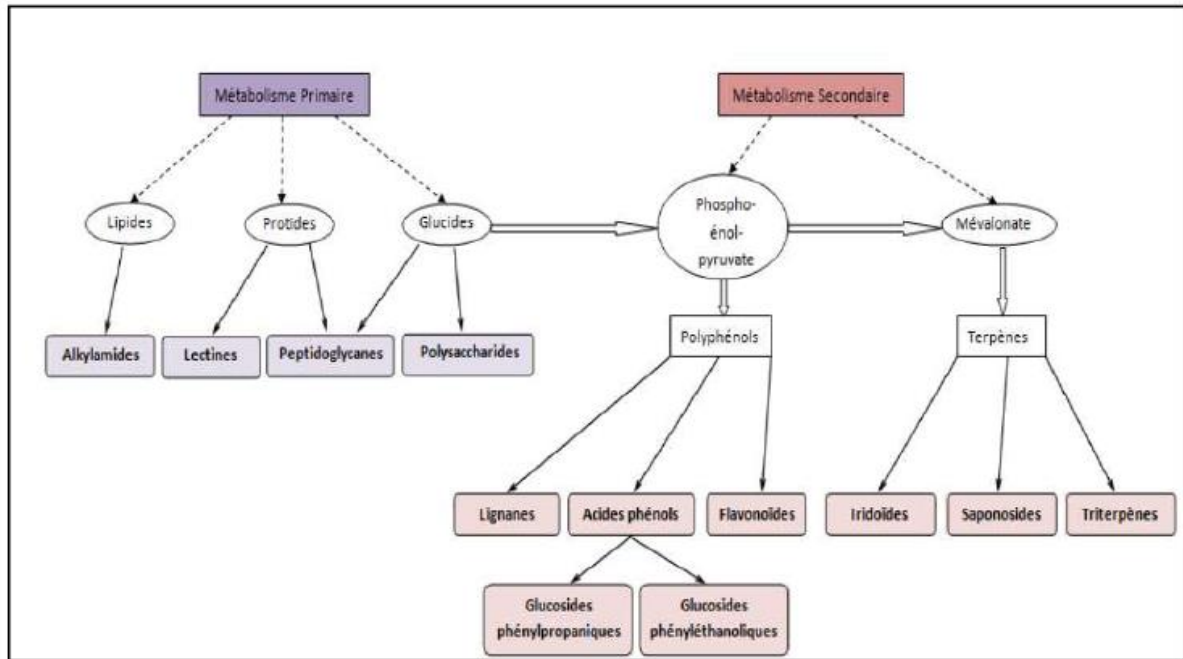


Figure 1: Les principales familles de principes actifs utilisées en phytothérapie: Certains principes actifs sont des métabolites primaires, d'autres sont des métabolites secondaires[4]

III.2. Les métabolites secondaires

Les métabolites secondaires sont des molécules organiques complexes synthétisées et accumulées en petites quantités par les plantes autotrophes, ils sont divisés principalement en trois grandes familles : Les polyphénols, les terpènes, les alcaloïdes [9,10].

III.2.1. Polyphénols

Les polyphénols sont des produits du métabolisme secondaire des végétaux, caractérisés par la présence d'au moins d'un noyau benzénique auquel est directement lié au moins un groupement hydroxyle libre, ou engagé dans une autre fonction tels que : éther, ester, hétéroside...etc [4,11].

En effet les composés phénoliques, constituent le groupe le plus nombreux et le plus largement distribué dans le royaume des végétaux, avec plus de 8000 structures phénoliques connus [11]. Les principales classes de composants phénoliques sont : les acides phénoliques (acide caféique, acide hydroxycinnamique, acide chlorogénique), les flavonoïdes qui représentent plus de la moitié des polyphénols, les tanins, et les

coumarines [12]. Les polyphénols sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs : racine, tiges, feuilles, fleurs, fruits [13].


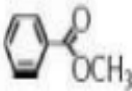
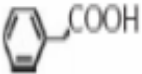
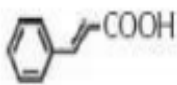
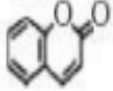
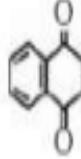

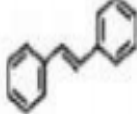
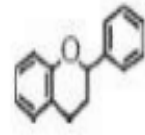
III.2.1.1. Biosynthèse

L'origine biosynthétique des composés phénoliques des végétaux est proche, tous dérivant de l'acide shikimique (**Figure 1**). Cette voie shikimate conduit à la formation des oses aux acides aminés aromatiques (phénylalanine et tyrosine) puis par désamination de ces derniers, aux acides cinnamiques et à leurs très nombreux dérivés : acide benzoïques, acétophénone, lignanes et lignines, coumarines [14].

III.2.1.2. Classe des polyphénols

Les polyphénols forment un très vaste ensemble de substances chimiques, ils peuvent être classifiés selon le nombre et l'arrangement de leurs atomes de carbones (**Tableau 1**). Ces molécules sont généralement trouvés conjuguées aux sucres et les acides organiques.

Tableau 1 : Structure des squelettes des polyphénols [15]

Nombre de Carbones	Squelette	Classification	Exemple	Structure de Base
7	C6-C1	Acides phénols	Acide gallique	
8	C6-C2	Acétophénonnes	Gallacetophénone	
8	C6-C2	Acide phénylacétique	Acide p-hydroxyphényl acétique	
9	C6-C3	Acides hydroxycinamiques	Acide Coumarique	
9	C6-C3	Coumarines	Esculitine	
10	C6-C4	Naphthoquinones	Juglone	
13	C6-C1-C6	Xanthones	Mangiferine	
14	C6-C2-C6	Stilbènes	Resveratrol	
15	C6-C3-C6	Flavonoïdes	Naringénine	

III.2.1.3.Effets biologiques des polyphénols

Les polyphénols sont associés à de nombreux processus physiologiques interviennent dans la qualité alimentaire, impliqués lorsque la plante est soumise à des blessures mécaniques. La capacité d'une espèce végétale à résister à l'attaque des insectes et des microorganismes est souvent corrélée avec la teneur en composés phénoliques [16].

Ces composés montrent des activités anti-carcinogènes, anti-inflammatoires, antiathérogènes, anti-thrombotiques, analgésiques, antibactériens, antiviraux, anticancéreux [17], anti-allergènes, vasodilatateurs [18] et antioxydants [19]. Les composés polyphénoliques sont d'ailleurs de plus en plus utilisés en thérapeutique. Ils sont regroupés dans la catégorie des veinotoniques et des vasculoprotecteurs. Parmi les veinotoniques, nous citerons le Relvenet ou le Cirkant renfermant du ruténoside, le Daflont ou le Diosmilt renfermant de la diosmine. Un certain nombre de molécules polyphénoliques sont également en étude clinique comme des antiagrégants plaquettaire, ou hypotenseur sans résultats probants [20].

III.2.1.4.Flavonoïdes

Le terme flavonoïde désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols [21] ils sont considérés comme des pigments quasiment universels des végétaux, souvent responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles. À l'état naturel les flavonoïdes se trouvent le plus souvent sous forme d'hétérosides [4 , 22].

Du point de vue structural, les flavonoïdes se répartissent en plusieurs classes de molécules, en effet plus de 6400 structures ont été identifiées [23].

III.2.1.4.1.Structure et classification

Les flavonoïdes sont des dérivés benzo-y-pyranne [24]. Leur structure de base est celle d'un diphenyl propane à 15 atomes de carbone (C6-C3-C6), constitué de deux noyaux aromatiques qui désignent les lettres A et B, reliés par un hétérocycle oxygéné, qui désigne la lettre [25].

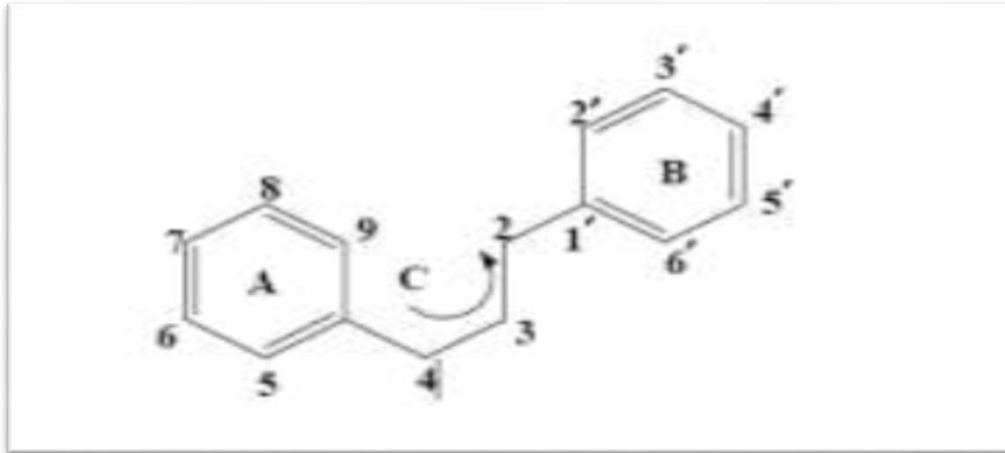


Figure 2 : Squelette de base des flavonoïdes [26]

De façon générale les flavonoïdes se trouvent soit à l'état libre, dans ce cas ils sont dits aglycones, soit sous forme de C- ou O-glycosides, et dans ce cas ils sont liés à des sucres tels que le glucose, le rhamnose, l'arabinose, ils peuvent en outre être des monomères ou des oligomères [25]. Les flavonoïdes peuvent être subdivisés en plusieurs classes dont les plus importantes sont : flavones, isoflavandiols, flavanols, flavandiols, aurones, chalcones, anthocyanins [27].

III.2.1.4.2. Localisation et distribution

Les flavonoïdes possèdent une large répartition dans le monde végétal, ils sont distribués dans les feuilles, les graines, l'écorce et les fleurs des [28]. Les formes hétérosidiques des flavonoïdes, s'accumulent dans les vacuoles et selon les espèces, elles se concentrent dans l'épiderme des feuilles ou se répartissent entre l'épiderme et le mésophylle. Dans le cas des fleurs, elles sont concentrées dans les cellules épidermiques [4].

III.2.1.4.3. Intérêts et effets biologiques des flavonoïdes

Les flavonoïdes sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs : racines, tiges, feuilles, fleurs, pollens, fruits, graines, bois [4,29]. Certains flavonoïdes sont plus spécifiques de certains tissus. Les anthocyanes sont plutôt localisés dans les parties externes des fruits, fleurs et feuilles [30]. Les chalcones se retrouvent plus fréquemment

dans les pétales des fleurs. Ce sont des pigments naturels au même titre que les chlorophylles (couleur verte) et les caroténoïdes (nuances jaunes et orangées). Leur fonction principale est la pigmentation des plantes (aspect esthétique). Quand ils ne sont pas directement visibles, ils contribuent à la coloration par leur rôle de Co-pigments (certaines flavones et flavonols) [4,30]. Les flavonoïdes, en particulier les anthocyanes, sont les seules molécules du règne végétal capables de produire une vaste gamme de couleurs, susceptibles de donner des teintes allant du jaune-orangé au bleu, en passant par le pourpre et le rouge[30,31].

Les flavones, aurones et chalcones donnent plutôt des couleurs jaune, beiges voire blanche, ou participent aux nuances produites par les anthocyanes et les caroténoïdes [4];[29]. Un des rôles de la couleur chez les plantes est d'attirer les insectes et les oiseaux, qui Jouent un rôle majeur dans la pollinisation et la dispersion assurant ainsi la reproduction de l'espèce [29,32]. Les flavonoïdes, dissous dans les vacuoles à l'état d'hétérosides, s'accumulent dans les cellules épidermiques, assurant la protection des tissus contre les rayonnements solaires nocifs. [29,15,33] On prête à certains flavonoïdes (phytoalexines), un rôle de défense contre les prédateurs et les pathogènes [33].

III.2.1.5. Les tanins

Les tanins sont des substances polyphénoliques de structure variée, de saveur astringente ayant en commun la propriété de tanner la peau, cette aptitude est lié à leur propriété de se combiner aux protéines. Leur poids moléculaire est compris entre 500 et 3000 Da [34].

III.2.1.5.1. Localisation et distribution

Les tanins sont très répandu dans le règne végétal, mais ils sont particulièrement abondants dans certaines familles comme les conifères, les Fagacée, les rosacée [35] Ils peuvent exister dans divers organes : l'écorce, les feuilles, les fruits, les racines et les graines [36].

III.2.1.5.2. Structure chimique et classification

A la base de leur caractéristique structurale, il est possible de diviser les tanins en 2 groupes:

III.2.1.5.2.1. Tanins hydrolysables

Ce sont des oligo ou des polyesters d'un sucre (ou d'un polyol apparenté) et d'un nombre variable d'acide phénolique. Le sucre est très généralement le glucose. L'acide phénolique est soit l'acide gallique dans le cas des tanins galliques, soit l'acide hexahydroxydiphénique (HHDP) et ses dérivés dans le cas des tanins éllagiques[4].

- Tanins galliques (Gallo tanins) : Ils donnent par l'hydrolyse des oses et de l'acide gallique.

- Tanins ellagiques (Ellagitanins) : Ils sont scindés par les enzymes en oses et en acide ellagique [34].

III.2.1.5.2.2. Tanins condensés

Les tanins condensés sont des polymères flavanolique constitués d'unités flavan-3-ols, le plus souvent épicatechine et catéchine [36]. Les tanins condensés sont des molécules hydrolysables, leur structure voisine de celle des flavonoïdes est caractérisée par l'absence de sucre [34].

Ce sont des polymères ou oligomères flavanique, constitués d'unités flavan-3-ols, le plus souvent épicatechine et catéchine, avec un degré de polymérisation entre deux et plus de 50 unités[36]. Ces unités liées entre elles par une seule liaison carbone-carbone C4-C8 ou C4-C dans le type B des pro-anthocyanidines ; ou par une liaison interflavanique double (C4-C6 ou C4-C6) et (C2-O-C) dans le type A [4,37,38]

III.2.1.6. Les coumarines

Elles sont issues du métabolisme de la phénylalanine via un acide cinnamique, l'acide P-coumarique.

Les coumarines libres sont solubles dans les alcools et les solvants organiques tels que l'éther ou les solvants chlorés dans lesquels ils sont extractibles. Les formes hétérosidiques sont plus ou moins solubles dans l'eau. Elles ont un spectre UV caractéristique, fortement influencé par la nature et la position des substituants. En lumière ultra-violette, les CCM présentent des tâches dont la coloration varie du bleu au pourpre en passant par jaune..

Les coumarines sont cytotoxiques, antivirales, immunostimulantes, tranquillisantes, vasodilatatrices, anticoagulantes (au niveau du cœur), hypotensives ; elles sont également bénéfiques en cas d'affections cutanées.

L'odeur de foin fraîchement coupé de la coumarine est très utilisée en parfumerie Elle est aussi utilisée dans les produits cosmétiques [39].

III.2.2. Les terpènes et stéroïdes

Les terpénoïdes sont une vaste famille de composés naturels près de 15000 de molécules différentes et de caractère généralement lipophiles, leurs grandes diversités due au nombre de base qui constituent la chaîne principal de formule $(C_5H_8)_n$ selon la variation de nombre n, dont les composés monoterpènes, sesquiterpènes, diterpènes, triterpènes[40].

Ces molécules présentent en forme des huiles essentielles ; parfums et goût des plants, pigments (carotène), hormones (acide abscissique), des stérols (cholestérol) [41].

Les stéroïdes sont des triterpène est tétracycliques, possèdent moins de 30 atomes de carbone, synthétisés à partir d'un triterpène acyclique [41].

Chez toutes les plantes on trouve ces composés liées avec un groupement alcool qu'ils nommés les stérols ; prenant une forme plane, glycosylée, analogues du cholestérol qui ne diffèrent de celui-ci que par leur chaîne latérale comme : B-Sitostérol, Stigmastérol [41].

III.2.3. Alcaloïdes

Les alcaloïdes figurent parmi les principes actifs les plus importants en pharmacologie et en médecine [42]. Ce sont des substances organiques azotées, à propriétés basiques ou amers et ayant des propriétés thérapeutiques ou toxiques [43]. Ils ont des structures très diverses et dérivent de différents acides aminés ou de l'acide mévalonique en passant par différentes voies biosynthétiques[44]. De nombreux poisons dangereux comme l'atropine par exemple, sont extraite de la belladone mortellement toxique (*Atropa belladonna*) et qui peut cependant être utilisée à faible dose dans une optique thérapeutique. Les alcaloïdes sont utilisées comme anti cancer, sédatifs et pour leur effet sur les troubles nerveux (maladie de Parkinson) [45].

III.2.3.1. Nature et présence des alcaloïdes

La source principale des alcaloïdes était auparavant les plantes florales mais plusieurs composés de cette famille ont été récemment extraits des règnes animaux à savoir les insectes et les poissons. Malgré cet avancement, les alcaloïdes floraux restent les plus importantes par rapport aux autres [14, 46]. En général les alcaloïdes ne se concentrent pas dans une seule partie de la plante. Ils se présentent avec des concentrations différentes dans les tiges, les fleurs, les racines et les feuilles. Cette même concentration se diffère selon la période de récolte.

Signalons que la présence des alcaloïdes dans une partie de la plante ne prouve en aucun cas sa naissance dans ce milieu. La présence des alcaloïdes est généralement associée à un acide organique ou à une autre entité avec un pourcentage variant entre 1 et 3 % du poids sec de la plante. Dans des cas très particuliers, notamment dans les quinquinas, ils dépassent les 10 % [4, 47]. Le rôle des alcaloïdes dans la plante reste encore moins clair. Probablement ils sont considérés comme une réserve d'azote en cas de son manque dans le sol.

Chapitre II

Allium sativum

I. Généralités

I.1. Position systématique: Selon **Fritsch et Friesen** l'ail (*Allium sativum* L.) appartient à [48]:

Classification classique

- ❖ Règne: *Plantae*
- ❖ Sous règne: *Tracheabionta*
- ❖ Division: *Magnoliophyta*
- ❖ La classe: *Liliopsda*
- ❖ Sous classe: *Liliidae*
- ❖ Super ordre: *Lilianae*
- ❖ Ordre: *Liliales*
- ❖ Famille: *Alliacées*
- ❖ Sous famille: *Allioideae*
- ❖ Tribu: *Allieae*
- ❖ Genre: *Allium*

✓ Classification phylogénétique

Nom scientifique: *Allium sativum* L

Nom commun: Ail, ail cultivé, ail à tige tendre, thériaque des pauvres.

Nom vernaculaire arabe: ثوم

Parties utilisés: Bulbe

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

Le genre *Allium* comprend plusieurs centaines d'espèces (ex : poireau, oignon, ciboule) originaire de l'hémisphère Nord [49].

I.2. Description botanique:

L'ail cultivé, ou *Allium sativum* est une plante monocotylédone, vivace, donnant des caïeux (gousses d'ail, bulbilles) appréciés dans le domaine culinaire pour leur goût et leur odeur caractéristiques. La figure 3 représente la plante. La partie souterraine se compose d'un bulbe composé de nombreuses racines fibreuses. Le bulbe se prolonge à la surface en une tige entourée de feuilles engainantes, linéaires, planes et lisses, mesurant 1 à 2,5 cm de large et 30 à 60 cm de long. Les inflorescences sont des ombelles. De petites bulbilles sont produites dans les inflorescences. Les fleurs sont variables en nombre et parfois absentes. Rarement ouvertes, elles peuvent se défraîchir dans le bourgeon. Les fleurs sont installées au bout de pédicelles minces et se composent d'un périanthe de 6 pièces d'environ 4-6 mm de long, rosâtre ou blanc, en cloche ; de 6 étamines ; et d'un ovaire supérieur trilobé. Le fruit est une petite capsule déhiscence locale. Les graines sont rarement produites. Les gousses rassemblent 12 à 16 bulbilles. Ces derniers ont un diamètre de 5 à 10 mm et sont composées d'une enveloppe externe, d'une épiderme renfermant un mésophile non chlorophyllien ; de parenchyme et d'une assise de cellules épidermiques inférieures [50].



Figure 03. Les caractéristiques botaniques de l'ail *Allium sativum* [51]

I.3. Variétés du l’ail cultivées en Algérie

Le tableau N°2 représente les variétés de l’ail qui peuvent être cultivée avec succès en Algérie.

Tableau N°02 : Variétés d’ail cultivé en Algérie[52]

Variétés	Grosseur de bulbe	Nombre de caieux	Couleur	Conservation	Précocité	Consommation
Blanc de la drome	70à120grs	7à12	Jauneivoire	Faible	Bonne	Vert ou demi-sec
Messidrome	10à135grs	-	Ivoire	Idem	Bonne	Idem
Rose Lautrec	6à80grs	10à12	Rose	Bonne	Demi précoce	-
Violet de Kadours	70à115grs	10à15	Violet	Moyenne	Bonne	-
Rose Kabylei	80à90grs	10à15	Blanc rose	Bonne	Demi-sec	-
Rose d’Espagne	80à90grs	10à12	Rose	Bonne	Demi précoce	-
Thermidrome	Sélection de la meilleure qualité du blanc de la drome plus rustique que messidrome					

I.4 .Principaux composés actifs

L'ail est riche en glucides , sélénium et vitamines ,A ,B ,Cet E.Il renferme des composés soufrés,(allicine,ajoène) .On attribue à certaines de ces composés plusieurs roles c' est le cas entre autre des composés sulfurés, associés à la fois à la présentation du cancer et des maladies cardiovasculaires.Soulignons que les molécules phytochimiques de l'ail ne sont pas toutes actives dans l'organismes et que certaines restent encore à être découvertes.Mentionnons que les principes actives contenus dans l'ail travaillent de façon synergique afin de produire différents effets sur la santé [53].

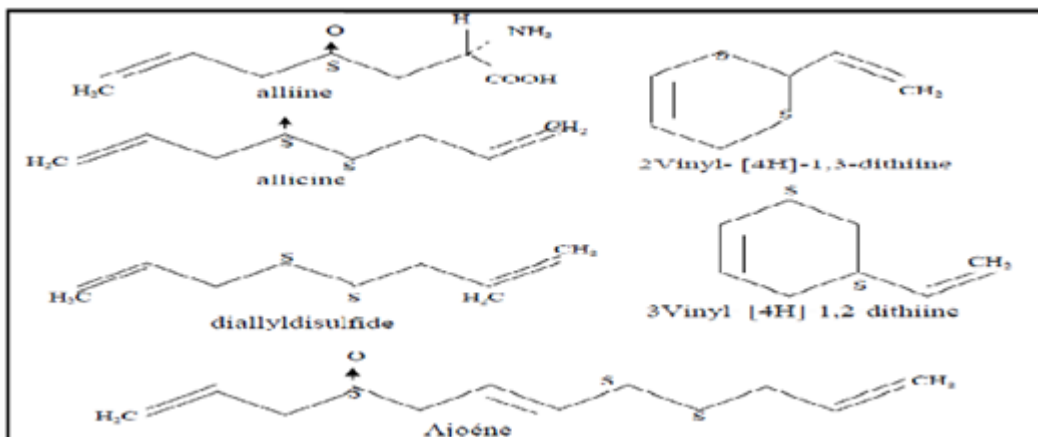


Figure04. les principaux composés sulfurés de l'*Allium sativum*

Les composés sulfurés sont des substances nommées ainsi car elles contiennent un ou des atomes de soufre dans leur structure chimique. Les composés sulfurés sont libérés lorsque l'ail est coupé, broyé ou écrasé. À ce moment, l'alliine (une molécule, inactive et inodore de l'ail) entre en contact avec un enzyme et se transforme en allicine, qui est la molécule responsable de l'odeur caractéristique de l'ail [54].

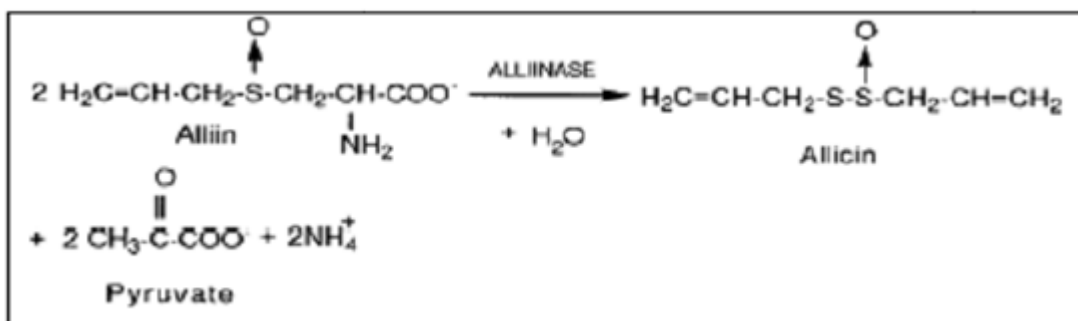


Figure05. Réaction de transformation de l'alliine en allicine

L'allicine est un des composés sulfurés prédominants dans l'ail (responsable de son odeur caractéristique et de son action physiologique). Il est produit lors d'une réaction enzymatique de l'alliine, qui est un produit chimique inerte en réponse à une agression (ail coupé, broyé ou écrasé). Cette substance a été isolée par des chercheurs suisses en 1920. Par la suite, l'allicine est transformée en d'autres composés sulfurés tels que diallylsulfide, le diallylsulfide et l'ajoène. Ce sont principalement ces composés qui pourraient empêcher

certaines cellules cancéreuses de se multiplier et ainsi protéger l'organisme contre de potentiels agents cancérogènes[55].

I.5. Effets thérapeutiques de l'ail

I.5.1. Effets sur le système vasculaire

Il a récemment été prouvé que l'ail contenait de l'ajoène qui tout comme l'aspirine augmente la fluidité et diminue la tension artérielle [56]. Ainsi,[57]ont observé chez le lapin, que l'injection systémique de fractions purifiées d'ail déclenche une diminution progressive de la fréquence cardiaque sans modification de la pression artérielle[56],[58]considèrent que des extraits d'ail peuvent prévenir l'altération du système vasculaire, en particulier l'endothélium vasculaire.

I.5.2.Effets anti-cancérigènes

On a même attribué à l'ail,de puis quelques années, une action anticancérigène.Des études ont montré qu'il y avait moins de personnes atteintes par des cancers dans les populations faisant une grande consommation du bulbe[59]. L'extrait d'ail peut aussi augmenter le taux de combativité du système immunitaire pour le protéger notamment contre certains types de cancer comme celui de l'estomac, du colon et de la peau [60]. Le Dailydisulfide (DADS) peut inhiber la croissance des cellules du cancer du sein [61].

I.5.3. Effets antioxydants

L'ail contient différents composés antioxydants tels que des flavonoïdes et des Tocophérols, en plus des composées sulfurés qui contribuent aussi à son action anti-oxydante [62;63;64].

La consommation d'ail frais augmenterait l'activité anti-oxydante dans le plasma chez les rats [63].

Des recherches ont démontré que l'allicine possédait un pouvoir anti-oxydant puisqu'elle augmente les taux sanguins de la catalase et du glutathion peroxydase, deux enzymes anti-oxydantes très puissantes [64].

I.5.4. Effets hypoglycémiants

L'ail aide à diminuer le taux d'insuline et assure un meilleur stockage du glycogène hépatique et ce en raison de l'un de ses composants soufrés, le S-allyl cystéine.[65].

En effet, son administration diminue significativement la lipidémie, la glycémie ainsi que certaines activités enzymatiques du sang telles que la Phosphatase acide, la Lactate déshydrogénase et la Glucose-6-phosphatase [65].

I.5.5.Effets hypolipémiants

L'ail a des effets sur le taux de cholestérol sérique grâce aux propriétés de l'allicine. Il est capable d'abaisser le taux du LDL cholestérol (mauvais cholestérol) néfaste et d'augmenter le HDL cholestérol (bon cholestérol) [67,68,69]. Une prise d'extrait d'ail durant un mois stabilise le taux de cholestérol à 0.03-0.45 mol/l (1.2-17.3 mg/l)[70].

I.5.6.Effets antifongiques

L'extrait d'ail possède un effet fongicide et il peut aussi empêcher la formation des mycotoxines comme l'aflatoxine pour *Aspergillus parasiticus*. Cette inhibition est essentiellement due à l'allicine. Un extrait concentré d'ail, contenant 34% d'allicine, 44% de thiosulfates totaux et 20% de vinydithiols, semble posséder une activité fongicide contre trois isolats différents de *Cryptococcus neoformans* in vitro. La concentration minimale inhibitrice de l'extrait concentré d'ail contre 10 organismes de *C. neoformans* est de l'ordre de 6 à 12 µg/ml. L'allicine pur s'est révélée très efficace contre les espèces de *Candida*, *Cryptococcus*, *Trichophyton*, *Epidermophyton* et *Microsporum* à une faible concentration et avec une CMI qui varie de 1,57 à 6, 25 µg/ml. [71]

I.5.7. Effets anti-parasitaires

Entamoeba histolytica, protozoaire parasite de l'intestin de l'homme s'est révélé être très sensible à l'allicine. Seulement 30 µg/ml d'allicine inhibe totalement la croissance de la culture d'amibe [72] Cet effet est dû à son action inhibitrice des enzymes thioliques présentes chez ce micro-organisme comme la cystéine-protéase et l'alcool-déshydrogénase [73].

I.5.8 .Effets anti-viraux

L'allicine et ses produits de transformation semblent être efficaces contre l'Herpes simple x virus type 1 et type 2, le Parainfluenzavirus type 3, le virus de la variole, le virus de la stomatite vésiculaire et le rhinovirus humain type 2 [74]. Le produit de condensation de l'allicine, l'ajoène, semble avoir en général une activité anti-virale plus importante que celle de l'allicine. En effet, il s'est avéré capable de bloquer le processus intégrin-dépendant des cellules infectées chez l'Homme immun déficient [74]. Il semble protéger les cellules CD4+ contre l'infection par le VIH lors des stades précoces du cycle viral.

I.5.9. Effets antibactériens

Les effets de l'ail sur les bactéries sont connus depuis longtemps. Des préparations d'ail se sont avérées avoir une activité antibactérienne contre les bactéries à Gram positif et à Gram négatif: *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Bacillus*, *Clostridium*, . Les bactéries acido *Escherchia coli*, *Salmonella-résistantes* comme *Mycobacterium tuberculosis* sont aussi sensibles à l'ail [75].

Dans une étude réalisée sur une population d'une région de Chine, une consommation élevée d'ail (plus de 5kg par année par personne, soit l'équivalent d'environ quatre à cinq gousses d'ail par jour) a été associée à une diminution des infections à *Helicobacter pylori* [76]. En effet l'extrait d'ail a un effet contre *Helicobacter pylori*, mise en cause dans des ulcères gastriques [77,78].

Chapitre III
Les infections
Bactériennes

I. Les infections bactériennes

Une infection bactérienne est un ensemble de troubles qui résultent de la pénétration d'une bactérie pathogène dans un organisme.

Elle peut être:

- ✓ Locale, lorsqu'elle se manifeste uniquement au niveau où les germes ont pénétré.
- ✓ Générale, lorsqu'un germe franchit les barrières opposées par l'organisme à son entrée (Peau, muqueuses) ou au niveau des ganglions; il pénètre dans le sang et se dissémine par celui-ci dans tout l'organisme.
- ✓ fécale : c'est l'infection en foyer dans les tissus ou organes où les germes sont apportés par la circulation sanguine [79].

II. Traitement des infections bactériennes par les antibiotiques

II.1. Définition des antibiotiques

On appelle « Antibiotique » toute substance naturelle d'origine biologique élaborée par un organisme vivant, substance chimique produite par synthèse ou substance semi synthétique obtenue par modification chimique d'une molécule de base naturelle ayant les propriétés suivantes :

- ✓ Activité antibactérienne
- ✓ Activité en milieu organique
- ✓ Une bonne absorption et bonne diffusion dans l'organisme

Les antibiotiques ont la propriété d'interférer directement avec la prolifération des micro-organismes à de concentrations tolérées par l'hôte [80].

II.2. Classifications des antibiotiques

La classification des antibiotiques peut se faire selon :

Origine : élaboré par un organisme (naturel) ou produit par synthèse ou (synthétique semi-synthétique)

Mode d'action : paroi, membrane cytoplasmique, synthèse des protéines, synthèse des acides nucléiques

Spectre d'activité : liste des espèces sur lesquelles les antibiotiques sont actifs (spectre étroit ou large)

Nature chimique : très variable, elle est basée souvent sur une structure de base (ex : cycle β lactame) sur laquelle il y a hémisynthèse [81].

II.3. Résistance aux antimicrobiens « antibiotique »

On parle de résistance d'une bactérie à un antibiotique lorsque cette bactérie est capable de continuer à se développer en présence de l'antibiotique en question. Il existe une grande variété de mécanismes d'action que l'on peut regrouper dans les grandes catégories suivantes :

✓ **La mutation de la cible de l'antibiotique**

Chaque antibiotique agit en se fixant sur une cible précise dans la cellule : paroi, ribosome...

La présence d'une modification consécutive à une mutation modifie le site de fixation et empêche ainsi la liaison de l'antibiotique [82].

✓ **La modification de la cible de l'antibiotique.**

Une enzyme spécifique effectue une modification chimique covalente de la cible, par exemple une méthylation, ce qui inhibe la fixation de l'antibiotique, comme dans le cas précédent, mais sans qu'il y ait altération du génome. Ce type de mécanisme est rencontré dans la résistance aux macrolides, où il existe une méthyle qui confère la résistance en modifiant l'ARN ribosomique au niveau du site de liaison de l'antibiotique.[82]

✓ La sur-expression de la cible de l'antibiotique

En produisant d'avantage de la macromolécule ciblée, la bactérie arrive à maintenir suffisamment d'activité biologique pour se développer, malgré la présence de l'antibiotique. [82]

✓ Le contournement métabolique

La bactérie active une voie métabolique alternative qui prend le relai de voie métabolique bloquée par l'antibiotique. La fonction biologique est ainsi maintenue.[82]

✓ La modification de l'antibiotique.

De nombreuses souches résistantes fabriquent une enzyme qui modifie ou qui clive la molécule d'antibiotique, la rendant inactive. C'est le mécanisme principal de résistance aux β -lactamines (famille de la pénicilline et des céphalosporines) qui implique les enzymes de la famille des β -lactamases[82].

✓ La réduction de la perméabilité membranaire.

La bactérie « ferme » les pores par lesquels l'antibiotique pénètre dans la cellule. Ces pores sont normalement constitués par des protéines qui forment de canaux et que l'on appelle des porines. Les bactéries résistantes réduisent leur nombre de porines[82]

✓ L'efflux des antibiotiques

Les bactéries sont capables d'éliminer les antibiotiques par pompage actif hors de la cellule, qui « recrache » littéralement les composés toxiques au dehors. C'est l'un des principaux mécanismes de résistance de *Pseudomonas aeruginosa*, pathogène opportuniste responsable de nombreuses infections nosocomiales [82].

✓ Défense altruiste

Des bactéries très résistantes sont capables de synthétiser l'indole en très grande quantité pour subvenir aux besoins des bactéries sensibles. Ce composé organique possède une double fonction de résistance : efflux des antibiotiques et activation d'une voie

métabolique empêchant la synthèse de radicaux libres qui peut être favorisée par l'antibiotique [83]

III. Activité antibactérienne des extraits des plantes

L'utilisation des antibiotiques conduit dans la très grande majorité des cas à la sélection de populations microbiennes résistantes. Cette résistance est due à des mutations chromosomiques ou à l'acquisition de gènes de résistance portés par des éléments génétiques mobiles (plasmides, phages, transposons, intégrons). Ces résistances ont conduits à chercher de nouveaux agents antimicrobiens possédant une efficacité plus importante que les drogues synthétiques d'une part et bien acceptés par l'organisme d'autre part (sans exercer des effets délétères sur la santé humaine)[84]. Beaucoup de groupes de recherches ont étudié l'activité antimicrobienne des extraits de plantes médicinales telles que Fenouil (*Foeniculum vulgare*), menthe (*Mentha piperita*), thym (*Thymus vulgaris*), ils ont trouvé que ces extraits sont actifs non seulement contre les bactéries mais aussi contre les champignons, les levures et les virus[85]. D'autres groupes de chercheurs ont franchi une étape plus loin, ils ont isolé et identifié les métabolites responsables de l'activité antimicrobienne des extraits de plantes, cette étape constitue une plateforme pour plusieurs implications incluant l'industrie pharmaceutique, la médecine alternative, et la thérapie naturelle [86].

IV. Description des souches bactériennes étudiées

IV.1. *Salmonella* ssp

Les salmonelles (*Salmonella*) forment un genre de protéobactéries appartenant à la famille des entérobactéries. Elles mesurent 0,7 à 1,5 µm de diamètre, pour 2 à 5 µm de longueur avec un flagelle. Elles provoquent des maladies telles que la fièvre typhoïde, la fièvre paratyphoïde et la toxi-infection alimentaire.

✓ Classification

Règne: *Bacteria*

Embranchement: *Proteobacteria*

Classe: *Gamma Proteobacteria*

Ordre : *Enterobacteriales*

Famille: *Enterobacteriaceae*

Genre: *Salmonella ssp*

IV.2. *Listeria monocytogenes*

Listeria est un petit bacille à Gram positif, régulier, non sporulant, de 0,4 à 0,5 µm de diamètre sur 0,5 à 2 µm de longueur, aux extrémités arrondies, quelques cellules peuvent être incurvées. Les cellules sont isolées ou regroupées en courtes chaînes, elles font parfois des angles V entre elles, non acide-alcool résistants, non capsulées, aérobies anaérobies facultatifs.

Peu ou pas mobiles à 37° C, *Listeria* est toujours mobile à 22- 25° C. Cette particularité est un caractère important dans le diagnostic bactériologique. La ciliature est de type péritriche, avec un nombre de flagelles compris entre 1-5 et la mobilité est caractéristique car la bactérie semble tourner sur elle-même.

Cette mobilité à 22° C permet également de différencier *Listeria* des bactéries immobiles comme *Erysiphthrixet* la plupart des *Corynebacterium*[87,88, 89]

✓ **Classification**

Règne: *Bacteria*

Embranchement: *Firmicutes*

Classe: *Bacilli*

Ordre: *Bacillalles*

Famille: *Listeriaceae*

Genre: *Listeria*[90]

IV.3. *Bacillus subtilis*

C'est une bactérie à Gram + sa longueur varie de 2 à 4 µm et sa largeur de 0,5 à 2 µm. Elle a pour forme cellulaire des bâtonnets droits à bout arrondis. Elle est mobile grâce à une ciliature péritriche (un système de flagelle qui recouvre tous les côtés de la surface d'une bactérie). Elle est aérobie stricte, sa température optimale est de 40 °C (espèce mésophile) et son type trophique est chimio-hétérotrophe. Enfin, son temps de génération est d'environ 26 minutes. Les conditions optimales de croissance de cette souche se situent pour un pH compris entre 5,5 et 8,5, et à une température de 10 °C à 50 °C.[91]

✓ **Classification:**

Règne:*Bacteria*

Embranchement:*Firmicutes*

Classe:*Bacilli*

Ordre:*Bacillales*

Famille:*Bacillaceae*

Genre: *Bacillus*

IV.4. *Klebsiella oxycota*

Le genre *Klebsiella* rassemble des bacilles à Gram négatif de 0.3 à 1.0 µm de diamètre sur 0.6 à 6 µm de longueur, se présentant de manière isolée, ou groupés par deux ou en court chaîne et présentant les caractères généraux de la famille des *Enterobacteriaceae* [92]

✓ **Classification**

Règne :*Bacteria*

Embranchement :*Protéobactéria*

Classe :*Gamma proteobacterales*

Ordre :*Enterobacterales*

Famille :*Enterobacteriaceae*

Genre:*Klebsiella*

Chapitre IV

Matériel et Méthodes

I. Matériel et Méthodes

Notre travail expérimental ayant pour objet l'investigation phytochimique et l'étude de l'activité antibactérienne de l'extrait méthanolique brut de l'*Allium sativum*. L'étude expérimental a été effectuée au sein du laboratoire de Biochimie, Université Abbés Laghrour - Khenchela.

I.1. Matériel biologique

I.1.1. Matériel végétal

Le matériel végétal est constitué d'une racine a bulbe d'ail, cette dernière est récoltée de la région d'Elharrouche de la wilaya Skikda (Algérie) durant le mois de juin de l'année 2015, la plante fraîchement récoltée est conservée à l'ombre dans un endroit sec et aéré.

La situation et la carte géographique de la région de la récolte sont illustrées dans le **tableau 03** et **figure 06**.

Tableau 03. Situation géographique de la région de la récolte

Région	Altitude	latitude	Longitude	Etat bioclimatique
EL Harrouche	Entre 200 et 250m	36°et 37°N	6°et 7°W	Hiver : tempéré Eté: chaud et sec

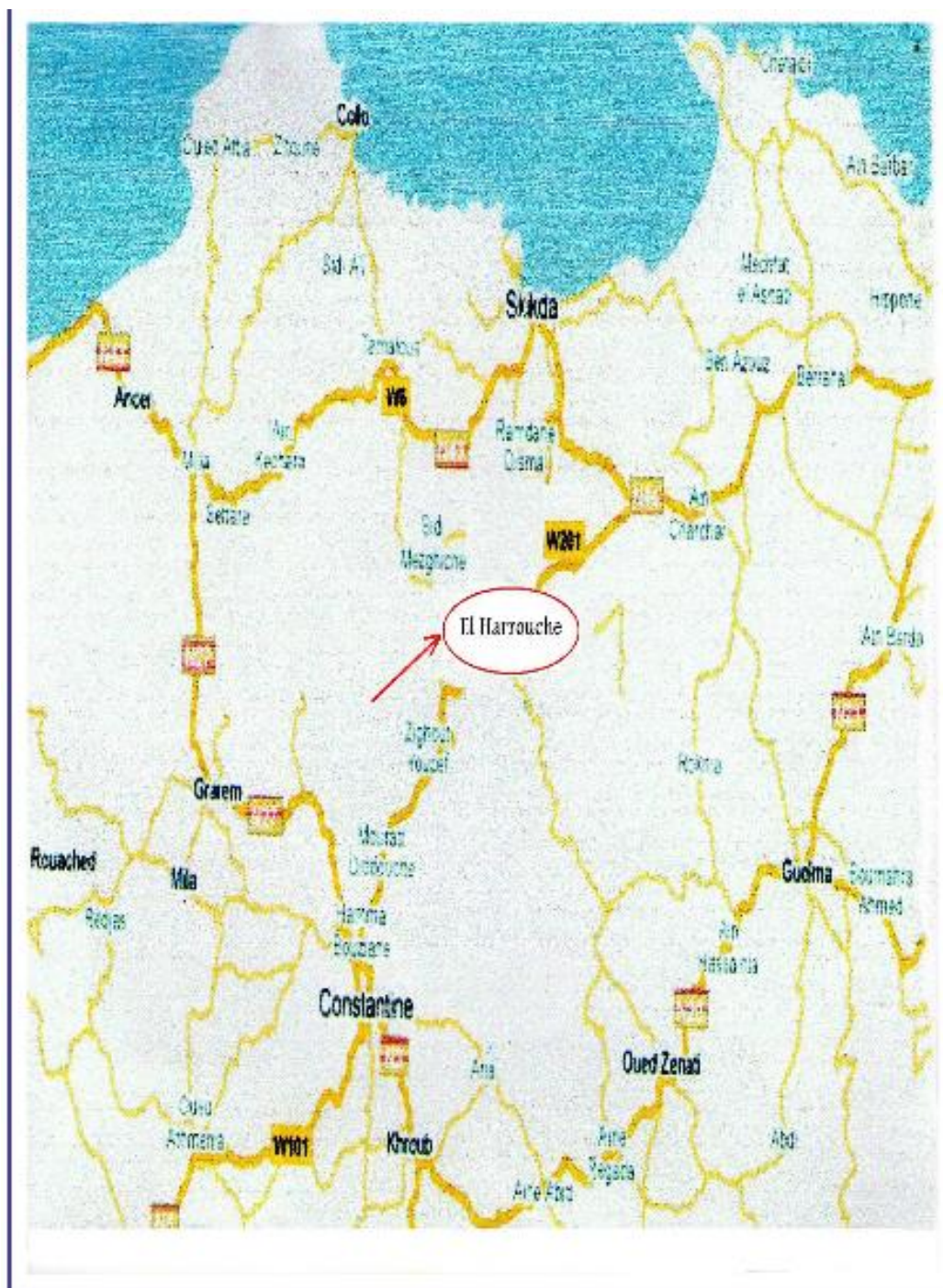


Figure.06 Carte géographique montre la région de la récolte[93]

I.2. Réactifs chimiques et instrumentations

Plusieurs réactifs chimiques et solvants ont été utilisés dans nos expériences, parmi ces produits: FeCl_3 , acide sulfurique (H_2SO_4), Dimethylsulfoxyde (DMSO), HCl , acide acétique, NaOH , Plaque CCM, NH_4OH , KI , I_2 , Toluène, acide

formique, NaCl, Na₂SO₃, AlCl₃, méthanol, chloroforme, acétone, quercétine, acide gallique.

I.3. Les souches bactériennes

Afin de tester le potentiel antimicrobien de l'extrait d'*Allium sativum* in vitro, quatre souches bactériennes, deux Gram positif *Bacillus subtilis* (ATCC 21332), *Listeria monocytogenes* (ATCC 25922), et deux Gram négatif: *Klebsiella oxytoca* (ATCC 25922) et *Salmonella* ssp sont utilisées. Les souches utilisées sont largement rencontrées dans diverses pathologies chez l'Homme, les souches bactériennes testées proviennent de la collection American types culture collection ATCC Fourmies par l'Institut Pasteur d'Algérie (IPA).

Parmi l'appareillage utilisé : Rotavapeur (HAHNVAPOR), Spectrophotomètre UV-Vis à double faisceau (JENWAY 6305 UV/VIS), Chambre d'observation UV, Bain Marie (MEMMERT), Etuve (MEMMERT), Autoclave (SANO.CLAV), agitateur magnétique (SCIOLOGEX), vortex (VELP) et balance de précision (OHAUS).

II. Méthodes

II.1. Préparation de l'extrait méthanolique

L'extrait est préparé en fragmentant rapidement l'ail (flocons d'environ 5 mm d'épaisseur) et en le séchant à l'air libre dans un endroit sec et aéré, puis pulvérisé en poudre.

La méthode de Markham [94] était suivie pour la préparation d'extrait méthanolique, 175g de la poudre ont été mise à macérer dans un mélange méthanol/eau (7 : 3V/V) pendant 24 heures à température ambiante. Cette opération est répétée trois fois avec renouvellement du solvant. L'extrait hydro alcoolique est récupéré dans un premier temps après filtration du mélange, le méthanol est éliminé du filtrat par évaporation sous pression réduite en utilisant un rotavapeur (HAHNVAPOR) à la température 50°C permettant ainsi d'obtenir l'extrait méthanolique qui est conservé à +5°C.



Figure 07 .photo du rota vapeur utilisé pour sécher l'extrait méthanolique

II.2. Détermination du rendement d'extraction

Le rendement de l'extrait méthanolique est le rapport entre le poids de l'extrait sec et le poids de la plante en poudre utilisée. Il est exprimé en pourcentage selon la formule suivante :

$$\text{Rendement d'extraction (\%)} = P_s / P_p \times 100$$

Où :

P_s : Poids de l'extrait sec en gramme (g)

P_p : Poids de la poudre en gramme (g).

II.3. Screening chimique des plantes

Le screening chimique est un ensemble de réactions chimiques qui permettent d'identifier la présence des principales catégories des substances chimiques naturelles contenues dans une plante et responsables de propriétés pharmacologiques.

Les tests phytochimiques sont réalisés sur l'extrait brut méthanolique de l'*Allium sativum* et les résultats obtenus ont été évalués comme suit :

+ : Franchement positif ; - : Négatif ; ND : Non déterminé.

II.3.1. Recherche des tanins

2 à 3 gouttes de la solution de FeCl₃ à 2%, sont ajoutées à 2 ml de l'extrait brut méthanolique. La solution obtenue est reposée pendant quelques minutes et le test est considéré positif s'il ya l'apparition d'une coloration bleue-noire et un précipité[95].

II.3.2. Recherche des saponosides

-Test 1 : 5 ml de l'extrait brut méthanolique sont mélangés avec 10 ml d'eau distillée pendant 2 min. La formation d'une mousse persistante après 15 min confirme la présence des saponosides[95].

-Test 2 : 5 ml de l'extrait sont mélangés avec 2 ml de chloroforme et 3 ml d'acide sulfurique concentré. Une couleur rouge-marron de la ckjyouche d'interface indique la présence des tri terpènes hétérosidiques[96].

II.3.3. Recherche des flavonoïdes

5 ml de l'extrait méthanolique sont traités avec quelques gouttes d'AlCl₃ (1%). La présence des flavonoïdes est confirmée par l'apparition d'une couleur jaune [97].

II.3.4. Recherche des coumarines

Les résidus secs sont dissous dans l'eau distillée par chauffage. Après refroidissement, la solution obtenue été répartie dans 2 tubes à essai. Le premier sert de témoin et on ajoute 05 ml de NH₄OH 10% dans le 2ème tube. L'apparition d'une fluorescence bleue ou verte à la lampe UV 365 nm indique la présence des coumarines[98 ; 99].

II.3.5. Recherche des composés réducteurs

Ce test est basé sur la réaction de Keller-Kilian, 5 ml d'acide acétique contenant des traces de FeCl₃ et 5 ml d'acide sulfurique contenant des traces de FeCl₃ sont ajoutés à 1 ml de l'extrait. La présence des composés réducteurs est confirmé par la formation de deux phases, une colorée en brun rouge (acide acétique) et la deuxième en bleu-vert (acide sulfurique) [96].

II.3. 6. Recherche des alcaloïdes

Ce test est fait pour révéler la présence ou l'absence des alcaloïdes sels. 5 ml d'HCl (2N) sont ajoutés à l'extrait et chauffer dans un bain marie. Après la Filtration, le filtrat est traité avec le réactif de Wagner (2g de KI et 1,27g d'I₂ solubilisé dans 100 ml d'eau distillée). La présence de turbidité ou de précipitation indique la présence des alcaloïdes sels [97].

II.4. Etude qualitative

II.4.1. Identification des flavonoïdes par chromatographie sur couche mince (CCM):

Cette méthode se repose sur la séparation des différents constituants d'un extrait selon leur force de migration dans la phase mobile qui est en générale un mélange de solvant, adapté au type de séparation rechercher, et leur affinité, vis-à-vis la phase stationnaire qui peut être un gel de silice ou de polyamide. Les techniques chromatographiques ne sont pas suffisantes pour identifier un produit mais elles apportent des renseignements (Rapport frontal -R_f- et coloration) susceptibles d'orienter vers une hypothèse de structures.[100].

➤ Protocole de CCM sur gel de silice

Les analyses par CCM ont été effectuées avec des plaques de silica gel, sur support rigide en aluminium 20/20 Cm.

- L'extrait est déposé à l'aide d'une micropipette (2 µl) à des points repères à 1.5 cm du bord inférieur de la plaque.
- les plaques sont placées dans les cuves de développement, à environ 0,5 cm de hauteur. dans les quelles se trouve 2 systèmes de migration appelés phase mobile constitué de :

BAW : Butanol, Acide acétique, H₂O (4 : 1 : 5).

Acétone, H₂O (1 :1).

Après développement, les plaques sont séchées ,puis visualisées séparément par une révélation physique sous lampe UV à 254 et 365 nm.

Pour chaque spot on a calculé le facteur de rétention qui est égal à la distance parcourue par le constituant/ la distance parcourue par le solvant. Les rapports frontaux des spots sont comparés à ceux des témoins permettant ainsi l'identification des constituants de différents extraits.[101].

II.5. Etude quantitative

II.5.1. Dosage des polyphénols :

Le dosage des polyphénols totaux a été effectué avec le réactif colorimétrique Folin Ciocalteu selon la méthode citée par [102].

II.5.1.1. Principe

La teneur phénolique totale est habituellement déterminée colorimétriquement avec le spectrophotomètre UV-Vis en utilisant l'essai de Folin-Denis ou généralement Folin-Ciocalteu. Ces essais sont basés principalement sur la réduction du réactif acide phosphotungstique phosphomolybdique (réactif Folin) dans une solution alcaline [103]. Brièvement 200 µl de chaque extrait (dissous dans le méthanol) ont été ajoutés à 1ml de réactif de Folin-Ciocalteu 10 fois dilué. Les solutions ont été mélangées et incubées pendant 4 minutes.

Après l'incubation 800 µl de la solution de carbonate de sodium Na_2CO_3 (7,5g/l) a été ajoutée. Le mélange final a été secoué et puis incubé pendant 2 heures dans l'obscurité et température ambiante. L'absorbance des extraits a été mesurée par un spectrophotomètre à 765 nm.

II.5.1.2. Expression des résultats

La concentration des polyphénols totaux est calculée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage établie avec le standard étalon l'acide gallique (5-200 µg/ml) et exprimée en microgrammes d'équivalents d'acide gallique par milligramme d'extrait (µg EAG /mg).

II.5.2. Dosage des flavonoïdes

La méthode de trichlorure d'aluminium (AlCl_3) cité par Djeridane [104] est utilisée pour quantifier les flavonoïdes dans nos extraits.

II.5.2.1. Principe

1ml de chaque extrait et du standard (dissous dans le méthanol) avec les dilutions convenables a été ajouté à un volume égal d'une solution d' AlCl_3 (2% dans le méthanol). Le mélange a été vigoureusement agité et l'absorbance à 430 nm a été lue après 10 minutes d'incubation.

II.5.2.2. Expression des résultats

La quantification des flavonoïdes a été faite en fonction d'une courbe d'étalonnage linéaire ($y=ax+b$) réalisée par un standard et on la quercétine "à différentes concentrations (1.75-40 $\mu\text{g/ml}$).

Dans les mêmes conditions que l'échantillon. Les résultats sont exprimés en microgrammes d'équivalent de quercétine par milligramme d'extrait ($\mu\text{gEQ/mg}$).

III. Etude de l'activité antibactérienne

Dans le présent test, nous avons utilisé la technique de diffusion en milieu gélosés sur boîtes de pétri en adaptant la méthode de disques décrite par Bauer [105]. Pour les résultats montrant un effet positif contre les souches bactériennes testées.

III.1. Méthode des disques - Tests d'efficacité

L'étude du pouvoir antibactérien par cette technique a été identique à celui de l'antibiogramme, la seule différence c'est le remplacement des antibiotiques par l'extrait d'*Allium sativum*.

✓ Préparation de l'inoculum

À partir d'une culture pure sur milieu gélosé des bactéries à tester (ayant au maximum 24h), racler à l'aide d'une anse de platine quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques. Décharger l'anse dans 5ml d'eau physiologique stérile à 0.9%. Bien homogénéiser la suspension bactérienne. L'ensemencement doit se faire en moins de 15 min après la préparation de l'inoculum.

✓ **L'ensemencement**

Le milieu de culture utilisé est Muller-Hinton, qui est le milieu le plus employé pour les tests de sensibilité aux agents antibactériens. Couler 20ml de la gélose Muller-Hinton dans chaque boîte de pétri et laisser solidifier. Tremper un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne, l'essorer en le suspension bactérienne, l'essorer en le pressant fermement, en tournant sur la paroi interne du tube, afin de le décharger au maximum. Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, sèche, de haut en bas, en stries serrées. Répéter l'opération deux fois, en tournant la boîte de pétri 60° à chaque fois, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même. Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.

NB. Dans le cas de l'ensemencement de plusieurs boîtes de pétri il faut recharger l'écouvillon à chaque fois.

✓ **Préparation des disques d'aromatogramme**

- Stériliser du papier Wattman n°3 coupé en disques de 6mm de diamètre à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes ;
- Imprégner les disques avec 30µl de différents extraits repris dans le méthanol pour à raison de 200 mg/ml (6mg par disque). Finalement on prépare des disques imprégnés de DMSO (le contrôle négatif).
- Les disques imprégnés de notre extrait sont ensuite délicatement déposés à la surface de la gélose. Il en est de même pour les disques de contrôle.

✓ Incubation et lecture

-Les diamètres des zones d'inhibition(ZI) sont mesurés au tour des disques après une pré-incubation de 30minutes à la température ambiante suivie d'une incubation à l'étuve à 37°C pendant 24 ou 48 heures selon le germe;

-Les expériences sont réalisées en trois répétitions et les résultats sont exprimés en moyenne \pm SD (standard déviation). La souche ayant un diamètre $D < 8\text{mm}$, $9 \leq D < 14\text{mm}$, $15 \leq D \leq 19\text{mm}$, $D > 20\text{mm}$ est considérée respectivement comme souche résistante (-), sensible (+), très sensible (++) , extrêmement sensibles (+++).

IV.Etude statistique

Chaque expérience est répétée trois fois et les valeurs sont représentées par les moyennes \pm cart type.

Chapitre v

Résultats et Discussion

Résultats et Discussion

Le présent travail porte sur l'investigation phytochimique et l'évaluation de l'activité antibactérienne de l'extrait méthanolique d'une espèce locale de la plante médicinale *Allium sativum*.

I.1.Le rendement d'extraction

L'extrait méthanolique a été préparé à partir de la poudre d'*Allium sativum* dont le rendement est représenté dans le tableau ci-dessus:

Tableau04.Le rendement d'extrait méthanolique d'*Allium sativum*

La plante	Le poids du matériel végétal en (g)	Le poids de l'extrait en (g)	Le rendement en (%)	Couleur et aspect
<i>Allium sativum</i>	174 ,701 (g)	31.22 (g)	17.87 (g)	Marron visqueux

L'opération de l'extraction du matériel végétale de l'*Allium sativum* à l'aide du solvant polaire (hydroalcoolique) méthanol-eau (7/3) a permis d'obtenir un résidu sec d'extrait brut de 31.22 g [106].

La macération est une méthode discontinue, le solvant devrait être remplacé jusqu'à ce que la matière végétale soit épuisée [107], il est difficile de comparer ces résultats avec ceux de la bibliographie de matière générale. En effet, le rendement n'est pas relatif; il varie en fonction de la localisation géographique de l'espèce végétale, le degré de maturité, la génétique, le climat, la période de récolte l'organe utilisé dans l'extraction, les conditions de séchage, le contenu de chaque espèce en métabolites (de son métabolisme) et de la nature du solvant utilisé dans l'extraction ou fractionnement et de sa polarité [107].

II. Tests de mise en évidence de certains composés phytochimiques

Le screening phytochimique nous a permis de mettre en évidence la présence des métabolites secondaires au niveau des tissus végétaux de notre extrait brut. La détection de ces composés chimiques est basée sur des essais de solubilités des constituants, des réactions de précipitation et de turbidité, un changement de couleur spécifique ou un examen sous la lumière ultraviolette. Les résultats expérimentaux des tests phytochimiques réalisés sur le matériel végétal broyé (bulbes) sont mentionnés dans (le tableau 05).

Tableau05. Analyse phytochimique préliminaire d'extrait méthanolique d'*Allium sativum*

Extrait méthanolique d' <i>Allium sativum</i>		
Famille chimique	Test	Remarques
Les saponosides	(+)	Formation d'une mousse persistante après 15 min
Les flavonoids	(+)	Apparition d'une coloration jaune
Les tannins	(-)	Apparition d'une coloration jaune
Les composés réducteurs	(+)	Apparition de deux phases séparées (colorée rouge et l'autre en bleu vert)
Les alcaloïdes	(-)	Apparition d'une coloration jaune
Les coumarines	(+)	Apparition d'une fluorescence bleue ou verte sous la lampe UV

Les résultats sont interprétés comme suit:(+) réaction positive, (-) réaction négative.

La richesse de cet extrait en composés chimiques peut expliquer son utilisation traditionnelle pour traiter les troubles digestives, la diarrhée, le rhumatisme,...etc.

III. Résultats de l'analyse quantitative

III.1. Dosage des polyphénols totaux

La quantification des composés phénoliques a été faite en fonction d'une courbe d'étalonnage linéaire ($Y=0.00523+0.0296$) réalisée par une solution étalon (l'acide gallique) à différentes concentrations(**Figure 08**) dont la teneur en polyphénols totaux est exprimée en microgramme équivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait ($\mu\text{g EAG/mg d'extrait}$). (**Figure 09**)

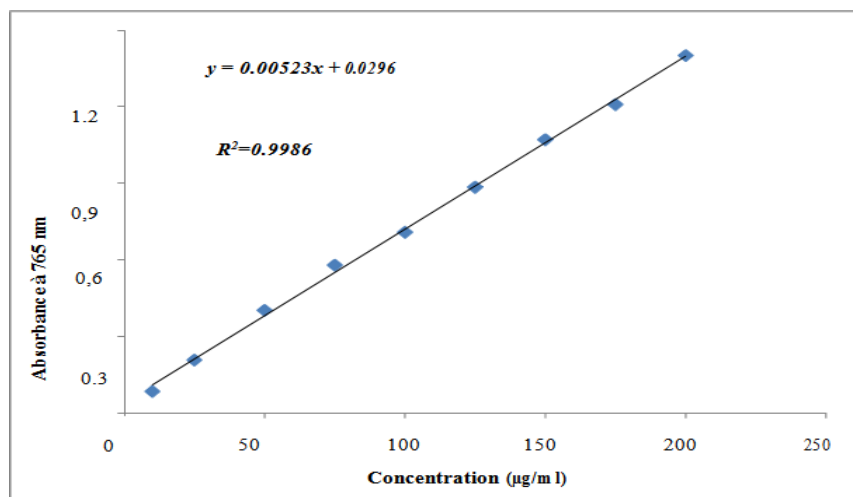


Figure08. Courbe d'étalonnage de l'acide gallique (moyenne \pm SD de trois mesures)

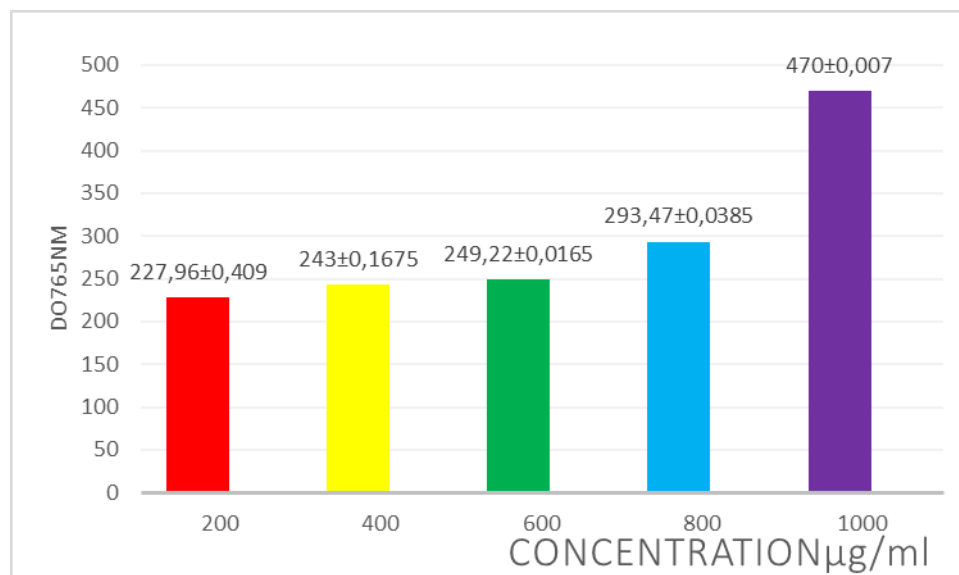


Figure 09. Histogramme représente la teneur en polyphénols en fonction de la concentration

Suivant la figure ci-dessous (**Figure 08**), La teneur en polyphénols totaux estimée par la méthode de Folin- Ciocalteu pour l'extrait a été rapportée en μg équivalent d'acide gallique/mg du matériel végétal sec. Les résultats montrent que l'extrait méthanolique de la plante *Alluim sativum* contient une forte teneur en phénols totaux ($296,73 \pm 166,97$) qui est dose dépendante.

III.2. Dosage des flavonoïdes

La quantification des composés phénoliques a été faite en fonction d'une courbe d'étalonnage linéaire ($y = 0,035x + 0,288$) réalisé par une solution étalon (la quercétine) à différentes concentrations. (Figure 10)

La teneur en flavonoïdes est exprimée en microgramme équivalent de quercétine par milligramme d'extrait ($\mu\text{g EAG}/\text{mg}$ d'extrait). (Figure 11)

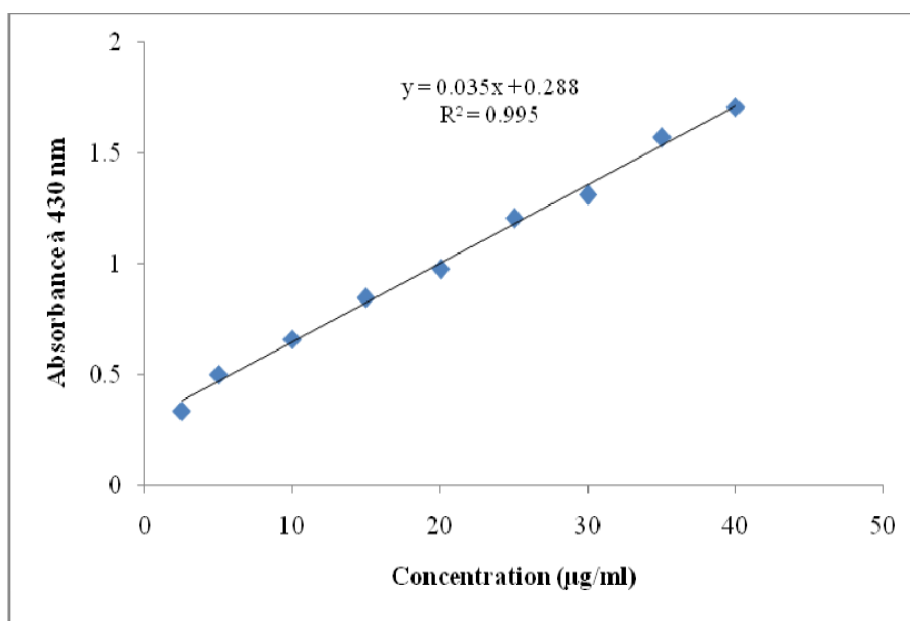


Figure 10. Courbe d'étalonnage de la quercétine (moyenne \pm SD de trois mesures).

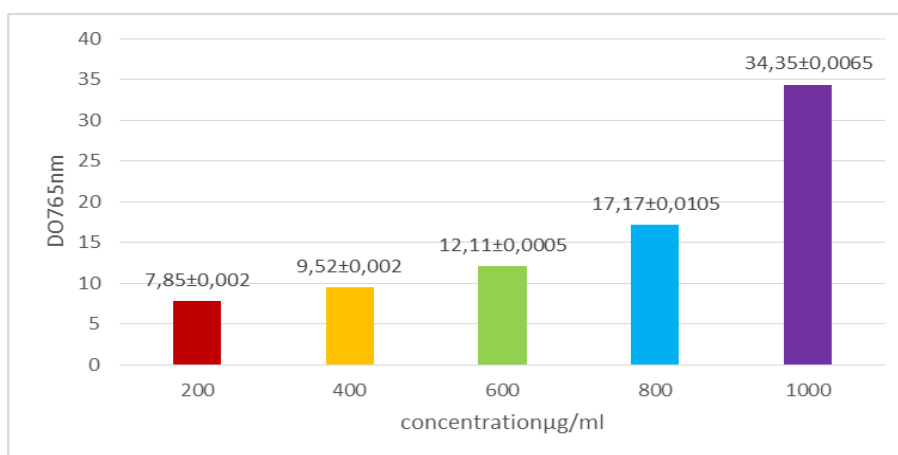


Figure 11. Histogramme représente la teneur en flavonoïdes en fonction de la concentration

Suivant la figure ci-dessus (**Figure 10**), Les teneurs en flavonoïdes déterminées par la méthode au trichlorure d'aluminium pour chaque extrait a été rapportée en μg équivalent de quercétine /mg extrait. Les résultats montrent que l'extrait méthanolique de la plante *Allium sativum* a une forte teneur en flavonoïdes ($16,2 \pm 9,6066$) susceptible d'exprimer le pouvoir antibactérien.

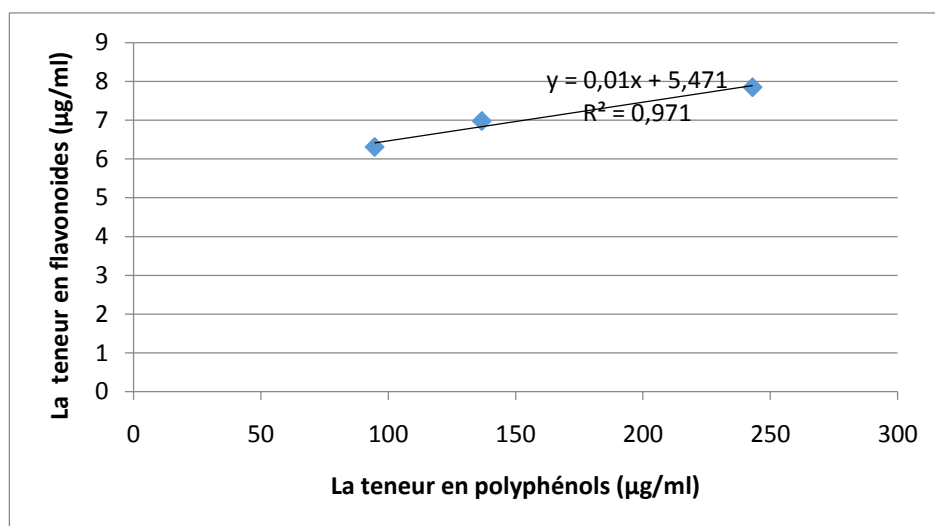


Figure12: Corrélation entre de la teneur en flavonoïdes et celle en polyphénols de la plante *Allium sativum*

Suivant la figure ci-dessous (**Figure 12**), Nous pouvons suggérer, qu'il y a une corrélation linéaire significative entre les teneurs en flavonoïdes et celles en polyphénols de la plante étudiée avec ($r^2=0,97$).

IV. L'étude qualitative

VI.1.Chromatographique sur couche mince de l'extrait méthanolique d'*Alluim sativum*

La CCM nous a permis d'avoir les empreintes flavoniques de l'extrait brut méthanolique de la plante, deux systèmes de solvant ont été utilisés, les chromatogrammes résultants comportent une série de spots illustrés dans les figure (01,02), l'identification des composés était basé sur la comparaison des Rfs dont les rapports frontaux sont calculés selon l'équation suivante :

$$R_f = \frac{\text{distance parcourue par l'echantillon}}{\text{distance parcourue par le solvant}}$$

Les tableaux (03, 04,) comporte les Rfs des différents spots apparus qui ont été visualisés sous une lampe UV à la longueur d'onde 365 nm avec les différents systèmes solvants utilisés.

IV.1. Composés identifiés dans la fraction méthanolique (*Allium sativum*)

Quatre spots ont été ségrégués des dépôts de la fraction méthanolique par le système de solvant: Butanol, Acide acétique, H₂O (4 % : 1% : 5%). **Tableau 06 et figure 13** illustre les spots appartenant aux différentes classe; flavonols ,flavones, isoflavones, flavanones, acide phenol .

Tableau 06. CCM de la fraction méthanolique
Système solvant: Butanol, acide acétique, H₂O (4% : 1% : 5 %)
Adsorbant: Gel de silice

Couleur sous UV à 365 nm	Rapport frontal(cm)	Type de flavonoïde possible
Spot1: jaune	0.25	Flavonols
Spot2: bleu vif	0.47	Acid phenol
Spot3: bleu	0.65	Acide phenol
Spot4: bleu blanc fluorescent	0.77	Flavonols, flavones, isoflavones, flavanones

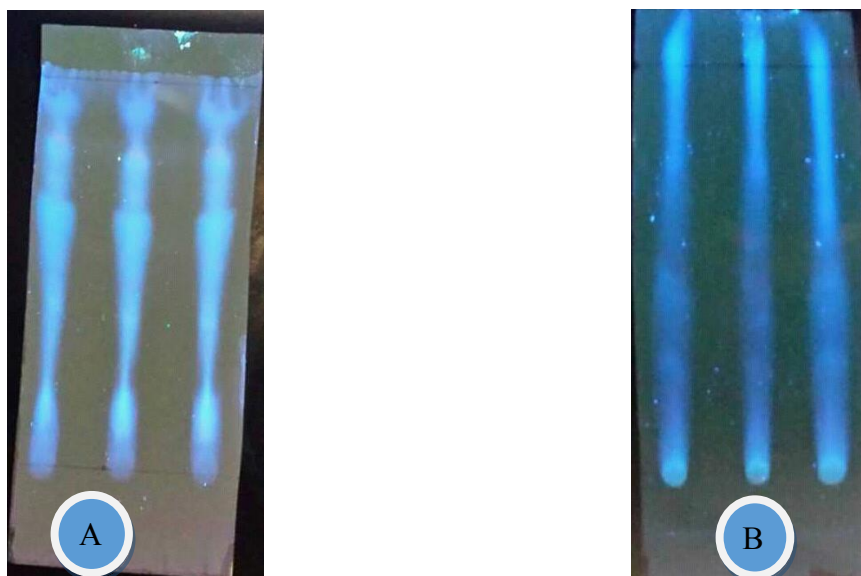
IV.2.Composés identifiés dans la fraction méthanolique (*Allium sativum*)

Trois spots ont été ségrégués des dépôts de la fraction méthanolique par le système de solvant utilisé Acétone, H₂O (1% :1%). Les **tableaux 7 et figure 12** illustre les spots appartenant aux différentes classes, flavanones, anthocyanidine 3-glycosides, acid phenol

Tableau07.CCM de la fraction méthanoliqueSystème solvant : Acétone, H₂O

Adsorbant: Gel de silice

Les spots	Rapport frontal (cm)	Type de flavonoïde possible
Spot1: bleu	0.40	acide phenol
Spot2: violet	0.50	Flavones
Spot3:mauve	0.91	anthocyanidine 3-glycoside

**Figure13.** Photos du chromatogramme résultant de l'analyse d'extrait méthanolique (révélation à UV), 365 nm par le système solvant:(A): BAW : Butanol, acide acétique, H₂O (4 :1 :5)(B): Acétone, H₂O (1 :1)

v. Résultats de l'activité antibactérienne

La méthode des disques ou méthode de diffusion solide a pour but d'étudier l'activité antimicrobienne des substance naturelles d'extrait méthanolique de la plante medicinale *Allium sativum* . Elle a permis d'obtenir les résultats mentionnés dans le **tableau 8** et la **figure14**

Tableau08. Diamètre des zones d'inhibition de l'extrait méthanolique *Allium sativum*

Les souches étudiées	Diamètre des zone d'inhibition (mm) de l'extrait Me (OH)
<i>Salmonella ssp:</i>	25
<i>Listeria monocytogenes</i>	10
<i>Bacillus subtilis</i>	11
<i>Klebsiella oxycota</i>	17

Diamètre $D < 8\text{mm}$, $9 \leq D \leq 14\text{mm}$, $15 \leq D \leq 19\text{mm}$, $D > 20\text{mm}$ est considérée respectivement comme souche résistant(-), sensible (+), très sensible (++) ,extrêmement sensible(+++)

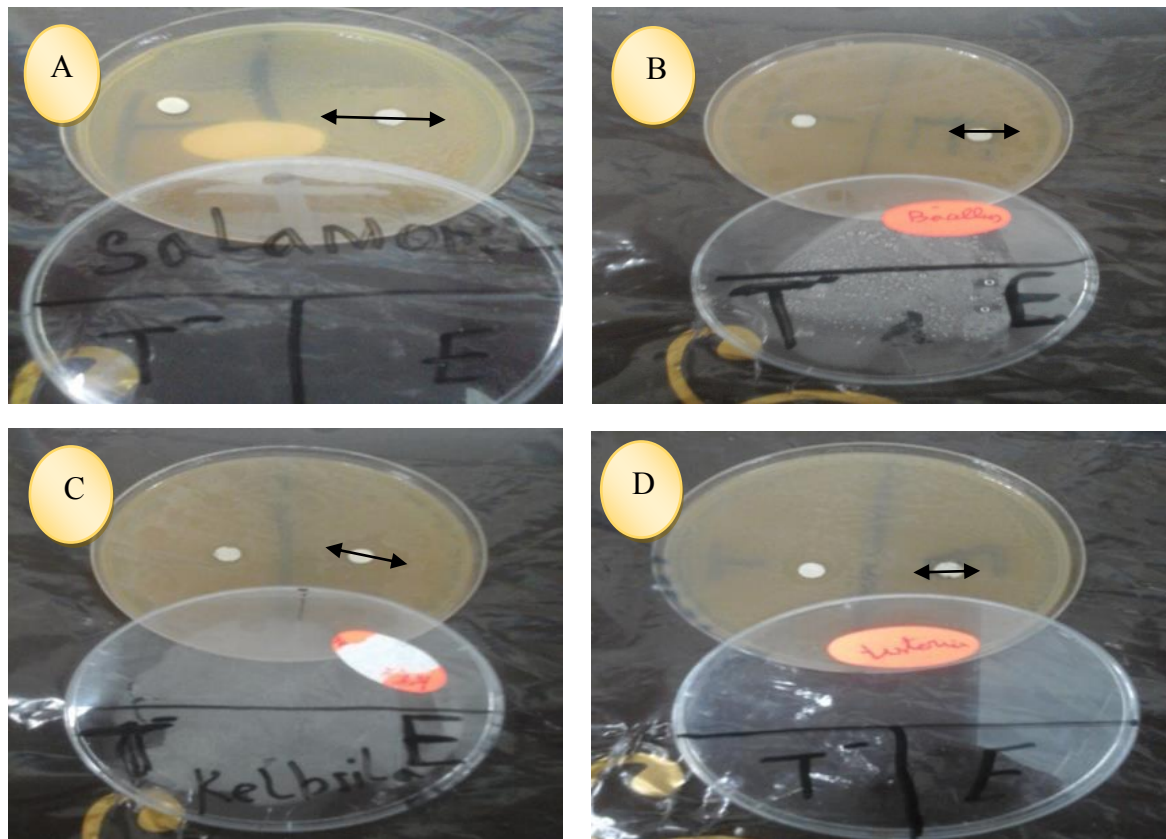


Figure 14. Photos montrant l'effet antibactérien de l'EM As contre *Salmonella ssp*, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus subtilis* et *Klebsiella oxycota*

Les résultats obtenus avec l'extrait méthanolique d'*Allium sativum* montre une activité antibactérienne sur *Salmonella ssp*, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus subtilis*, *Klebsiella oxycota*. La *Salmonella ssp* présente une sensibilité extrême (25mm) à l'EM As dont le $D > 20$ alors que les résultats obtenus avec les deux souches *Listeria monocytogenes* et *Bacillus subtilis* ont montré une sensibilité (10mm), (11mm) contre cet extrait dont le $9 \leq D \leq 14$ mm ainsi que *Klebsiella oxycota* qui est très sensible avec un diamètre de 17mm contre cet extrait dont le $15 \leq D \leq 19$ mm.

Les résultats de l'effet antibactérien de l'extrait Me (OH) de l'*Allium sativum* ont été efficaces avec la plupart des souches testées selon le diamètre de zone d'inhibition correspondant à chaque souche.

Le mécanisme de toxicité des polyphénols contre les microbes pourrait être dû à l'inhibition des enzymes hydrolytiques (protéases et carbohydrases) ou à d'autres

interactions pour inactiver l'adhésine microbienne, les protéines de transport de l'enveloppe cellulaire et l'interaction non spécifique avec les carbohydrates. Ces mécanismes d'inhibition peuvent se situer à plusieurs niveaux, les polymères polyamides des bactéries peuvent favoriser la réactivité de leurs protéines, mais aussi les composés phénoliques peuvent être à la base de la privation de fer ou des liaisons hydrogènes des protéines vitales c'est-à-dire les enzymes bactériennes [108].

Conclusion
et
perspectives

Conclusion et perspectives

Notre travail fait partie d'un long et important axe de recherche dont le but est de valoriser d'avantage nos ressources locales, notamment l'utilisation des plantes aromatiques et médicinales dans plusieurs domaines, parmi lesquels la technologie agro-alimentaire, l'amélioration des différentes qualités des aliments ainsi que leur conservation. Dans cet axe, nous continuons le travail sur l'une des plantes à usage traditionnel alimentaire et médicinale, qui est l'ail (*Allium sativum*).

Les résultats du criblage préliminaire ont montré que l'extrait méthanolique d'*Allium sativum* contient beaucoup des composés chimiques à savoir les flavonoïdes, saponosides, coumarines et aussi les composés réducteurs.

L'analyse quantitative de l'extrait hydrométhanolique, est représentée par le dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes révélant une richesse et corrélation entre ses teneurs élevées à 381,84 µg EA/mg d'extrait et 15.75 µgEQ/mg d'extrait respectivement.

L'étude qualitative par CCM de l'extrait de deux plantes a montré une diversité remarquable des composés flavoniques susceptibles d'exprimer l'activité recherchée.

Notre espèce d'*Allium sativum* présente un effet antibactérien intéressant vis-à-vis des différentes souches de référence qui sont *Salmonella ssp*, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus subtilis* et *Klebsiella oxycota*.

A la suite de ces résultats et sachant que le but ultime de ce travail est la valorisation de la plante *Allium sativum* et la recherche de son intervention dans la phytothérapie humaine, l'évaluation de l'existence d'une éventuelle potentialité génotoxique issue de la plante serait nécessaire.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- [1] **Agban A, Apeti Gbogbo K, Kpemissi Amana E, Tegueni K, Batawila K, Koumaglo K et Akpagana K.** Evaluation des activités Antimicrobiennes de *Tridax procumbens* (Asteraceae), *Jatropha multifida* (Euphorbiaceae) et de *Chromolaena odorata* (Asteraceae). European Scientific Journal 2013; 9: 1857 – 7881.
- [2] **Kebieche M.** Activité biochimique des extraits flavonoïdiques de la plante *Ranunculus repens L* : effet sur le diabète expérimental et l'hépatotoxicité induite par l'Epirubicine. Thèse de Doctorat de l'Université Mentouri Constantine. 2009;5.
- [3] **Frederich M.V. Janvier.** espace Duesberg. 2014.
- [4] **Bruneton J.** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Ed. Lavoisier. Techniques et Documentation. Paris. 1999;199-388.
- [5] **Kansole M.** Etude Ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de quelques lamiaceae du Burkinafaso : cas de leucas Martinicensis (Jacquin) R. Brown, *Hoslundia opposita* 2009.
- [6] **Chevaltier L.C et crouzet-segana.** Les médicaments a base des plantes. 2004; (2): 25-30.
- [7] **Benkiki N.** Etudes phytochimique des plantes médicinales Algériennes, *Ruta montana matricaria* , *pubescens* et *hypericum perforatum*. 2006; 7-8.
- [8] **Triki A.S.** Effets biologique de polyphénols extraits des plantes médicinales (*Ranunculus repens L* et *Thymus*) responsable de certaines pathologie, thèse Magister , Université Mentouri Constantine. 2002; 33-53.
- [9] **Lutge U, Kluge M, et Bauer G.** Technique et documentation. Botanique 3ème Ed. Lavoisier .Paris. 2002; 211.
- [10] **Abderrazak M et Joël R.** La botanique de A à Z. Ed. Dunod. Paris. 2007; 177.
-

- [11] **Lugasi ., Hovari J, Sagik, and Biro L.** The role of antioxidant phytonutrients in the prevention of diseases. *J. Acta. biologica. szegediensis* 2003; 47 (14):119-25.
- [12] **Tapiero H, Tew K.D, Nguyen B.G and Mathé G.** Polyphenol do they play a role in the prevention, of the human pathologies? *Biomed. pharmacother.* 2002; (56): 200-07.
- [13] **Boizot N et Charpentier J.P.** Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre foustier. *Le cahier des techniques de l'Inra* 2006; 79-82.
- [14] **Bruneton.** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales, technique et documentation. Lavoisier. Paris. 1993; (2): 266- 275.
- [15] **Crozier, Einar Jensen, Michael E.J, Lean, Morag S and Mcdonald.** Quantitative analysis of flavonoids by reversed-phase high performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A* 1997; 761:315-21.
- [16] **BahorunT .** Substances naturelles actives : la flore mauricienne, une source d'approvisionnement potentielle. *Food and agricultural resarch council, Réduit,Mauritus*1997; 83-94.
- [17] **Babar Ali. M, Hahn E.J and Paek K.Y.** Methyl Jasmonate and Salicylic Acid Induced Oxidative Stress and Accumulation of Phenolics in Panax ginseng Bioreactor Root Suspension Cultures. *Molécules* 2007; 607-21.
- [18] **Falleh H, KsouriR ,Chaieb K , Karray-Bouraoui N ,Trabelsi N , Boulaaba M and Abdelly, C .**Phenolic composition of *Cynaracardunculus*L. organs, and their biological activities .*C. R. Biologies* 2008 ; 331: 372-79.
- [19] **Gómez-Caravaca, A. M , Gómez-Romero M , Arráez-Román D , Segura-Carretero A and Fernández-Gutiérrez, A.** Advances in the analysis of phenolic compounds in products derived from bees. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 2006; (41): 1220- 34.
-

- [20] **Martin S et Andriantsitohaina R.** Mécanismes de la protection cardiaque et vasculaire des polyphénols au niveau de l'endothélium. *Annales de cardiologie et d'angéiologie*. **2002**;51: 304-15.
- [21] **Seyoum A, Asres K and El-Fiky F.K.** Structure– radical scavenging activity relationships of flavonoids. *Phytochemistry* 2006; (67): 2058-70.
- [22] **Ghestem A, Seguin E, Paris M and Orecchioni A.M.** Le préparateur en pharmacie dossier 2ème Ed TEC&DOC. Paris. 2001; 275.
- [23] **Harborne J.B and Williams C.A.** Advances in flavonoid research since 1992 *Phytochemistry*. 2000; (55): 481-504.
- [24] **Skerget M, Kotnik P, Hadolin M, Hras A.R, Simonic M and Knez Z.** Phenols, proanthocyanidins, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidant activities. *Food chem* 2005; (89): 191-8.
- [25] **Dacosta Y.** Les phytonutriments bioactifs. Ed Yves Dacosta. Paris. 2003; 317.
- [26] **Chebrouk F.** Caractérisations analytiques de quelques composés polyphénoliques et terpéniques issus de la plante *Marrubium deserti* de la région de Ghardaïa. Magister. Université Kasdi Merbah Ouargla. 2009.
- [27] **Effendi L and Yajun Y.** Functional expression of a P450 flavonoid hydroxylase for the biosynthesis of plant-specific hydroxylated flavonols in *Escherichia coli*. *Metab. Eng* 2008; (8):172-81.
- [28] **Medic-Saric M, Jasprica I, Smolic-Bubalo A, and Momar A.** Optimization of chromatographic conditions in Thin Layer Chromatography of Flavonoids and Phenolic Acids. *Croatica Chemica Acta*. (cited in Mohammedi Z, 2005) 2003; 77 (1-2):361-6.
- [29] **Grotewold E.** The genetics and biochemistry of floral pigments. Erich Grotewold, *The Science of Flavonoids*, Springer, *Annu Rev Plant Biol* 2006; (57):761-80.
-

- [30] **Grace k, Pereira Paulo M, Donate Sergio E, and Galembeck E.** The Science of Flavonoids, Springer 2006.
- [31] **Luigia Longo and Giuseppe Vasapollo.** Extraction and identification of anthocyanins from *Smilax aspera* L. berries, Food Chemistry 2006; 226-31.
- [32] **Jaime A and Yanez.** Preston; Andrews, Neal M. Davies, Methods of analysis and separation of chiral flavonoids, Journal of Chromatography B 2007; 8(48): 159-81.
- [33] **Stobiecki M, A Skiryecz, L Kerhoas, P Kachlick, D Muth, J Einhorn And B. Mueller.** Roeber, Profiling of phenolic glycosidic conjugates in leaves of *Arabidopsis thaliana* using LC/MS, Metabolomics 2006; 197-219.
- [34] **Paris M et M Hurabielle.** Abrégé de matière médicale. Masson. 1986; (2): 256- 266.
- [35] **Ghestem A, Seguin E, Paris M, and Orecchioni A.M.** Le préparateur en pharmacie dossier. Paris; (2) :275.
- [36] **Khanbabae K and REE T.R.** Tannins: Classification and Defenition. Journal of Royal Society of Chemistry. (cited in Djemai Zoueglache S, 2008). 2001; (18): 641-49.
- [37] **Xie D.Y and Dixon R.A.** Proanthocyanidins biosynthesis-still more question thananswers .Phytochemistry. 2005; (66): 2127-44.
- [38] **Vivas N, Nonier M.F, Pianet I, Vivas de Gaulejac N et Fouquet E.** Proanthocy anidinsfrom *Quercuspetr.* 2006.
- [39] **Kansole M.M.**REtude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de quelques lamiaceae du Burkina Faso: cas de *Leucasmartinicansis*(*Jacquin*). 2009.
- [40] **Wichtl M., Anton R.** Plantes thérapeutiques tradition, pratique officinale, science et thérapeutique. Édition LAVOISIR, Paris .2009; 38, 41.
- [41] **Hopkins W. G.** Physiologie végétale. 2ème édition américaine, de Boeck et Lancier S A, Paris. 2003; 514.
- [42] **Guignard J.L.** Abrégé botanique, 9 èmeédition. Édition Masson, Paris. 1994; 204.
-

- [43] **Delille L.** les plantes médicinales d'Algérie. Édition BERTI. Alger. 2007; 122.
- [44] **Judd W.S, Campbell C.S, Kellogg E.A et Stevens P.** Botanique Systématique, une perspective phylogénétique. Edition De Boeck Université. 2002; 84 -7, 396-99.
- [45] **Iserin P.** Encyclopédie des plantes médicinales, Larousse VUEF, 2 émeEd., Paris. 2001; 14-275.
- [46] **Kirrmann J, Cantacuzene P and Duhamel.** Chimie organique fonctions complexes, éd. Librairie Colin. Paris. 1975;(3): 197-199.
- [47] **Vallet.** Contribution à l'étude de la biosynthèse des alcaloïdes tropaniques chez le *Datura innoxia* Mill, transformation par *Agrobacterium tumefaciens*, *Agrobacterium rhizogenes* et culture de chevelus lacunaires, mémoire D.E.A. Université de Picardie Jules Vienne. 1996; 1-32.
- [48] **Fritsch R and Friesen N.** *Allium*Cropscience: Evolution, Domestication and Taxonomy .Ed.HD.2002 ;15-23.
- [49] **Fournier, P.** Plantes médicinales et vénéneuses de France. Connaissance et Mémoires Européennes.1999 ; 49-53.
- [50] **Bernice.** dethier, contribution à l'étude de la synthèse de l'alliine de l'ail , université de Liège 2009;2-10.
- [51] **Allen .**La culture de l'ail J . 2009.
- [52] **Loucif S.** Essai d'efficacité un nouveau herbicide (prowl 333 g /l) en comparaison avec afalon spécial et le désherbage manuel sur les adventices de l'ail (*Allium sativum* L) dans la région d'Ain touta (BATNA) .Mémoire d'ingénieur , département d'agronomie, Batna,99.1999.
- [53] **Merecith T.J.** The complete book of garlic.London:Timberpress.2008.
- [54] **Blanc J.P.** Table alimentaire générales First.2002.
- [55] **Lanzotti v.** The analysis of onion and garlic, Journal of chromatography A 2006 ; 1112:3-22.
-

- [56] **Breithaupt-Grogler K, Ling M, Boudoulas H and Belz G.G.** Protective effect of chronic garlic intake on elastic properties of aorta in the elderly. *Circulation* 1997;96 **8** : 2649-2655.
- [57] **Pantoja C., Norris B. and Contreas C.** Diuretic and natriuretic and chromatographically purified fraction of garlic *Allium sativum*. *J. Ethnopharmacol* 1996 ; 52: 101-105.
- [58] **Slowing K, Ganado P, Sanz M, Ruiz E. and Tejerina T.** Study of garlic extracts and fractions on cholesterol plasma levels and vascular reactivity in cholesterol fed rats. *J Nut* Mar 2001; 31: 994-996.
- [59] **Béliveau R et Gingras D.** La prévention et le traitement du cancer par l'alimentation. *J Les aliments contre le cancer* Éd. du Trécarré, Canada 2005.
- [60] **Lu H., Sue C., Yu C., Chen S., Chen G. and Chung J.** Diallyl disulfide (DADS) induced apoptosis undergo caspase-3 activity in human bladder cancer T24 cells. *Food.Chem.Toxicol* 2004 ; 42 (10) : 1543-1552.
- [61] **Nakagawa S.** Antifungal activity of ajoene derived from garlic. *Appl Environ Microbiol.* 1987 ; 53(3) : 615-617.
- [62] **Miean M.** Flavonoid (myricetin, quercetin, kaempferol) content of edible tropical plant *J Agri Food chem* .2001 ;49(6) : 3106-2.
- [63] **Gorinstein S, Leontowicz H and al.** Raw and boiled garlic enhances plasma antioxidant activity and improves plasma lipid metabolism in cholesterol-fed rats. *J Life Sci* .2006 ;78(6):655-663.
- [64] **Leelarungrayub N, Rattanapanone V, and al.** Quantitative evaluation of the antioxidant properties of garlic and shallot preparations. *J. Nutrition.* 2006 ;22(3):266-74.
- [65] **Borek C.** Antioxidant health effect of aged garlic extract. *J Nutr.* 2001 ; 131 : 1010S-1015S.
-

- [66] **Sheela C.G. and Augusti K.T.** Antidiabetic effects of S-allylcysteine sulphoxide isolated from garlic *Allium sativum* Linn. *Indian J Exp Biol.* 1992 ; 30 (6) : 523-526 Kim K.M., Chun S.B.,
- [67] **Steiner M, Khan A, Holbert D and Lin R.I.A.** double-blind crossover study in moderately hypercholesterolemic men that compared the effect of aged garlic extract and placebo administration on blood lipids. *Am J Clin Nutr.* 1996 ; 64 (6) : 866-870. Koo M.S., Choi W.J., Kim T.W., Kwon Y.G., Chung H.T.,
- [68] **Stevinson C, Pittler M.H. and Ernst E.** Garlic for treating hypercholesterolemia. A meta-analysis of randomized clinical trials. *Ann Intern Med.* 2000 ; 133 (6) : 420-9.
- [69] **Alder R, Lookinland S, Berry J. and Williams M.** Systematic review of the effectiveness of garlic as an anti-hyperlipidemic agent. *J. Am. Acad. Nurse Pract* 2003 ; 15 (3) : 120-9.
- [70] **Ackermann R.T, Mulrow C.D, Ramirez G, Gardner C.D, Morbidoni L. and Lawrence V.A.** Garlic shows promise for improving some cardiovascular risk factors. *Arch Intern. Med* 2001; 161(6) : 813-824.
- [71] **Yamada Y et Azuma K** , Evaluation of the in vitro antifungal activity of allicin. *Antimicrob Agents Chemother.* 1997 ; 11 (4): 743-749.
- [72] **Mirelman D, Monheit D and Varon S.** Inhibition of growth of *Entamoeba histolytica* by allicin, the active principle of garlic extract *Allium sativum* L., *J. Infect. Dis.* 1987; 156: 243-4.
- [73] **Shadkchan Y, Shemesh E, Mirelman D, Miron T, Rabinkov A, Wilchek M. and Osherov N.** Efficacy of allicin, the reactive molecule of garlic, in inhibiting *Aspergillus* spp. in vitro, and in a murine model of disseminated aspergillosis. *J Antimicrob Chemother.* 2004; 53 (5) : 832-836.
- [74] **Tatarintsev AV, Vrzheschch PV, Schegolev AA, Yershov DE, Turgiev AS, Varfolomeyev SD, Kornilayeva GV, Makarova TV and Karamov E.V.** (Ajoene antagonizes integrin-dependent processes in HIV-infected T-lymphoblasts. *AIDS.* 1992 ; (10): 1215-1217.
-

- [75] **Uchida Y, Takahashi T and Sato N.** The characteristics of the antibacterial activity of garlic, *Jpn J. Antibiotics*. 1975 ;(28) : 638-642.
- [76] **You wc, zhang L, et al .** Helicobacter pylori infection, garlic intake and precancerous lesions in a Chinese population at low risk of gastric cancer. *Int J Epidemiol* December .1998 ;27(6):94
- [77] **Cellini L, Di Campli E, Masulli M, Di Bartolomeo, S. and Allocati N.** Inhibition of Helicobacter pylori by garlic extract (*Allium sativum*). *FEMS Immunology and Medical Microbiology* 1996 ;(13) : 273 –277.1-944.
- [78] **O'gara E. A, Hill D. J. and Maslin D. J.** Activities of garlic oil, garlic powder, and their diallyl constituents against Helicobacter pylori. *Applied Environmental Microbiology* 2000 ;(66) : 2269–2273.
- [79] **Mogode D,** « Etude phytochimique et pharmacologique de *Cassia nigricans* Vahl (Caesalpinaceae) utilisé dans le traitement des dermatoses au Tchad » .Université de Bamako ;2005.
- [80] E. Derety. *J. Mol. Struct. (Theochem)* ,1999.
- [81] J. Acar. *La recherche*.1998.
- [82] **Marie Pagés J.** Porines bactériennes et sensibilité aux antibiotiques ; *medecine/science*.2004 ;346-351.
- [83] **Youk H et Alexander V Oudenaarden,** « *Microbiology*: Altruistic defence ; *nature* 2010 ; 34-35 .
- [84] **Garcia-R A, Bartolomé B, Martinez-Rodriguez A.J., Pueyo E., Martin-Alvarez P. J and Moreno-A M.V.** potential of phenolic compounds for controlling lactic acid bacteria growth in wine. *Food control*.2008 ;19:835-841
- [85] **Jurgen R, Paul S , Ulrike S and Reinhard S.** Essential Oils of Aromatic Plants *Forsch Komplementmed*.2009 ; (16): 79-90.
-

- [86] **Guangrong.H, Jiaxin.J and Dehui. D.** Antioxidative and antibacterial activity of the methanolextract of *Artemisia anomala* S. Moor. *African Journal of Biotechnol.* 2008 ;7(9): 1335-1338.
- [87] **Euzeby J. P.** Bactériologie Vétérinaire : Les *Listeria*. [En ligne]. Créé le : 25 Juin 2000. <http://www.bacterio.cict.fr/bacdico/nomstaxons.html>. (Consulté le 25 Avril 2010) .2000.
- [88] **Rocourt J.** *Listeria* et Listériose : Position phylogénétique et Classification du genre *Listeria*. Précis de bactériologie clinique .2000.
- [89] **Larpent J. P.** *Listeria*. 3ème édition. Technique et documentation. Londres- Paris-New York. Lavoisier. ISBN .2004 ; (2): 227.
- [90] **Garrity G. M, Liburn T. G, Cole J. R , Harrison S. H, Euséby J. and Tindall B. J.** Taxonomic outline of the bacteria and archaea. Part 9 - The bacteria: Phylum "Firmicutes": Class."Bacilli". 2007 ; 3- 398.
- [91] **Bridier A, Le Coq D, Dubois-Brissonnet F, Thomas V, Aymerich S, and Briandet R. ;** *The spatial architecture of Bacillus subtilis biofilms deciphered using a surface-associated model and in situ imaging.* PLoS One. 2011; 6(1): 16177.
- [92] **Ayan M, Kuzucu C, Durmaz R, Aktas E ,and Cizmeci Z.** Analysis of three outbreaks due to *Klebsiella* species in a neonatal intensive care unit. *J infect contro Hosp Epidemiol.* 2003 ;(24):495 -500. Web référence 127:
- [93] <http://maps>. Google. Fr
- [94] **Markham K.R.** Technique of Flavonoïdes identification. Academic press ,London Chap. 1982; (2): 1-113.
- [95] **Karumi Y, Onyeyili PA, Ogugbuaja VO** Identification of active principles of *M. balsamina* (Balsam Apple) leaf extract. *J Med Sci.* 2004 ; 4(3) :179-182.
- [96] **Edeaga H.O, Okwu D.E, Mbaebie BO.** Phytochemical constituents of some Nigerian medicinal plants. *African journal of biotechnology* 2005 ; 4(7) :685-688(67).
-

[97] **Bemahdi A** Identification des Principes actifs des extraits des plantes médicinales. *Phytochimie* 2001; (6):11-27 .

[98] **Wagner H, and Blatt S**, Plant drug analysis: a thin layer chromatography. Atlas, Second edit. Springer, 384 .1996.

[99] **Ciulei Ioan**, Practical manuals on the industrial utilization of chemical and aromatic plants. Methodology for analysis of vegetable drugs Ed. ministry of chemical industry, Bucharest. 67.1982.

[100] **Mohammedi Z** Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen. Mémoire de magister. Tlemcen. Selem fadia çava merci bien, voila la ref. (2006).

[101] **Yrjönen T**. Extraction and planar chromatographic separation techniques in the analysis of natural products. *Dissertationes Biocentri Viikki Universitatis Helsingiensis* 2004 ; 32: 6

[102] **Wong C.C; Li H.B; Cheng K.W and Chen F.A** . Systematic survey of antioxidant activity of 30 Chinese medicinal plants using the ferric reducing antioxidant power assay 2006 ;(12):120-130.

[103] **Vuorela, S, Kreander, K, Karonen, M, Nieminen, R, Hamalainen, M, Galkin, A, Laitinen, L, Salminen, J.P, Moilanen, E, Pihlaja, K, Vuorela, H, Vuorela, P, Heinonen, M**. Preclinical evaluation of rapeseed, raspberry and pine bark phenolics for health related effects. *J. Agric. Food Chem* 2005 ; 53: 5922-5931.

[104] **Djeridane, A; Yous, M; Nadjemi, B; Boutassouna, D; Stocker, and P Vidal, N**. Antioxidant activity of some Algerian compounds. *Food Chem.* 97,654-660 medicinal plants extracts containing phenolic. 2006.

[105] **Bauer A.W, Kirby W.M, Sherris T. C and Truck M**, Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disc method, *American Journal of Clinical Pathology* 1966 ;(45),493-496

[106] **Saadoui A.S ,Kasmi. N** .Etude phytochimique et evaluation de l'activité antioxydante

des deux plantes médicinales : *Ruta montana et thymus algériensis*. 2014.

[107] Kaplan, A. urea. clin chem the c.v. 1257-1260. 437 and 418. 1984.

[108] Shan B, Cai Y-Z, Brooks J.D. and Corke H. The in vitro antibacterial activity of spice and medicinal herb extracts. *International J. of Food Microbiology*. 2007 ; 117, 112-119.