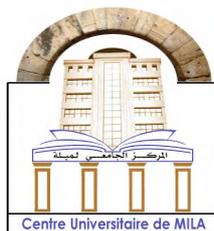


الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
République Algérienne Démocratique et Populaire  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



N° Ref :.....

## Centre Universitaire de Mila

Institut des Sciences et de la Technologie

Département de science de la nature et de la vie

**Mémoire préparé En vue de l'obtention du diplôme de Master**

**en: Filière: biologie**

**Spécialité: biotechnologie végétale**

**Option: biotechnologie végétale et amélioration des plants**

### Thème

**Etude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de  
l'espèce *Allium Sativum L.***

**Préparé par:** Derbal Roukaya

Medjalidi Wafa

**Soutenu devant le jury:**

**Président :** M<sup>er</sup> Yahia. A

**Grade:** Maitre de l'enseignement supérieur

**Examineur :** M<sup>elle</sup> Belaatar. H

**Grade:** Maitre-assistant A

**Promoteur :** M<sup>eme</sup> Boukaria. S

**Grade:** Maitre-assistant A

**Année universitaire: 2013/2014**



# **Remerciements**

*Avant tout nous remercions Dieu « ALLAH » le tout puissant de nous avoir accordé la force, le courage et la patience pour terminer ce travail.*

*Nous remercions notre encadreur de son grand aide durant la réalisation de notre travail, elle est orienté nous vers le avec ses connaissances et partageants des idées et aussi l'encouragement tout on long de notre épreuve, comme elle a été présent à tout moment qu'on à besoin de lui :*

*Mme. Boukaria Sabah.*

*Nous remercions les membres de jury, chacun a son nom, d'accepter de juger notre travail.*

*Notre travail est réalisé à laboratoire de centre universitaire de Mila, nous remercions tous les membres de l'équipe de ce laboratoire pour leur accueil, leur sympathie ainsi que leurs idées constructives.*

*Au terme de ce travail, il nous est agréable de remercier toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin, directement ou indirectement à la réalisation de ce travail.*

*Wafa et Roukaya*

# Dédicaces

Je dédie ce travail à ma mère et mon père qui me  
sont les plus chers

**MESSAOUD et FATJMA**

À mes Sœurs : **souria, nouira et khawla.**

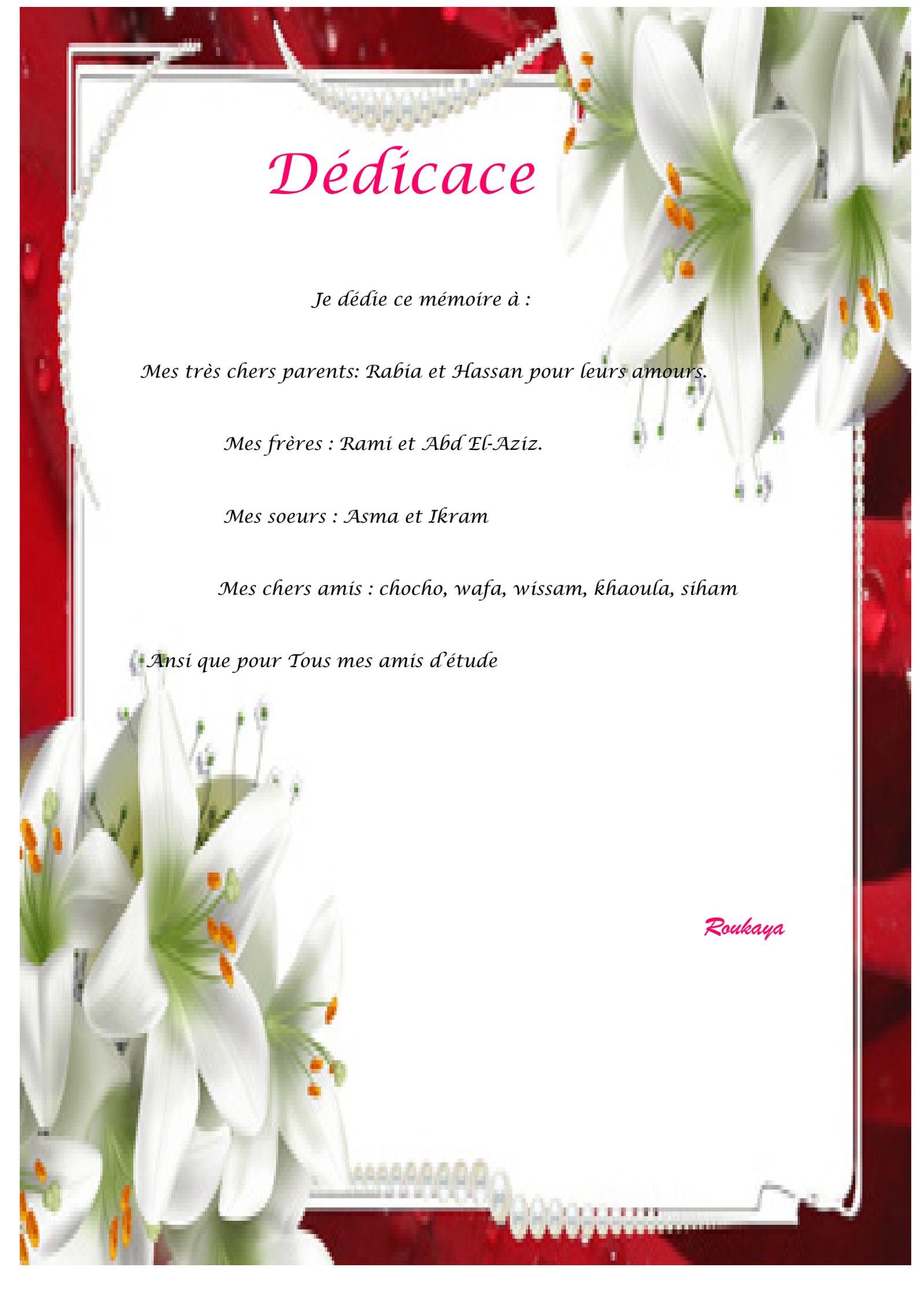
À mes frères : **Amine et yakoub.**

À mes fideles amies : **sikam, Roukaya, wissam,  
farida, massanda, khawla, et fatiha. .**

À tout ma famille

Que ce travail soit une part de ma reconnaissance  
envers eux.

*Wafa*



# *Dédicace*

*Je dédie ce mémoire à :*

*Mes très chers parents: Rabia et Hassan pour leurs amours.*

*Mes frères : Ramí et Abd El-Aziz.*

*Mes soeurs : Asma et Ikram*

*Mes chers amis : chocho, wafa, wissam, khaoula, siham*

*Ansí que pour Tous mes amis d'étude*

*Roukaya*

## La liste des figures:

Figure N°	Titre	Page
01	<i>Allium Sativum</i> .	03
02	Composé principal de l'ail coupé.	05
03	Constituant majeur de l'ail intact.	06
04	Exemple de structures de monoterpènes acycliques et cycliques rencontrés dans les huiles essentielles.	13
05	Exemples de structures de sesquiterpènes rencontrées dans les huiles essentielles.	13
06	exemples de structures de composés aromatiques rencontrées dans les huiles essentielles.	14
07	schéma du principe de la technique d'hydrodistillation.	16
08	schéma du principe de la technique de l'entraînement à vapeur.	17
09	Structure d'une bactérie avec ses différents éléments: obligatoires et facultatifs.	20
10	le bulbe d'ail (rouge locale).	24
11	les étapes de l'extraction.	27
12	Principe de la méthode de diffusion par disque.	30
13	photos montrant l'effet d'HE d' <i>Allium Sativum</i> .	34
14	les résultats de la dilution sur les souches, <i>E.coli</i> et <i>Klebsiella pneumoniae</i> .	36

## La liste des tableaux :

<b>Tableau N°</b>	<b>titre</b>	<b>page</b>
01	Composition chimique de l'huile essentielle de l'ail non diluée.	07
02	Structure de quelques composés de l'huile essentielle de l'ail	08
03	La liste des souches bactériennes.	25
04	valeurs des dilutions utilisée pour déterminée la CMI.	31
05	les diamètres des zones d'inhibitions en mm obtenus avec les extraits d' <i>Allium Sativum</i> .	33
06	Valeurs des CMI de l'huile volatile de l'ail(RL)	36

## La liste des abréviations:

<b>AFNOR:</b> Association Française de Normalisation.
<b>OMS:</b> Organisation mondiale de la santé.
<b>DADS:</b> diallyl disulfure.
<b>DATS:</b> diallyl trisulfure.
<b>HEs:</b> huiles essentielles.
<b>HDL:</b> lipoprotéines de haute densité.
<b>BAAR:</b> Bacilles acido-alcoolo résistants.
<b>CMI:</b> Concentration Minimale Inhibitrice.
<b>DMSO:</b> Diméthyl sulfoxyde.
<b>DO:</b> Densité Optique.
<b>RL:</b> rouge locale.
<b>CHU:</b> centre hospitalier Universitaire.
<b>BN :</b> Bouillon nutritive
<b>GN:</b> Gélose nutritive.
<b>MH:</b> Gélose Mueller-Hinton.
<b>HD:</b> hydrodistillation.
<b>mm:</b> millimètre.
<b>ATCC:</b> American type culture collection.
<b>ADN:</b> acide désoxyribo nucleotide.

## Sommaire

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

## Introduction

### Partie bibliographique

#### *Chapitre I : les plantes médicinales*

1. Historique.....	01
2. Définition des plantes médicinales.....	01
3. Mode d'obtention et récolte.....	
..01	
4. Conservation des plantes médicinales .....	02
5. La famille de liliacées.....	02
6. Le genre <i>Allium sativum</i> L.....	02
6.1. Classification.....	02
6.2. Description.....	03
6.3. Sous-espèce et variétés.....	04
6.4. Origine et culture.....	04
6.5. Description de bulbe.....	04
6.6. condition de culture.....	04
6.7. Composition chimique.....	05
6.8. Propriétés pharmacologiques et emplois.....	08
6.9.activité antibactérienne de l'ail.....	09

## *Chapitre II : Généralités sur les huiles essentielles*

1. Définition.....	10
2. Localisations des huiles essentielles dans la plante .....	10
3. Facteurs intervenant dans la qualité des huiles essentielles.....	11
4. Caractéristiques et propriétés physiques .....	12
5. Composition chimique .....	12
6. Emplois et Propriétés pharmacologiques.....	14
7. Méthodes d'extraction.....	15
7.1. Distillation .....	15
7.2. Extraction assistée par micro- ondes .....	17
7.3. L'extraction par expression .....	17
8. Activité biologique .....	18
8.1. Activité bactérienne .....	18
8.3.1. Généralités sur les bactéries .....	18
8.3.2. Classification des bactéries d'intérêt médical.....	19
8.3.3. Morphologie et Structure fine des bactéries.....	20
8.3.4. Données générales sur les bactéries testées.....	21
8.3.5. Activité liée à la compositions chimique.....	22
8.3.6. Evaluation de l'activité antibactérienne .....	22

## **Partie Expérimentale**

### *Matériel et Méthodes*

<b>1. Matériel.....</b>	<b>24</b>
-------------------------	-----------

1.1. Matériel végétal.....	24
1.2. Les souches bactériennes.....	25
1.3. Les milieux de culture.....	25
2. Méthodes.....	25
2.1. Procèdes d'extraction.....	25
2-1-1-Calcul de rendement.....	28
2.2. Activité antibactérienne.....	28
2.2.1 .Préparation du milieu de culture.....	28
2.2.2 .Stérilisation du matériel.....	28
2.2.3. Préparation de l'inoculum.....	29
2.2.4. Ensemencement.....	29
2.2.5. Préparation des disques d'aromatogramme.....	29
2.2.6. Lecture des antibiogrammes.....	30
2.2.7.Détermination des concentrations minimales inhibitrices .....	30
2.2.7. Préparation des dilutions d'huiles essentielles.....	30

### *Résultats et Discussion*

1. Rendement en huile essentielle et aspect.....	32
2. L'activité antibactérienne.....	32
2.1. Extraits brut de l'ail.....	32
2.2. Effet de DMSO sur les souches bactériennes.....	35
2.3. 2.3. Détermination de la CMI.....	35

Conclusion

Références Bibliographiques

Annexes

Résumé



***Introduction générale***

## Introduction Générale

---

Les plantes médicinales restent encore le premier réservoir de nouveaux médicaments. Elles sont considérées comme source de matière première essentielle pour la découverte de nouvelles molécules nécessaires à la mise au point de futurs médicaments (**Maurice, 1997**).

Cependant, l'évaluation des propriétés phytopharmaceutiques, antioxydante et antimicrobienne demeure une tâche très intéressante et utile, en particulier pour les plantes d'une utilisation rare ou moins fréquente ou non connue dans la médecine traditionnelle. Ces plantes représentent une nouvelle source de composés actifs (**Teixeira, 2004**).

Actuellement, les plantes aromatiques possèdent un atout considérable grâce à la découverte progressive des applications de leurs huiles essentielles dans les soins de santé ainsi que leurs utilisations dans d'autres domaines d'intérêt économique. Leurs nombreux usages font qu'elles connaissent une demande de plus en plus forte sur les marchés mondiaux (**Tchamdja, 1995**).

Dans le domaine des anti-infectieux, la découverte de nouvelles substances est le but de l'homme depuis toujours, car la cause principale des décès autrefois était les maladies infectieuses, malgré les excellentes défenses contre l'infection dont est pourvu le corps humain (**Stanier et al., 1966**).

L'aromathérapie, l'art de soigner par les huiles essentielles, est devenue une science méthodique depuis qu'elle repose sur une classification de ces huiles selon leur capacité à lutter contre les bactéries. Il ya une vingtaine d'années, les docteurs Maurice Girault et Paul Bélaiche ont mis au point l'aromatogramme, méthode comparable à l'antibiogramme, qui permet de déceler quelles sont les huiles essentielles les plus efficaces sur un germe donné.

Les propriétés antibactériennes de l'ail écrasé, sont connues depuis longtemps (**Tahri et al., 2007**). Plusieurs études ont montrés que diverses préparations d'ail affichaient un spectre large d'activité antibactérienne contre les bactéries Gram positives et Gram négatives dont les espèces *Escherichia*, *Salmonella*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Bacillus*, et *Clostridium* (**Bakri, 2005**).

## Introduction Générale

---

La présente étude s'intéresse à l'évaluation de l'effet antibactérienne des huiles essentielles de l'espèce *Allium Sativum* (l'ail), sur 6 souches bactérienne pathogènes.

Notre travail est scindé en trois parties:

- la première partie qui est la partie bibliographique dans laquelle sont abordées des généralités sur les plantes médicinales, l'espèce *Allium Sativum* (ail) et des généralités sur les huiles essentielles.
- la deuxième partie: Matériel et Méthode qui illustre les différentes étapes suivies à savoir la préparation du matériel végétale, extraction des huiles essentielles et évaluation de leur activité antibactérienne par la méthodes des disques.

En fin, la troisième partie qui comporte tout les résultats obtenus et les discussions.



*Partie bibliographique*

# *Chapitre I:*

## *Les plantes médicinales*





# Chapitre I: Les plantes médicinales

---

## 1. Historique:

Les plantes médicinales sont extrêmement nombreuses aux Etats-Unis, il existe presque 1800 espèces de plantes médicinales disponibles commercialement, on estime que quelque 13000 espèces des plantes médicinales ont été utilisées pendant au moins un siècle comme remède des traditionnels par diverse cultures dans le monde entier, une liste de plus de 20000 plantes médicinales a été publiée et il y a fort à parier que beaucoup plus d'espèces de plantes à fleurs ont été utilisées à des fins médicinales on dit parfois qu'il y a 70000 espèces de plantes médicinales, mais ce chiffre englobe un grand nombre d'algues, de champignons et de micro organismes qui ne sont pas vraiment des plantes au sens où l'entendent habituellement les botanistes, Quoiqu'il en soit il n'existe pas d'autre catégorie des plantes utiles à l'homme qui compte autant d'espèces, et il est normal de se demander pourquoi autant de plantes ont des propriétés médicinales utiles (**Ernest *et al.*, 2000**).

## 2. Définition des plantes médicinales:

Les plantes médicinales sont les plantes qui contiennent une ou des substances pouvant être utilisées à des fins thérapeutiques ou qui sont des précurseurs dans la synthèse de drogues utiles.

Le groupe consultatif de l'OMS qui a formulé cette définition affirme également qu'une telle description permet de distinguer les plantes médicinales dont les propriétés thérapeutiques et les composants ont été établis scientifiquement des plantes considérées comme médicinales mais qui n'ont pas encore fait l'objet d'une étude scientifique consciencieuse. Nombre de plantes, sont employées en médecine traditionnelle depuis de nombreuses années certaines semblent efficaces. Ces plantes devaient être considérées comme plantes médicinales (**Sofowora, 2010**).

## 3. Mode d'obtention et récolte:

Des études scientifiques ont permis de définir le moment optimal de la récolte. Ainsi, sont récoltées de préférence:

- les racines au moment du repos végétatif (automne, hiver);
- les parties aériennes, le plus souvent au moment de la floraison;
- les feuilles justes avant la floraison;
- les fleurs à leur plein épanouissement, voir en bouton (aubépine).



## Chapitre I: Les plantes médicinales

---

- les graines, lorsqu'elles ont perdu la majeure partie de leur humidité naturelle (**Anton, 2005**).

### 4. Conservation des plantes médicinales:

Les plantes médicinales, rarement utilisées à l'état frais, doivent être conservées dans de bonnes conditions. Or, une fois récoltée, la plante se fane et meurt; apparaissent alors des processus de dégradations souvent préjudiciables à l'activité thérapeutique des plantes: Les principes actifs peuvent subir des hydrolyses (ex: hétérosides, alcaloïdes-esters), des oxydations et (ou) des polymérisations (tanins, composés terpéniques des HE), des isomérisations (alcaloïdes de l'ergot de Seigle), des racémisations (hyoscyamine) ... aboutissant à une perte d'activité de la plante. Ces dégradations, de nature enzymatique, nécessitent la présence d'eau. Elles peuvent être évitées par différents moyens parmi lesquels:

- la dessiccation, qui a pour but d'inhiber l'action des enzymes par élimination d'eau.
- la stabilisation, qui vise à les détruire (**Hameurlaine, 2009**).

### 5. La famille de liliacées:

Liliacées, Liliaceae: famille naturelle des plantes de la tribu des monocotylédones, de la troisième classe de Jussieu (monocotylédones périgynes), et de l'hexandre monogynie de Linné.

Sous le nom de liliacées, donné par Tournefort à l'une de ses classes, il comprenait beaucoup des plantes qui forment aujourd'hui des familles particulières, telles que les narcissoides, les iridées, les colchicacées, etc. toutes ces plantes ont en effet, entre elles de très grands rapports, et leur ensemble forme le groupe le plus brillant de tout le règne végétal. Noblesse, élégance et pureté des formes, éclat et variété des couleurs, délices du parfum, la nature, d'une main prodigue, s'est plus à répandre tous ses dons sur cette belle famille (**huitleme, 1818**).

### 6. Le genre *Allium Sativum*:

#### 6.1. Classification (Goetz *et al.*, 2012):

Royaume: Plante

Sous royaume: Trachéophyte = plantes vasculaires

Embranchement: Spermatophytes ou Phanérogames = plantes à graines

Sous embranchement: Angiospermes = plantes à fleurs



## Chapitre I: Les plantes médicinales

Classe: Monocotyledonae

Sous classe: Liliidae

Ordre: Liliales

Famille: Liliaceae ou Liliacées

Genre: *Allium*

Espèce: *Allium Sativum* L

Nom commun: Ail

Nom en anglais: Garlic

### 6.2. Description:

Plante vivace herbacée, de 20 à 40 cm de haut (peut atteindre 1m, l'ail se compose d'un bulbe à nombreux caïeux (gousses) souterrains, rassemblés dans une même enveloppe. De feuilles planes linéaires (0.5 à 1.5 cm de largeur) partant du bulbe, et à gaines embrassantes. D'une tige sortant du bulbe et se terminant en ombelle globuleuse, elle peut atteindre 1.2 m de haut. Avec des fleurs blanches ou rougeâtres entourées –avant la floraison– d'une longue spathe membraneuse caduque, terminée en pointe. L'odeur, faible, se développe –forte et soufrée– dès que les tissus sont lésés. Parmi les "*Alliums*", l'ail possède la plus puissante et pénétrable odeur (**Benzeggouta, 2005**), les Grecs l'appelaient "*rose puante*" (**Satiadev, 1998**). Le nom commun "ail" et le nom botanique "*Allium*", viennent du mot celtique "*All*" qui signifie "*qui brûle*". L'ail est originaire d'Asie centrale et cultivé partout dans le monde. La partie utilisée est le bulbe frais ou déshydraté, l'huile essentielle ainsi que son jus frais.



**Figure 01:** *Allium Sativum* L.



### 6.3. Sous-espèce et variétés:

L'ail est une plante herbacée à bulbe formé de 3 à 15 gousses appelées aussi caïeux, et qui sont en fait des bourgeons tubérisés par lesquels se fait la multiplication de la plante. L'ail cultivé se divise en deux sous-espèces connues sous le nom d'ail à tige dure (*Ophioscorodon*) et ail à tige molle (*Sativum*).

La première est résistante au froid et s'acclimate bien à une culture dans les régions plus nordiques. La seconde est mieux adaptée aux régions chaudes et ne produit pas de fleurs, sauf en conditions de stress (**Bekkai et Mazouzi, 2011**).

### 6.4. Origine et culture:

Serait originaire des plaines d'Asie centrale, est cultivé sur presque tout type de sol, notamment dans les régions du pourtour méditerranéen.

L'ail préfère les sols argileux, profonds, riches en humus et en nutriments, situés dans des endroits ensoleillés. Sa multiplication se fait par voie végétative grâce à ses caïeux plantés de septembre à mi-octobre (**Goetz et al., 2012**).

### 6.5. Description de bulbe:

Le bulbe est de forme arrondie ou ovale, d'un diamètre d'environ 4cm, constitué d'un plateau dur formé de caïeux « gousses » en nombre de 8 à 20, disposés en deux cercles concentriques, allongés, légèrement courbés et arguleux, le bulbe est enveloppé de minces feuilles ou tuniques membraneuses, blanches, mauves, rouges ou violettes selon les variétés. Chaque caïeu est formé d'une seule gaine foliaire charnue, entourée de plusieurs ébauches de feuilles superposées (**Goetz et al., 2012**).

### 6.6. Conditions de culture:

La culture de l'ail se fait dans une large gamme de sols, mais préférablement des sols légers, bien drainés, riches en matière organique et qui possèdent une bonne capacité à retenir les éléments nutritifs ainsi que l'humidité. Les sols lourds ne sont pas recommandés puisqu'ils ont tendance à durcir lors des périodes sèches et à limiter l'expansion des bulbes qui prennent

## Chapitre I: Les plantes médicinales



une forme irrégulière. Les sols sableux et trop légers exigent une régie de culture plus rigoureuse afin d'assurer le maintien de la fertilité des sols et l'humidité nécessaire.

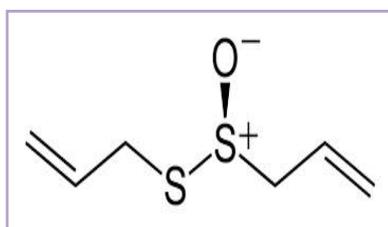
La grosseur des bulbes est directement liée à la croissance végétative de la plante: plus la tige sera grande et développée avant l'initiation du développement du bulbe et des gousses, plus les rendements seront élevés (Bekkai et Mazouzi, 2011).

### 6.7. Composition chimique:

La chimie de l'ail est tout à fait complexe. Les études sur l'ail ont commencé en 1844 avec Wertheim qui a extrait, examiné l'huile essentielle puis a établi le terme "*allyl*" pour le radical  $C_3H_5$ . Son travail a été repris, continué et corrigé par Semmler<sup>8</sup> en 1892, qui a publié plus de détails sur les constituants soufrés que contient l'huile de l'ail, il a trouvé des di- et trisulfures, dont le *diallyl disulfure*, comme constituant majeur, à la place du *diallyl sulfure* qu'a identifié Wertheim en 1844. En 1909, Rundavist avance une théorie (plus tard réfutée) que le précurseur des disulfures était un glucoside qu'il a nommé "*alliine*" mais n'a pas pu l'isoler sous une forme pure.

Les premiers exposés sur les propriétés physiques et la structure chimique du principal composé odorifiant et antibactérien de l'ail écrasé, étaient donnés par Cavallito et al. en 1944. Il a suggéré la structure:  $CH_2=CH-CH_2-S(O)-S-CH_2-CH=CH_2$ , et a introduit le terme "*Allicine*"

Pour ce composant. D'autres investigations par Stoll et Seebeck<sup>11</sup> montraient que l'allicine est formée par une réaction enzymatique d'un amino acide, appelé "*Alliine*".



*Allicine*

**Figure 02:** Composé principal de l'ail coupé.

L'ail contient approximativement entre 0.1 à 0.36 % d'huile volatile (peut aller jusqu'à 0.2-0.5%), des enzymes exp: alliinase peroxydase, des protéines 16.8% du poids sec, des minéraux, des vitamines: thiamine – riboflavine – niacine ..., des amino acides. Il renferme

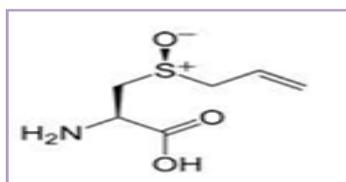
## Chapitre I: Les plantes médicinales



également des sucres: fructanes, des saponosides (hétérosides de furostanol) mais connu surtout pour ses composés soufrés.

Le constituant principal de l'ail frais non contusé est l'*alliine* ou *sulfoxyde de S-allyl-L-(+)-cystéine*, il y a aussi le S-(E)-1-propenyl cysteine sulfoxyde et le S-méthyl-cysteine

sulfoxyde. Ces trois composés sont des amino acides non protéiniques du métabolisme secondaire de l'ail.



*alliine*

**Figure 03:** Constituant majeur de l'ail intact.

Lorsque les tissus sont coupés ou broyés, l'alliine est dégradée par l'enzyme l'alliinase (S-alkyl-L-cystéine sulfoxyde lyase), en acide pyruvique et acide 2-propènesulfénique, ce dernier étant aussitôt transformé en allicine (0.3 % de la masse fraîche), qui est un diallyl thiosulfinate, d'autres thiosulfates sont présents: méthane-thiosulfates, allyl méthane-thiosulfates, propyl propanethiosulfates, et autres.... L'huile essentielle, qui est obtenue par entraînement à la vapeur et sous pression, contient une variété de sulfures: diallyl disulfure (DADS), diallyl trisulfure (DATS).... Ses caractéristiques: liquide claire, jaune pâle à rouge-orange, piquant, acide et odeur aromatique de l'ail. Les disulfures et les polysulfures sont moins volatils que les sulfures, mais possèdent une odeur plus offensive. Ils surviennent à travers des transformations secondaires provoquées par des enzymes de la plante et la chaleur de distillation.

## Chapitre I: Les plantes médicinales



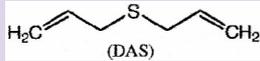
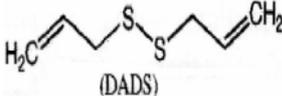
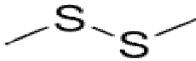
**Tableau N°1:** Composition chimique de l'huile essentielle de l'ail non diluée (Benzeggouta, 2005).

Constituants	Concentrations (mg / g)	Pourcentages
Diallyl monosulfure	106 ± 7	10.6
D.A. disulfure	530 ± 7	53.0
D.A. trisulfure	115 ± 4	11.5
D.A. tetrasulfure	43 ± 2	4.3
D.A. pentasulfure	10.5 ± 0.4	1.1
D.A. hexasulfure	0.14 ± 0.01	0.01
Méthyle allyl disulfure	44.1 ± 2	4.4
M.A. trisulfure	69.9 ± 2.2	7
M.A. tetrasulfure	24.6 ± 2.0	2.5
M.A. pentasulfure	6.3 ± 0.6	0.6
M.A. hexasulfure	1.5 ± 0.1	0.2
Diméthyl trisulfure	12.0 ± 1.3	1.2
D.M. tetrasulfure	4.3 ± 0.6	0.2
D.M. pentasulfure	2.0 ± 0.4	0.2

# Chapitre I: Les plantes médicinales



**Tableau N°2:** Structure de quelques composés de l'huile essentielle de l'ail.

Composés	Structure
diallyl sulfure	 (DAS)
diallyl disulfure	 (DADS)
allyl methyl sulfure	
dimethyl disulfure	

Les huiles macérées issues de l'ail, sont développées pour leur usage comme condiment, mais trouvent aussi d'autres utilisations comme antimicrobiens et comme anticancéreux. (Benzeggouta, 2005).

## 6.8. Propriétés pharmacologiques et emplois:

- ❖ Il possède des applications traditionnelles alimentaires et médicinales.
- ❖ Utilisé par les Egyptiens pour éviter les maladies.
- ❖ Les Romains l'utilisaient dans tous les potages et en distribuaient à leurs légionnaires avant chaque combat. Preuve qu'ils lui attribuaient déjà des vertus stimulantes.
- ❖ Le naturaliste romain, Pline l'ancien a inscrit plusieurs usages de l'ail: pour éloigner les scorpions, désinfecter les morsures de chiens, guérir la lèpre, asthme et épilepsie.
- ❖ Dans la médecine chinoise il était utilisé contre la diarrhée, dysenterie (bactérienne ou parasitaire), tuberculose pulmonaire, hématurie (sang dans les urines), diphtérie, coqueluche, typhoïde, hépatite, trachome, teigne du cuir chevelu ....
- ❖ Les Irlandais, les Danois et les Russes utilisaient l'ail, il y a des centaines d'années pour traiter la toux et le froid. L'ail était considéré comme *une panacée* (remède à tous), et ce jusqu'au Moyen Age, quand les grandes épidémies de peste mirent alors ses vertus à rude épreuve. Il était utilisé comme remède sous forme de vinaigre à l'ail, ou encore avec d'autres aromates et épices pour combattre la contagion. Les gens pensaient que son odeur puissante éloignait les puces et autres parasites vecteurs de maladies. Il était aussi utilisé pour traiter la bronchite chronique, mal de dents, douleurs d'oreille, pellicules, hypertension, artériosclérose, hystérie.



❖ Plusieurs de ces usages traditionnels ont été repris et vérifiés par des essais cliniques. Du fait que l'ail est riche en fructosanes jusqu'à 75% du poids sec, il est diurétique. C'est un hypotenseur dont l'effet est connu depuis longtemps chez l'homme, et a été confirmé chez l'animal. Egalement un antiathéromateux capable de faire diminuer triglycérides et cholestérol sanguins et d'augmenter le taux des HDL, Une alimentation suffisamment riche en ail diminue l'agrégation plaquettaire et augmente l'activité fibrinolytique, d'où l'intérêt de la plante dans la prévention des thromboses.

C'est aussi un expectorant, larvicide, insecticide, hypoglycémiant, antiviral, et prévient de certains cancers, dont plusieurs études sur le cancer de l'estomac (**Benzeggouta, 2005**).

### **6.9. Activité antibactérienne de l'ail:**

L'ail possède un large spectre d'activité antibactérienne et ceci contre des germes Gram positif et Gram négative notamment les espèces appartenant aux genres: *Bacillus* et *Proteus*, *Staphylococcus aureus*, *Shigella sonnei*, *Erwinia carotovora*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Escherichia coli*, *Pasteurella multocida*, *Streptococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*.

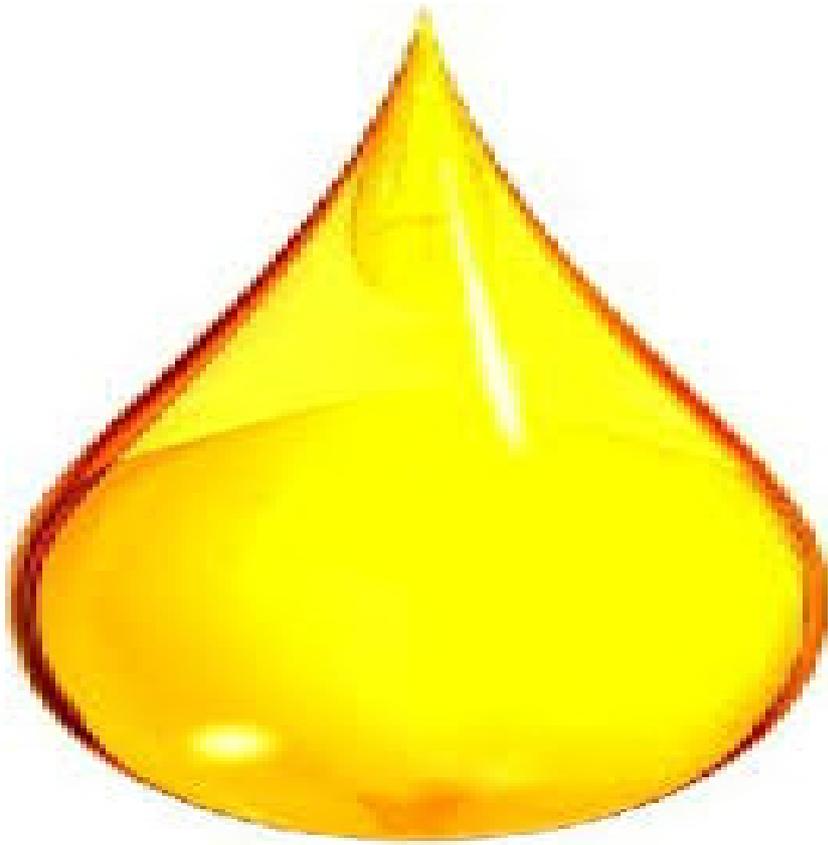
L'étude de l'activité antibactérienne de gousses de l'ail frais a été réalisée vis-à-vis de germes pathogènes alimentaires: *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi*, *Escherichia coli* et *listeria monocytogenes*, l'effet inhibiteur maximal fut observé contre *E. coli*

Le principe actif responsable est l'allicine dont le mécanisme d'action consiste en un changement du profil lipidique de la membrane cellulaire bactérienne.

L'huile essentielle extraite de l'ail inhibe à différents degrés, la prolifération in vitro de *staphylococcus aureus* et de *Staphylococcus enteritidis*.

Les souches d'enterocoques et autres bactéries pathogènes intestinales, responsables de diarrhées aussi bien chez l'humain que chez les animaux. Sont plus facilement inhibées par l'ail que la flore commensale intestinale (**Goetz et al., 2012**).

**Chapitre II :**  
**Généralités sur les huiles**  
**essentiels**



## Chapitre II: Les huiles essentielles



Avec la découverte de la distillation, il est devenu possible de séparer le mélange de produits chimiques odorants du matériel végétal, ainsi, les huiles essentielles sont nées (**Wright, 1995**).

### 1. Définition:

D'après William Naves [1874-1936], aucune des définitions des huiles essentielles n'a le mérite de la clarté, ni celui de la précision. Cet auteur définit les huiles essentielles comme « des mélanges de divers produits issus d'une espèce végétale, ces mélanges passent avec une certaine proportion d'eau lors d'une distillation effectuée dans un courant de vapeur d'eau ». Cette définition a été reprise à peu de choses près par AFNOR et ISO: « l'huile essentielle est le produit obtenu à partir d'une matière première d'origine végétale, soit par entraînement à la vapeur, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe frais de certains agrumes, soit par distillation. L'huile essentielle est ensuite séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques» (**ISO, 1997; AFNOR, 2000**).

Pour certains auteurs comme **Carette (2000)**, il est important de distinguer huile essentielle et essence ; cette dernière est une sécrétion naturelle élaborée par l'organisme végétal, contenue dans divers types d'organes producteurs, variables selon la partie de la plante considérée. En revanche, une huile essentielle est un extrait naturel de matières premières d'origine végétale, obtenu par distillation par la vapeur d'eau, c'est-à-dire que l'huile essentielle est l'essence distillée. Les huiles essentielles n'ont pas une présence générale chez les végétaux. Parmi les 1 500 000 espèces végétales, 10% seulement sont dites « aromatiques », c'est-à-dire qu'elles synthétisent et sécrètent des infimes quantités d'essence aromatique (**Bruneton, 1999; Degryse et al., 2008**). Certaines familles se caractérisent par le grand nombre d'espèces à essences qu'elles groupent, en particulier les Labiés, les Ombellifères, les Myrtacées et les Lauracées (**Benayad, 2008**).

### 2. Localisations des huiles essentielles dans la plante:

Les HEs n'existent quasiment chez les végétaux supérieurs, elles sont produits dans le cytoplasme des cellules sécrétrices et s'accumulent en général dans des cellules glandulaires spécialisées, souvent située sur ou à proximité de la surface des tissus de plantes et recouvertes d'une cuticule. Ensuite, elles sont stockées dans des cellules à huiles essentielles (lauraceae ou zingiberaceae), dans des poils sécréteurs (Lamiaceae), dans des poches

## Chapitre II: Les huiles essentielles



sécrétrices (Myrtaceae ou Rutaceae) ou dans des canaux sécréteurs (Apiaceae ou Asteraceae).

Elles peuvent être stockées dans divers organes végétaux : les fleurs (yalang, bergamotier, rose...) les sommités fleuries (tagète, lavande,...) les feuilles (citronnelles, eucalyptus, laurier,...), les racines (vétiver), les rhizomes (gingembre, curcuma ; ...) les fruits (ansi badiane...) le bois (bois de rose, santal,...) ou les graines (ambrette, muscade). (**Oussala *et al.*, 2006**).

### 3. Facteurs intervenant dans la qualité des huiles essentielles:

Les facteurs prédominants dans la qualité des huiles essentielles peuvent avoir deux types d'origines:

- Technologique.
- Naturel.

De profondes modifications de l'huile essentielle peuvent intervenir lors de l'exploitation des végétaux depuis leur collecte jusqu'à leur transformation industrielle.

Le mode de récolte, les conditions de transport, séchage et de stockage peuvent générer des dégradations enzymatiques. Les changements les plus importants interviennent pendant l'hydrodistillation sous l'influence des conditions opératoires, notamment du milieu (l'acidité, température) et de la durée d'extraction. D'autres facteurs tels que les traitements auxquels on peut procéder avant ou pendant l'hydrodistillation (broyage, dilacération, dégradation chimique ou enzymatique, pression, agitation) contribuent à la variation du rendement et de la qualité de l'huile essentielle.

Au cours de l'hydrodistillation, le milieu aqueux résultant de l'immersion du matériel végétal atteint des pH compris entre 4 et 7 et occasionnellement, des valeurs inférieures à 4 pour certains fruits. Les constituants de l'essence native sont soumis aux effets combinés de l'acidité et de la chaleur, et peuvent subir des modifications chimiques. L'huile essentielle récupérée est un produit qui diffère sensiblement de l'essence originelle, d'autant plus que l'ébullition est longue, et le pH est faible.

La matière végétale est l'objet de réactions chimiques diverses : hydrolyses, déprotonations, hydratations et cyclisations, pouvant être catalysées par des métaux présents à l'état de trace dans la plante ou provenant des équipements de récolte et d'extraction provoquant des transformations chimiques des constituants. L'hydrolyse d'esters est souvent

## Chapitre II: Les huiles essentielles



la première réaction qui se produit. Elle conduit à la formation d'acides organiques qui, à leur tour, catalysent les réactions de cyclisation et de déshydratation (**Hameurlaine, 2009**).

### 4. Caractéristiques et propriétés physiques:

Les huiles essentielles sont constituées de molécules aromatiques de très faible masse moléculaire (**Degryse et al., 2008**). Elles sont très inflammables et très odorantes, liquides à température ambiante. Exposées à l'air, les huiles essentielles se volatilisent. Elles ne sont que très rarement colorées. Leur densité est en général inférieure à celle de l'eau sauf les huiles essentielles de saffran, de girofle et de cannelle. Elles ont un indice de réfraction élevé et la plupart dévient la lumière polarisée (optiquement active) (**Bruneton, 1999; Rhayour, 2002; Desmares et al., 2008**).

Elles ont parfois un toucher gras ou huileux mais ce ne sont pas des corps gras. Par évaporation, peuvent retourner à l'état de vapeur sans laisser de traces, ce qui n'est pas le cas des huiles fixes (olive, tournesol ...) qui ne sont pas volatiles et laissent sur le papier une trace grasse persistante (**Bernadet, 2000**).

Les huiles essentielles ne sont que très peu solubles ou pas du tout dans l'eau. Entraînables à la vapeur d'eau, elles se retrouvent dans le protoplasme sous forme d'émulsion plus ou moins stable qui tend à se collecter en gouttelettes de grosse taille (**Rhayour, 2002; Benini, 2007; Benayad, 2008**). Par contre, elles sont solubles dans les solvants organiques usuels (**Bruneton, 1999**).

### 5. Composition chimique:

Sur le plan chimique, les HEs sont des mélanges de structure extrêmement complexe, pouvant contenir plus de 300 composés différents. Ces substances sont des molécules très volatiles appartenant pour la grande majorité à la famille des terpènes comme les monoterpènes (myrcène,  $\beta$ -pinène,  $\gamma$ -terpinène) et les sesquiterpènes ( $\beta$ -caryophyllène,  $\alpha$ -humulène,  $\beta$ -bisabolène et ) (**Hellal, 2011**).

#### A. terpénoides:

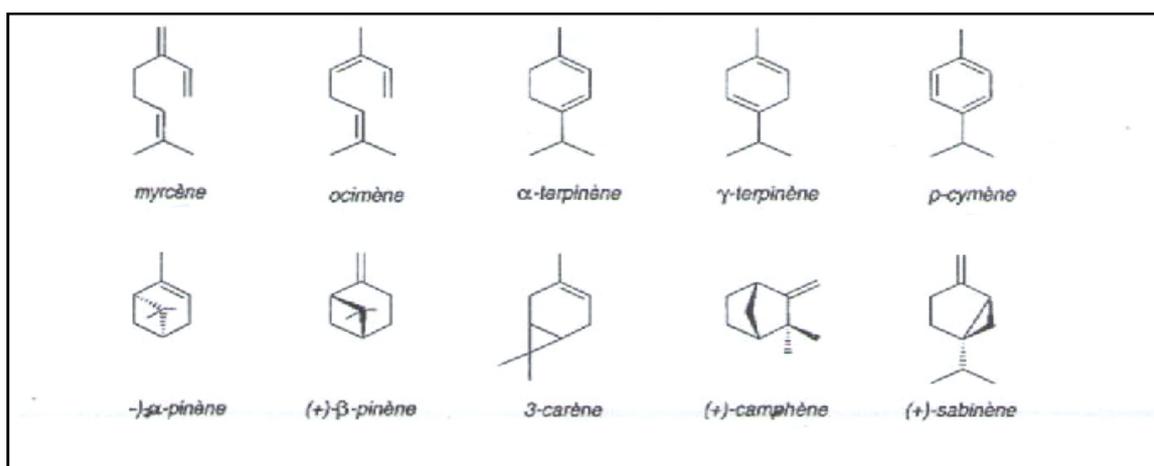
Dans le cas des HEs, seuls seront rencontrés les terpènes les plus volatils: mono-et sesquiterpènes (**Bruneton, 1999**).

## Chapitre II: Les huiles essentielles



### A.1. Les monoterpènes:

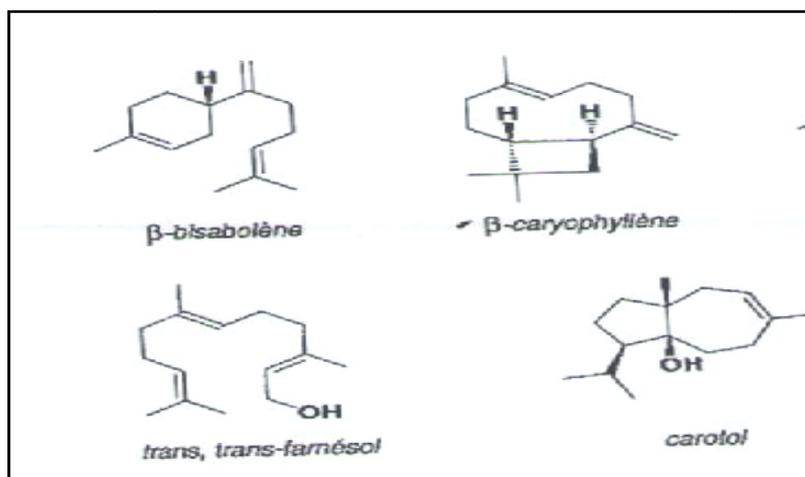
Les carbures sont presque toujours présents, ils peuvent être acycliques (myrcène, ocimènes), monocyclique ( $\alpha$ -et  $\gamma$ -terpinène, p-cymène) ou bicyclique (pinène, camphène, sabinène), ils constituent parfois plus de 90 % de HE citrus, térébenthines (**Bruneton, 2009**).



**Figure 04:** Exemple de structures de monoterpènes acycliques et cycliques rencontrés dans les huiles essentielles (**Bruneton, 2009**).

### A.2. Les sesquiterpènes:

Un grand nombre de sesquiterpènes sont des constituants habituels des huiles essentielles des végétaux supérieurs. Ils peuvent intervenir dans les propriétés pharmacologiques attribuées à ces fractions volatiles (**Bekhechi et al., 2010**).

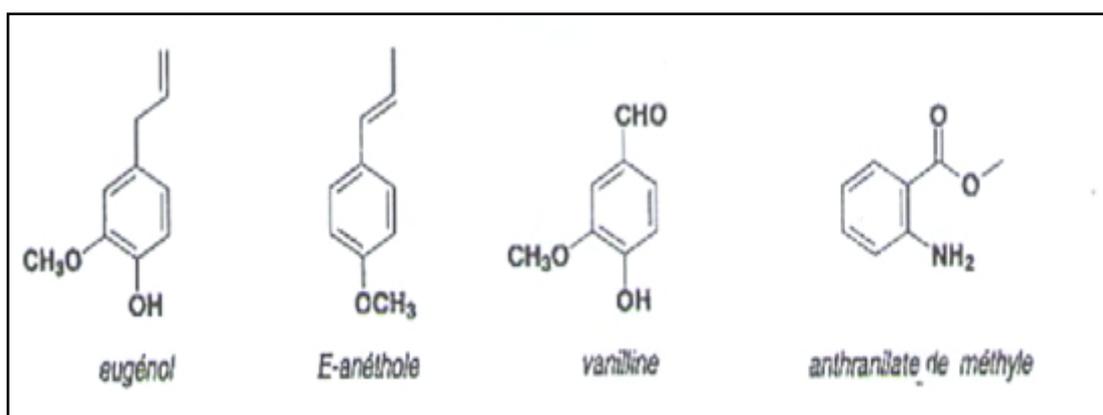


**Figure 05:** Exemples de structures de sesquiterpènes rencontrées dans les huiles essentielles (**Bruneton, 1999**).



### B. Composés aromatiques:

Les dérivés du phénylpropane ( $C_6-C_3$ ) sont beaucoup moins fréquents que les précédents, ce sont très souvent des allyles- et des propénylphénols, parfois des aldéhydes, ou peut également rencontre dans les HEs des composés en ( $C_6-C_1$ ) comme la vanilline ou comme l'antranilate de méthyle (**Bruneton, 1999**).



**Figure 06:** Exemples de structures de composés aromatiques rencontrés dans les huiles essentielles (**Bruneton, 1999**).

### C. Les composés d'origine diverses:

Compte tenu de leur mode d'extraction, les huiles essentielles peuvent renfermer divers composés aliphatiques, généralement de faible masse moléculaire, entraînés lors de l'hydro distillation. Ces produits peuvent être azotés ou soufrés (**Teisseire, 1991**).

### 6. Emplois et Propriétés pharmacologiques:

L'intérêt pour les huiles essentielles s'est accru, et la demande est de plus en plus forte tant pour l'enseignement de l'aromathérapie que pour les traitements. Beaucoup d'entre elles sont utilisés pour assaisonner et aromatiser les aliments. Elles ont aussi une grande importance économique comme saveurs, parfums et solvants (**Benzeggouta, 2005**), il est fabriqué aussi des désodorisants, de l'encens et des produits pour le bain (**Bremness, 1998**). L'emploi des huiles essentielles est en particulier dans le domaine des antiseptiques externes, mais peuvent être destinées à l'aromatisation des médicaments administrés par voie orale. Elles constituent aussi le support d'une pratique de soins particulière: *l'Aromathérapie*. De même qu'elles sont utilisées dans l'industrie agro-alimentaire comme conservateurs, et dans l'industrie chimique.

## Chapitre II: Les huiles essentielles



Sachant que les essences n'ont pas les mêmes composants que les plantes dont elles sont issues, elles ne peuvent donc pas avoir les mêmes actions ni être employées à leur place. Par exemple, la feuille d'*Eucalyptus*, en infusion exerce un effet favorable certains chez les diabétiques, alors que l'essence de cette même plante est absolument sans effet antidiabétique. Mais cette dernière est plus assainissant de l'atmosphère dans certains cas, que les vapeurs de décoction des feuilles.

Cependant plusieurs activités sont attribuées aux huiles essentielles: cholérétique, cicatrisante, neurosédative, spasmolytique, digestive, stomachique, antimicrobienne, anti-inflammatoire, désinfectante du système respiratoire, antioxydant, acidifiante, tonocardiaque, oxydante des déchets du métabolisme, fluidifiante du sang, antivenimeuse, antispasmodique, pour la conservation tissulaire (embaumement vivant), pouvoir de protéolyse rapide, sédation épidermique locale, revitalisation par oxygénation et défloculation du sang. Ce sont les terpènes, parmi les constituants chimiques, qui sont responsables de ces vertus et par conséquent, usages médicaux des plantes aromatiques et médicinales. La propriété la plus importante des huiles essentielles est l'osmose facile au travers des tissus et leur élimination complète et rapide. Les muscles et embellir la peau.

### 7. Méthodes d'extraction:

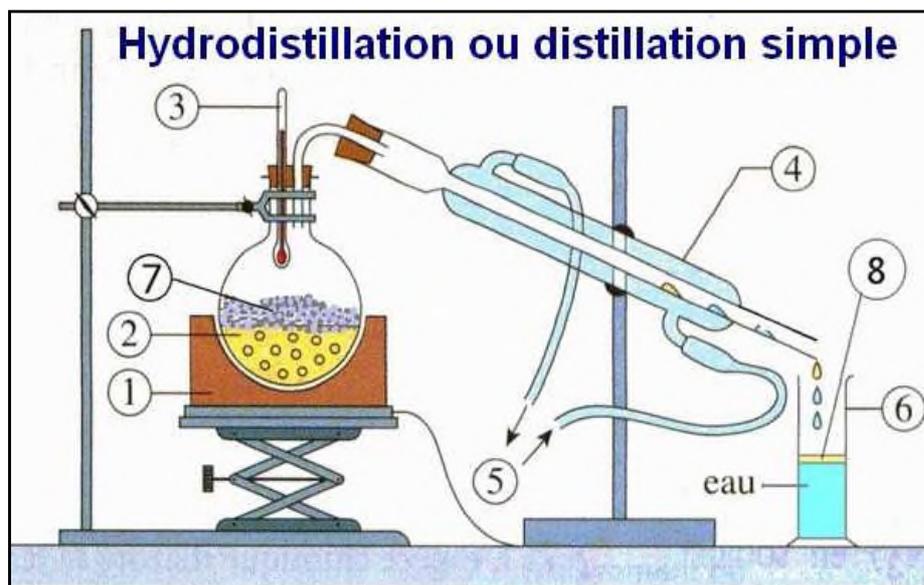
Différentes méthodes sont mises en œuvre pour l'extraction des essences végétales. En général le choix de la méthode d'extraction dépendra de la nature du matériel végétal à traiter (graines, feuilles, ramilles), de la nature des composés (par exemple: les flavonoïdes, les HEs, les tanins), le rendement en l'huile et la fragilité de certains constituants des huiles aux températures élevées.

#### 7.1. Distillation:

Selon **Piochon (2008)**, il existe trois différents procédés utilisant le principe de la distillation: l'hydrodistillation, l'hydrodiffusion et l'entraînement à la vapeur d'eau.

#### ❖ Hydrodistillation

Il s'agit de la méthode la plus simple et, de ce fait la plus anciennement utilisée. La matière végétale est immergée directement dans un alambic rempli d'eau, placé sur une source de chaleur, le tout est ensuite porté à l'ébullition. Les vapeurs sont condensées dans un réfrigérant et l'HE se sépare de l'hydrolysat par simple différence de densité.



**Figure07:** Schéma du principe de la technique d'hydrodistillation.

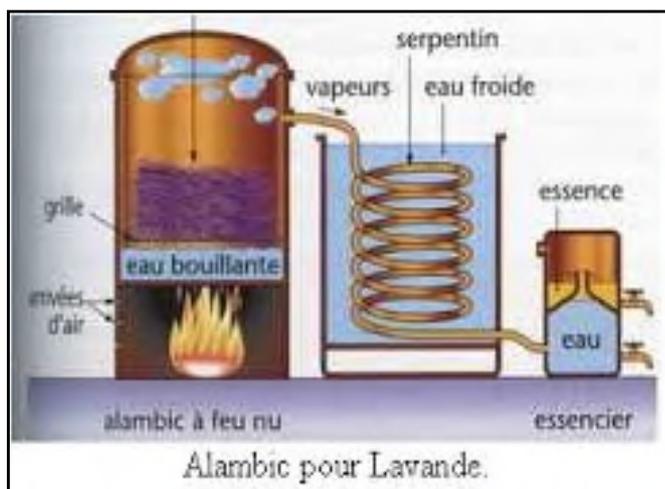
- |                   |                                 |
|-------------------|---------------------------------|
| 1- chauffe ballon | 5- Entrée et sortie d'eau       |
| 2- Ballon         | 6- Erlenmeyer                   |
| 3- Thermomètre    | 7- Matière à extraire l'essence |
| 4- Réfrigérant    | 8- La couche d'HE               |

### ❖ Hydrodiffusion

Elle consiste à pulser de la vapeur d'eau à travers la masse végétale, du haut vers le bas. Ainsi le flux de vapeur traversant la biomasse végétale est descendant contrairement aux techniques classiques de distillation dont le flux de vapeur est ascendant. L'avantage de cette technique est traduit par l'amélioration qualitative et quantitative de l'huile récoltée, l'économie du temps, de vapeur et d'énergie.

### ❖ Distillation par entraînement à la vapeur d'eau

Dans ce type de distillation, le matériel végétal ne macère pas directement dans l'eau. Il est placé sur une grille perforée au travers de laquelle passe d'eau (figure 08). La vapeur endommage la structure des cellules végétales et libère ainsi les molécules volatiles qui sont ensuite entraînées vers le réfrigérant. Cette méthode apporte une amélioration de la qualité de l'HE en minimisant l'altération hydrolytique.



**Figure 08:** Schéma du principe de la technique de l'entraînement à vapeur (Lucchesi, 2005).

### 7.2. Extraction assistée par micro-ondes:

Extraction assistée par micro-ondes est une nouvelle technique qui combine l'utilisation des micro-ondes et d'autres méthodes traditionnelles. Dans ce procédé, la matière végétale est chauffée par micro-ondes dans une enceinte close dans laquelle la pression est réduite de manière séquentielle. Les composés volatils sont entraînés par la vapeur d'eau formée à partir de l'eau propre à la plante, ils sont ensuite récupérés à l'aide des procédés classiques condensation, refroidissement, et décantation.

### 7.3. L'extraction par expression:

Les premiers procédés d'extraction consistaient à presser l'écorce des citrus pour faire éclater les tissus contenant l'huile essentielle en les frottant sur des récipients dont les parois étaient recouvertes de pics en fer. Puis le procédé dit à « l'éponge » s'est développé, les écorces étaient pressées plusieurs fois contre un système d'éponges naturelles fixées sur une bassine en terre cuite. La pression était accompagnée par un mouvement de rotation de la main. Le mélange exprimé était recueilli par essorage des éponges. Finalement par simple décantation, l'HE est séparée de la phase aqueuse qui contient aussi des débris produits par la lacération des tissus de l'écorce (Bruneton, 1999).

Le principe de la méthode est très simple: les zestes sont dilacérés et le contenu des poches sécrétrices qui ont été rompues est récupéré par un procédé. Le procédé classique consiste à exercer, sous un courant d'eau, une action abrasive sur la surface du fruit.

Après élimination des déchets solides, l'HE est séparée de la phase aqueuse par centrifugation (Bruneton, 1999).

## Chapitre II: Les huiles essentielles



Cette méthode artisanale est totalement abandonnée au bénéfice des machines utilisées pour permettre l'extraction des jus des fruits d'une part, et d'essence d'autre part (**Belaiche, 1979**).

### 8. Activité biologique

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

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

#### 8.1. Activité antibactérienne:

##### 8.1.1. Généralités sur les bactéries:

Une bactérie est un microbe formé d'une seule cellule, visible au microscope, appartenant à une zone de transition entre le règne animal et le règne végétal. Comme toute cellule, les bactéries sont constituées d'un noyau, isolé ou diffus, un protoplasme contenant des granulations et des vacuoles, une paroi parfois d'une capsule.

Certaines bactéries sont mobiles grâce à des cils vibratiles. Selon leur mode de nutrition et leur comportement vis-à-vis de l'oxygène, les bactéries sont classées en aérobies et en anaérobies.

Les bactéries se reproduisent selon deux modes:

- la division simple ou scissiparité
- la sporulation, le spore représentant la forme de résistance et de dissémination du germe.

Pour croître, les bactéries doivent trouver dans le milieu extérieur des conditions physico-chimiques favorables qui leur sont nécessaires et les aliments couvrant leurs besoins énergétiques élémentaires et spécifiques. Sur le plan pratique, ces besoins sont satisfaits dans

## Chapitre II: Les huiles essentielles



des milieux élaborés par l'homme en vue d'étudier les bactéries et sont appelés de ce fait, milieux de culture (Djemoui, 2012).

Une bactérie est composée:

- d'un noyau, contenant dans un seul chromosome, le patrimoine génétique de la cellule
- d'un cytoplasme, contenant des ribosomes, siège des protéiques et éventuellement des plasmides
- d'une paroi, ou membrane, lui donnant sa forme, sa rigidité et ses antigènes, le constituant essentiel d'une paroi bactérienne.

### 8.1.2. Classification des bactéries d'intérêt médical:

#### A. Bactéries en forme de sphère : les cocci:

##### ➤ **Coccies Gram positif :**

Nous avons les genres *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Micrococcus*, *Pneumococcus*, *Enterococcus*.

##### ➤ **Coccies Gram négatif**

Nous avons le genre *Neisseria*.

#### B. Bactéries en forme de bâtonnet: les bacilles

##### ➤ **Bacilles Gram positif**

Nous avons les genres *Listeria*, *Erysipelothria*, *Bacillus*, *Cynetobacter*, *Actynomyces*.

##### ➤ **Bacilles Gram négatif**

Nous avons les genres *Entérobactérie*, *Pasteurella*, *Haemophilus*, *Bordetella*, *Brucella*, *Francisella*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter*.

##### ➤ **Bacilles acido-alcoolo résistants (BAAR)**

Ici, nous retrouvons le bacille de la tuberculose et celui de la lèpre.

#### C. Bactéries en forme de spirale: les spirochètes

Nous avons les genres *Treponema*, *Leptospira*, *Borrella*, *Spirillum*.

#### D. Flore bactérienne anaérobie

##### ➤ **Gram positif**

Nous avons les genres *Clostridium*, *Peptococcus* *Peptostreptococcus*,

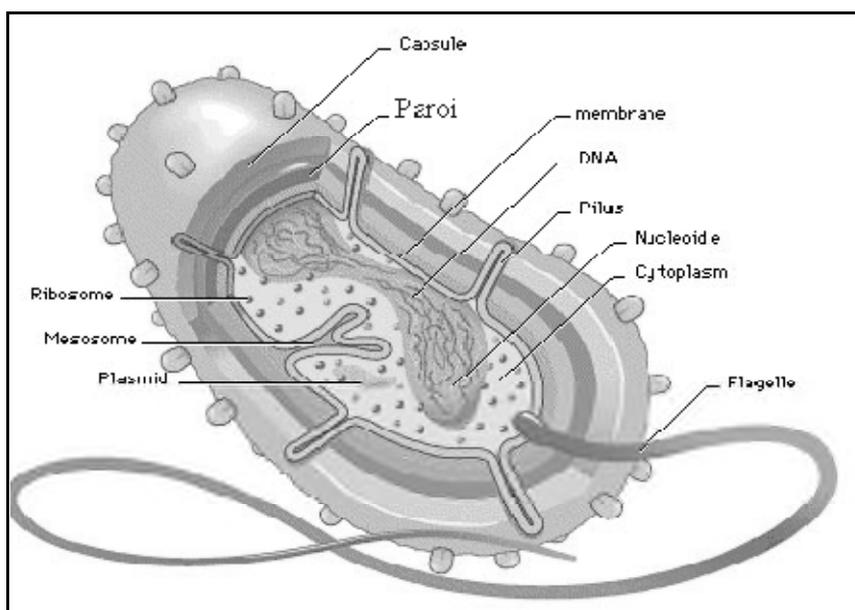


*Propionobacterium.*

### ➤ Gram négatif

Nous avons les genres *Veillonella*, *Fusobacterium*, *Bacteroides* (Djemoui, 2012).

### 8.1.3. Morphologie et Structure fine des bactéries:



**Figure N° 9:** Structure d'une bactérie avec ses différents éléments: obligatoires et facultatifs.

La cellule est enveloppée par une paroi rigide, qui lui donne sa forme et sa résistance. Epaisse chez les bactéries à gram positif et plus mince chez les bactéries à gram négatif; la paroi entoure une membrane cytoplasmique, plus fine et plus délicate. Les bactéries à gram négatif possèdent une seconde membrane, qui est la membrane externe pour la distinguer de la membrane cytoplasmique, dite interne. Le cytoplasme sous-jacent contient essentiellement des granulations d'acide ribonucléique, les ribosomes ainsi que des substances de réserve comme le glycogène. L'appareil nucléaire se distingue par son aspect fibrillaire, finement réticulé, et qui occupe une grande partie de l'espace cellulaire, et il n'est pas entouré d'une membrane. Il existe des structures membranaires intra-cytoplasmiques appelées mésosomes qui sont le plus souvent étroitement associés à l'appareil nucléaire (rôle de fixation). D'autres composants peuvent être présents (éléments facultatifs), comme le glycocalyx (polymère de surface polysaccharidique), la capsule, les flagelles (mobilité), les fimbriae (fixation sur d'autres cellules), les pili sexuels (interviennent au cours des processus de conjugaison).

## Chapitre II: Les huiles essentielles



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

### 8.1.4. Données générales sur les bactéries testées:

#### ➤ *Escherichia coli*

C'est une bactérie à Gram négatif, commensal du tube digestif de l'homme et de l'animal, de forme non sporulée, de type aérobie facultative, généralement mobile grâce aux flagelles, sa longueur varie de 2 à 6  $\mu\text{m}$ , alors que sa largeur est de 1,1 à 1,5  $\mu\text{m}$ , *E. coli* représente la bactérie la plus impliquée dans les infections aiguës d'appareil urinaire, elle provoque également les diarrhées d'été, diarrhée infantile et les intoxications alimentaires (Percival, 2004).

#### ➤ *Staphylococcus aureus*

Ce sont des cocci Gram positif avec un diamètre de 0,5 à 1,5  $\mu\text{m}$ , de forme non sporulée, qui tendent à se grouper en paires, petites chaînes, elles sont habituellement non capsulée, ou possédant des capsules limitées, elles sont anaérobies facultatives. *Staphylococcus aureus* représente l'agent commun des infections postopératoires de blessures, endocardite aiguë, intoxication alimentaire (Dworkin et Falkow, 2006).

#### ➤ *Pseudomonas aeruginosa*

Ce sont des bacilles Gram négatif, de forme non sporulée, elles sont aérobies, mobiles grâce à la présence de 1 à 2 flagelles, ce type de bactérie synthétise de types principaux de pigments pyocyanine: bleue phénazine, pyoverdine: jaune vert, il s'agit de bactéries résistantes pour plusieurs antibiotiques (Percival, 2004). *Pseudomonas aeruginosa* est responsable de 16 % des cas de pneumonie nosocomiale, 12 % des infections urinaires, 8 % des infections suites aux blessures chirurgicales (Van Delden et Iglewski, 1998).

#### ➤ *Klebsiella pneumoniae*

Les *Klebsiella* sont des Enterobacteriaceae bacilles gram négatif, immobiles et capsulées. Ce sont des bactéries ubiquitaires présentes dans le tube digestif et dans l'appareil respiratoire des Hommes et des animaux en tant que bactéries commensales. Elles sont fréquentes dans les selles et peuvent être un indicateur d'une contamination fécale. Elles sont abondantes dans le sol, les eaux et sont des fixateurs de l'azote atmosphérique.

## Chapitre II: Les huiles essentielles



### 8.1.5. Activité liée à la composition chimique:

L'efficacité d'une H.E dépend de sa richesse en composés phytochimiques, plus l'H.E est riche en substances actives, plus son activité est importante. L'activité biologique d'une H.E est liée à sa composition chimique, aux groupements fonctionnels des composés majoritaires (alcools, phénols, les composés terpéniques cétoniques). Les composés minoritaires jouent aussi un rôle important dans l'activité des H.Es et semblent agir en synergie avec les composés principaux. Les composés chimiques qui ont d'efficacité et, à large spectre sont les phénols (thymol, carvacrol, eugénol). Les alcools ( $\alpha$ -terpinéol, terpinen-4-ol, linalol), les aldéhydes, les cétones et rarement les terpènes (Hellal, 2011; Zhiri, 2006).

### 8.1.6. Evaluation de l'activité antibactérienne:

L'examen des données bibliographiques fait apparaître la diversité des méthodologies utilisées pour mettre en évidence l'activité antibactérienne des H.Es. Le choix de la méthode est conditionné par l'insolubilité des H.Es dans les milieux aqueux, leur volatilité, et la nécessité de les tester à de faibles concentrations.

➤ **Aromatogramme:** L'aromatogramme est basé sur une technique utilisée en bactériologie médicale appelée antibiogramme ou méthode de disques ou méthode par diffusion en milieu gélosé. La technique consiste à utiliser des disques de papier imprégnés des différentes substances à tester, puis déposés à la surface d'une gélose uniformément ensemencée avec une suspension de la bactérie à étudier. Après incubation, les colonies se développent à la surface de la gélose laissant des zones vierges autour des disques appelée zone d'inhibition. Plus le diamètre de la zone d'inhibition est grand, plus la souche est sensible à la substance testée, plus il est petit plus la bactérie est résistante. Le diamètre de ces zones d'inhibition est proportionnel à l'activité bactériostatique de l' H.E sur le germe testé. On peut exprimer cette activité soit en indiquant directement le diamètre de la zone d'inhibition en millimètre, soit en traduisant en croix le degré d'activité (Guerin et Carret, 1999).

➤ **Méthode de diffusion en puits:** Méthode proposée par COOPER et WOODMAN en 1946 et, reprise par SHROEDER et MESSING en 1949. Elle assure une diffusion radiale de l'H.E à partir d'un puits en donnant une zone d'inhibition claire facilement mesurable. La méthode consiste à découper un trou circulaire dans la gélose et y verser une solution de l'H.E de concentration connue. L'H.E diffuse radialement en donnant une zone d'inhibition

## Chapitre II: Les huiles essentielles

---



circulaire à la surface de la gélose préalablementensemencée avec la suspension bactérienne (Eymard, 2003).

➤ **Méthode de dilution:** Les H.Es à tester peuvent également être directement mélangées en concentration connue au milieu de culture, qu'il soit solide ou liquide (exige la dispersion homogène par un émulsifiant). Le milieu est ensuite inoculé à un taux déterminé de microorganismes, après incubation, on note la présence ou l'absence de culture. La lecture peut-être visuelle ou à l'aide d'un spectrophotomètre, le degré d'inhibition est en rapport avec la turbidité du milieu (Robert-Demuet, 1995).

➤ **Méthode de micro-atmosphère:** Cette technique consiste à cultiver les microorganismes à tester dans les boites de pétri sur milieu de culture approprié. La différence réside principalement dans la position du disque imprégné d'H.E qui est déposé au centre du couvercle de la boite de pétri, renversée après fixation de H.E sur le disque. Celui-ci n'est donc pas en contact avec le milieu gélosé. L'huile s'évapore dans l'atmosphère de la boite, elle peut exercer son effet inhibiteur sur les microorganismes testés (Pibiri, 2005).



Partie

*Expérimentale*

# *Matériel et Méthodes*





## Matériel et Méthode



La partie expérimentale a été réalisée au niveau de laboratoire privé « Bakha » à Ain Mlila de la wilay du Oum El-bouaghi pour l'extraction des huiles essentielles de la variété de l'ail (RL) *Allium Sativum*, et laboratoire pédagogique de centre université de Mila pour l'étude de l'activité antibactérienne de cette huile pendant la période allant de Janvier 2014 à Mai 2014.

### 1. Matériel:

#### 1.1. Matériel végétal:

La plante utilisée dans ce travail se trouvant sur le marché de Chalgoum-Elid Mila, elle été achetée sous forme fraîche (bulbe).

➤ Quelques caractérisation de la plante utilisée:

- Le bulbe est de forme arrondie, d'un diamètre d'environ 5 à 6cm.
- Le nombre de cailleus « gousses » est d'environ 8 à12.
- Le bulbe est enveloppé de tuniques membraneuses de couleur blanches.
- chaque cailleu est formé d'une seule gaine foliaire de couleur rouge.
- Possédant une forte odeur lorsqu' il est coupé.



**Figure N° 10:** le bulbe de l'ail (rouge locale).



## Matériel et Méthode



### 1.2. Les souches bactériennes:

Les souches testées font parties de deux groupes bactériens: les Gram positive et les Gram négative, ces souches nous ont été fournies aimablement par responsable de laboratoire de la microbiologie de centre hospitalier Universitaire (CHU) de Constantine et le laboratoire de bactériologie de l'hôpital de Mila (Tableau N° 03).

**Tableau N°03:** La liste des souches bactériennes.

Nom de la souche	N° ATCC	Gram	Famille
<i>Sataphylococuse aureus</i>	25923	+	Micrococcaceae
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	700603	-	Enterobacteriaceae
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	27853	-	pseudomonadaceae
<i>Sataphylococuse albus</i>	Clinique	+	Micrococcacrae
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Clinique	-	Enterobacteriaceae
<i>E.coli</i>	Clinique	-	Enterobacteriaceae

### 1.3. Les milieux de culture:

Nous avons utilisée les milieux suivant:

- Bouillon nutritive (BN)
- Gélose nutritive (GN)
- Gélose Mueller-Hinton (MH)

## 2. Méthodes:

### 2.1. Procèdes d'extraction:

Les huiles essentielles de l'ail (RL) sont extraites par la méthode d'hydrodistillation, par ébullition pendant 2 heures d'un mélange de 500 g de matériel végétal et d'eau distillée.



## Matériel et Méthode



Le matériel végétal est coupé en parties très fines et écrasé dans un mortier et soumis à l'HD en se servant du dispositif d'extraction type clvenger.

L'hydrodistillation se base sur le pouvoir que possède la vapeur d'eau à transporter les H.Es. L'opération consiste à immerger une quantité de la masse végétale dans un ballon en verre contenant une quantité suffisante d'eau distillée sans remplir complètement le ballon pour éviter les débordements au cours de l'ébullition. Le mélange est porté à ébullition à l'aide d'une chauffe ballon. Les vapeurs chargées d'huile essentielle passent à travers le tube, puis à travers le réfrigérant où aura lieu la condensation. Les gouttelettes ainsi produites s'accumulent dans le tube rempli au préalable d'eau distillée. En raison de la différence de densité, l'huile surnage à la surface de l'eau distillée, dans une ampoule à décanter le mélange l'eau distillée et l'huile essentielle est versé en suite dans un décanteur qui nous a permis la séparation entre la phase huileuse et la phase aqueuse, la phase huileuse aussi récupérée et séchée avec du sulfate de sodium.

Avant l'extraction des huiles nous avons nettoyé le dispositif (montage) avec l'éthanol suivant rincer à l'eau distillée pour éviter la contamination d'huile essentielle. (**Gachkar *et al.*, 2006**).

Les H.Es obtenues sont conservées à 4°C dans des tubes bien fermés, en verre ombré. Le rendement en H.Es est exprimé en pourcentage par rapport à la matière sèche.



## Matériel et Méthode



**Figure N° 11:** les étapes de l'extraction.



## Matériel et Méthode



### ➤ Conservation de l'extrait:

Les H.Es extraites sont conservées à une température de 4 °C jusqu'à utilisation, dans des flacons en verre opaque, fermés hermétiquement pour les préserver de l'air, de la lumière et des variations de température qui sont des principaux agents de dégradation.

### 2.1.1. Calcul de rendement:

Le rendement en H.Es est le rapport entre le poids d'H.E extraite et le poids de la biomasse végétale à traiter. Le rendement est exprimé en pourcentage (%) et calculé par la formule suivante:

$$R = (P_h / P_v) \cdot 100$$

R: rendement en huile essentielle en %.

P<sub>h</sub>: poids de l'huile essentielle en gramme.

P<sub>v</sub>: poids de la biomasse végétale en gramme.

## 2.2. Activité antibactérienne

### 2.2.1. Préparation du milieu de culture:

Le milieu de culture approprié à cette étude est le milieu Muller-Hinton préparé comme suit:

Dissoudre 38 g de la poudre gélose Muller-Hinton (Annexe I) dans un litre d'eau distillée. Faire bouillir avec agitation jusqu'à dissolution complète, puis auto-claver pendant 15 minutes à 121°C et finalement couler le milieu dans les boîtes de Pétri.

### 2.2.2. Stérilisation du matériel:

L'eau physiologie, les milieux de culture, les tubes à essai utilisés dans la préparation de la suspension bactérienne et les disques en papier Wattman (6 mm de diamètre) enrobés dans du papier aluminium ont été stérilisés à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes.



## Matériel et Méthode



### 2.2.3. Préparation de l'inoculum:

Les souches bactériennes sont ensemencées dans la gélose nutritive et incubées à 37°C pendant 24 h, pour optimiser leur croissance. On racle à l'aide d'une anse de platine quelques colonies bien isolées et identiques de chacune des souches bactériennes à tester. Décharger l'anse dans 10 ml d'eau distillée stérile, La suspension bactérienne est bien homogénéisée, son opacité doit être équivalente à 0.5 Mc Farland, à une DO de 0.08 à 0.10 à 625 nm.

L'inoculum peut être ajusté en ajoutant, soit de la culture s'il est trop faible, ou bien de l'eau physiologique stérile s'il est trop fort.

### 2.2.4. Ensemencement :

Le milieu de culture utilisé est Muller – Hinton, qui est le milieu le plus employé pour les tests de sensibilité aux agents antibactériens.

- tremper un écouvillon stérile dans la 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 de 60° à chaque fois, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même. Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélosé.

### 2.2.5. Préparation des disques d'aromatogramme:

Les disques sont fabriqués à partir de papier Wattman n°3 avec un diamètre de 6 mm. Une fois les géloses Muller – Hinton sont ensemencées, les disques sont disposés sur la surface de la gélose à l'aide d'une pince stérilisée au bec bunsen. Ensuite, par une micropipette stérile les disques sont imprégner par l'extrait d'ail (RL) « 5µl dans chaque disques », et la même chose pour le DMSO.



## Matériel et Méthode



### 2.2.6. Lecture des antibiogrammes:

La lecture se fait par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition autour de chaque disque à l'aide d'une règle en (mm). Les résultats sont exprimés par le diamètre de la zone d'inhibition et peut être symbolisé par des signes d'après la sensibilité des souches vis-à-vis des H.Es (Ponce *et al.*, 2003).

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

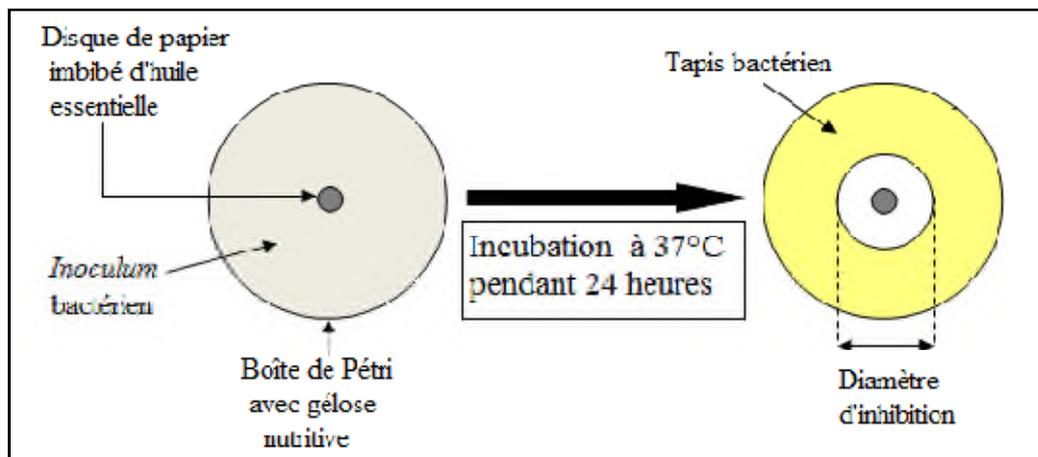


Figure N° 12: Principe de la méthode de diffusion par disque.

### 2.2.7. Détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI):

Pour les concentrations minimales inhibitrices (CMI), Il s'agit de déterminer les plus petites concentrations auxquelles les extraits présentent encore une activité antibactérienne visible à l'œil nu.

### 2.2.8. Préparation des dilutions d'huile essentielle:

Pour pouvoir obtenir différents concentrations de l'H.E. Nous avons diluée dans le DMSO (diméthyle sulfoxydes). Ce choix a été fait, parce que, le DMSO est le solvant préférable pour la majorité des auteurs, notamment, (Gachkar *et al.*, 2006) qui ont prouvé que le DMSO n'a aucun pouvoir antibactérien puissant.



## Matériel et Méthode



Des dilutions de demi en demi ont été effectuées dans une gamme de concentration de 500 $\mu$ l/ $\mu$ l à 62.5 $\mu$ l/ $\mu$ l de l'HE à tester (tableau N°4).

Nous avons déterminé la CMI uniquement pour l'HE de l'ail qui a présenté une activité antibactérienne importante vis-à-vis de *Klebsiella pneumoniae* ATCC et *Escherichia coli*.

**Tableau N°4:** valeurs des dilutions utilisée pour déterminée la CMIs:

Rapport de dilution (HE/DMSO)	1/2	1/4	1/8	1/16
%	50	25	12.5	6.25
$\mu$ l.HE/ $\mu$ l.DMSO	500	250	125	62.5

**RESULTATS**

**ET**

**DISCUSSION**



### 1. Rendement en huile essentielle et aspect

L'hydrodistillation de bulbes d'ail de la variété RL fournit un rendement en huile essentielle de 0,4%. L'huile d'ail est d'une couleur jaune, et une odeur forte, semblable à celle de bulbe.

Selon **Amagase *et al.* (2001)**, l'ail contient approximativement entre (0,1 à 0.36%) d'huile volatile (peut aller jusqu'à 0.2-0.5%). donc notre résultat est en accord avec ceux de la recherche référentielle.

Selon **Soubeiran (1857) et Bechet (1844)**: l'huile d'ail qui est caractérisée par la couleur jaune, et une odeur forte et âcre. Ceci est similaire au résultat obtenu par notre travail sur l'ail Rouge locale.

### 2. L'activité antibactérienne

Nous avons étudiés in vitro le pouvoir antibactérienne de notre variété par la méthode de diffusion des disques sur un milieu gélose solide, Mueller-Hinton pour les différentes souches bactériennes.

L'activité antibactérienne de l'extrait à été estimée en termes de diamètre de la zone d'inhibition autour des disques contenant l'extrait testé.

#### ➤ L'aromatogramme

#### 2.1. Extraits brut de l'ail:

Les observations effectuées sur l'effet des H.Es d'ail (RL) sur la croissance des souches bactériennes testées: *S. aureus*, *Ps. aeruginosa*, *E. coli* et *Klebsiella*. Sont représentées dans le tableau (05) et la figure (13).

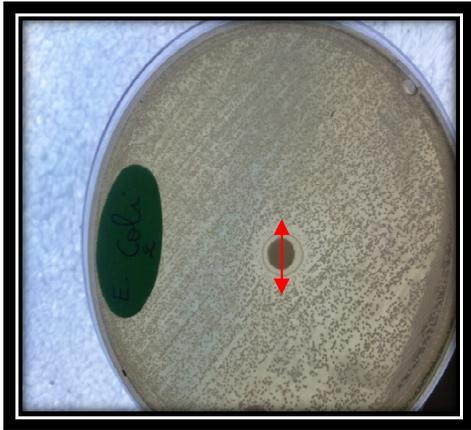
**Tableau N°5:** les diamètres des zones d'inhibitions en mm obtenus avec les extraits bruts d'*Allium Sativum* (RL):

Bactéries	Les diamètres des zones d'inhibitions en mm
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 700603	12
<i>Escherichia coli</i>	10
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	7.5
<i>Staphylococcus albus</i>	7
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-

**Remarque:** Les diamètres des disques (6mm) sont inclus dans les mesures des diamètres de la zone d'inhibition.

-D'après le tableau on remarque que:

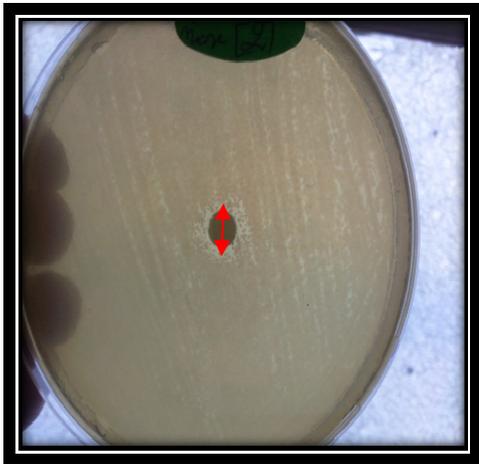
La zone d'inhibition chez *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603, est estimée par un diamètre de 12 mm, ensuite la Souche *Escherichia coli* par un diamètre de 10 mm, alors qu'on remarque une zone d'inhibition de 7.5 mm chez *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 et 7 mm chez *Staphylococcus albus*, mais concernant les autres souches *Klebsiella pneumoniae* et *Staphylococcus aureus* nous observant aucune zone d'inhibition (figure N° 13).



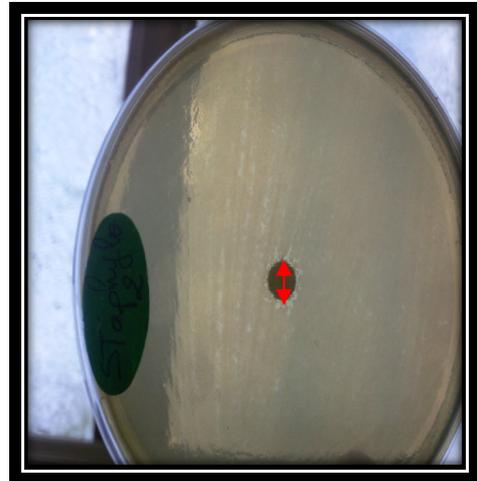
*E. coli*



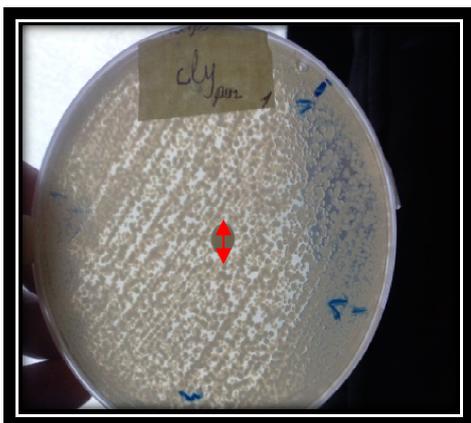
*K. pneumoniae* ATCC 70060



*Ps. aeruginosa* ATCC 27853



*S. albus*



*K. pneumonia*



*S. aureus* ATCC 25923

**Figure N° 13:** photos montrant l'effet d'H.E de l'ail (RL).

La sensibilité des bactéries aux H.Es est déterminée selon le diamètre de zones d'inhibition par la méthode de diffusion sur le disque stérile.

Solen les résultats ci-dessus concernant l'activité antibactérienne des H.Es testées est en fonction de la bactérie cible, il s'est avéré qu'aucune zone d'inhibition autour des disques n'a été observée vis-à-vis de *S. aureus* ATCC 25923 et *Klebsiella* (clinique). Ces bactéries possèdent une résistance contre l'action antibactérienne des H.Es d'*allium sativium* (RL). Ces résultats sont similaires d'une étude réalisée par **Benzeggouta (2005)** sur les huiles infusées de l'ail. Et contredire les résultats obtenus par le même auteur sur le jus de ce dernier, On a été trouvée des diamètres estimés par 14 mm chez *Klebsiella* et 42 mm chez *S. aureus*.

Une étude réalisée par **Souza (1995)** sur l'extrait aqueux de rhizome de l'ail montre la sensibilité de *S. aureus* ATCC 25923 à cet extrait.

En revanche, les souches *Ps. aeruginosa* ATCC 27853 et *S. albus* (clinique) manifestés une légère zone d'inhibition a été observée, autour des disques estimée par 7.5 et 7 mm respectivement. et selon **Ponce et al. (2003)**, ces bactéries non sensibles « résistantes » parce que les zones d'inhibition obtenus est inférieur de 8 mm. Selon **Benzeggouta (2005)** qui a montrée la sensibilité élevée (15 mm) de *Ps. aeruginosa* ATCC 27853 à l'extrait de jus.

D'ailleurs, les souches *Klebsiella* ATCC 70060, *E.coli* possèdent une activité antibactérienne de l'H.Es de l'ail (RL) et donnent des zones d'inhibitions sont estimées par 12 et 10 mm respectivement. **Ponce et al. (2003)**, ces bactéries sont sensibles à l'H.Es lorsqu'elles donnent des zones d'inhibitions de diamètre entre 9 et 14 mm.

Cela est en accord avec les résultats obtenus par **Souza et al. (1995)**, et **Benzeggouta (2005)** concernant la souche *E. coli*.

### 2.2. Effet de DMSO sur les souches bactériennes:

Absence de zones d'inhibition, après 24 heures d'incubation à 37°C, indique que le DMSO ne présente aucune activité antibactérienne sur les souches testés *E. coli* et *K. pneumoniae* ATCC 700603. De ce fait, il est choisi en tant que diluant pour les H.Es (figure N° 14).

### 2.3. Détermination de la concentration minimale inhibitrice:

Les concentrations minimales inhibitrices obtenues avec les différentes dilutions des extraits d'ail sont indiquées dans le Tableau N° 06 et Figure N° 14.

**Tableau N°6:** Valeurs des CMI de l'huile volatile de l'ail (RL).

CMI(%)	50 %	25 %	12.5 %	6.25 %
<b>Bactérie</b>				
<i>Klebsiella pneumoniae ATCC</i>	-	-	+	+
<i>Escherichia coli</i>	+	+	+	+

(+) présence de croissance. (-) absence de croissance.

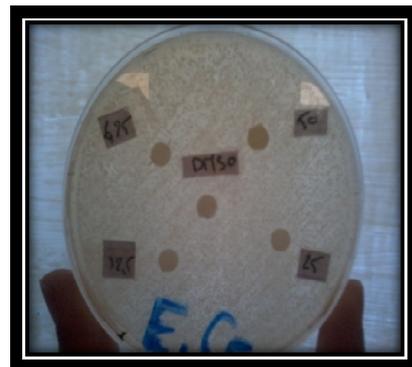
➤ D'après le tableau 06 on note les observations suivantes:

Absence de la croissance bactérienne de la souche *Klebsiella pneumoniae ATCC* dans les dilutions 50 % et 25 %, cela indique que, l'huile essentielle d'ail (RL) diluée donne une activité antibactérienne contre cette souche. Alors qu'on remarque la présence de la croissance de cette souche bactérienne dans les dilutions 12.5 % et 6.25 %, donc aucune activité antibactérienne avec ces dilutions.

Présence de la croissance bactérienne de la souche *E. coli* dans les différents dilutions et cela indique aucune activité antibactérienne de l'huile d'ail (RL), avec les différents dilutions testées.



*Klebsiella pneumoniae*



*E. coli*

**Figure N ° 14:** Les résultats de dilutions pour l'extrait de l'ail et de l'effet de DMSO sur les souches, *E. coli* et *klebsiella pneumoniae ATCC 700603*.

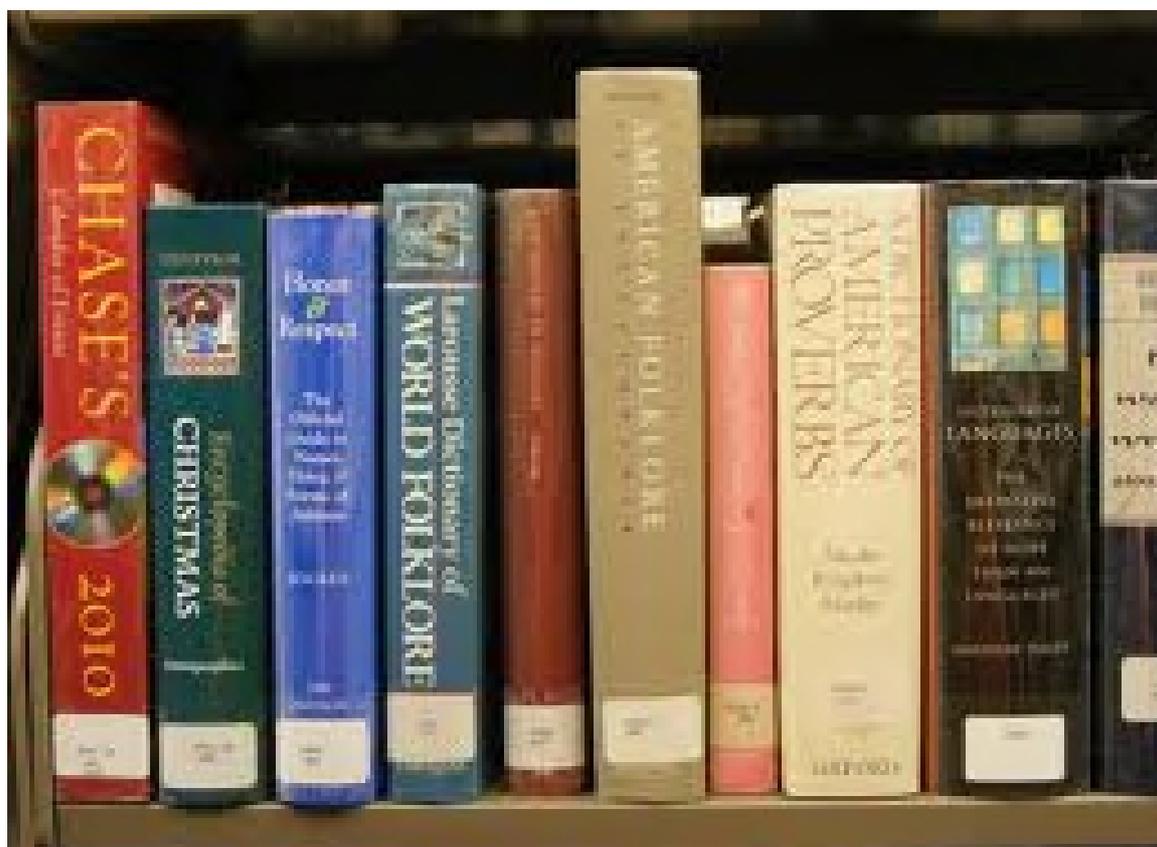
Les plantes médicinales restent toujours la source des principes actifs connus par leurs propriétés thérapeutiques. Une étude de l'activité antibactérienne a concerné une plante appartenant à la famille de liliacée présente en Algérie. Dans cette étude nous avons prouvé expérimentalement la sensibilité ou la résistance de quelques souches bactériennes pathogènes à l'huile essentielle de rouge locale (*Allium Sativum*).

L'obtention des huiles essentielles des bulbes d'ail a été accomplie par hydrodistillation à l'aide d'un dispositif de type Clevenger et on obtient un rendement de 0,4%.

Pour l'activité antibactérienne, la méthode de diffusion des disques nous a permis de mettre en évidence le pouvoir antibactérien de l'huile essentielle d'ail vis-à-vis de six bactéries. Ce pouvoir est relativement important avec des zones d'inhibitions variant entre 7 et 12 mm. La méthode de dilution a confirmé les résultats de la méthode de diffusion des disques. Le CMI obtenue est de 25 %.

En fin, les résultats de nos travaux indiquent que la plante étudiée possède des propriétés antibactériennes contre les bactéries à gram négatif *E. coli* et *K. pneumoniae*.

# Références Bibliographiques



### A

- 1-AFNOR.** 2000. Huiles essentielles, Monographies relatives aux huiles essentielles. Tome 2.  
6<sup>ième</sup> édition. AFNOR, Paris.
- 2-Amagase H., Petesch BL., Matsuura H., Kasuga S and Itakura Y.** 2001. Intake of garlic and its bioactive components. Journal of Nutrition. 131, 955s-962s.
- 3-Anton R., Lobstein A.** 2005. Plantes aromatiques, Epices, aromates, condiments et huiles essentielles. Tec et Doc, Paris.p 522.

### B

- 4-Bakri IM.** 2005. Inhibitory effect of garlic extract on oral bacteria. Arch Oral Biol; 50(7) 645- 51.
- 5-Belaiche P.**1979. Traité de phytothérapie et d'aromathérapie, l'aromatogramme. Tome 1, Ed Maloine.
- 6-Benayad N.** 2008. Les huiles essentielles extraites des plantes médicinales marocaines, Moyen efficace de lutte contre les ravageurs des denrées alimentaires stockées. Université Mohammed V – Agdal. Rabat.p63.
- 7-Bekhechi Ch., Abdelouhid D.**2010. Les huiles essentielles, Offices des publications Universitaires. p20.
- 8-Bekkai S et Mazouzi S.** 2011. Contribution à l'étude phytochimique et biochimique d'un Extrait d'ail (*Allium sativum*) chez le lapin hyperthyroïdien. Mémoire de Master. Université Badji Mokhtar d'Annaba.
- 9-Benini C.** 2007. Contribution à l'étude de la diversification de la production d'huiles Essentielles aux Comores. Mémoire d'ingénieur. Université Gembloux.p 109.
- 10-Benzeggouta N.** 2005. Etude de l'activité antibactérienne des huiles infusées de quatre plantes médicinales connues comme aliments. Mémoire de magister en pharmacochimie, Université de mentouri de Constantine. P51-57.
- 11-Bernadet M.** 2000. Phyto-aromathérapie pratique, plantes médicinales et huiles essentielles. Ed, Dangles.
- 12-Bremness L.** (1998) . Les plantes aromatiques et Médicinales. Bordas Editions.

**13-Bruneton J.** 1999. Pharmacognosie, Phytochimie, plantes médicinales. Tec et Doc. Lavoisier 3ème édition, Paris.

**14-Bruneton J.** 2005. Pharmacognosie, Phytochimie, plantes médicinales, monoterpènes, et sesquiterpènes. Tec et Doc, paris. P522.

**15-Bruneton J.** 2009. Pharmacognosie, Photochimie, plantes médicinales. Tec et Doc. Lavoisier 4ème édition, Paris.

### C

**16-Carette A.S,** 2000. La lavande et son huile essentielle. In Besombes C., 2008. Contribution à l'étude des phénomènes d'extraction hydrothermomécanique d'herbes aromatiques, Applications généralisées. Thèse de doctorat. Université de La Rochelle.p 289.

### D

**17-Degryse A.C., Voinier M.A., Delpla I.** 2008. Risques et bénéfices possibles des huiles essentielles. Atelier santé environnement -IGS- EHESP,p 87.

**18-Desmares C, Laurent A, Delerme C.** 2008. Recommandations relatives aux critères de qualité des huiles essentielles. AFSSAPS. Anatole, France. p18.

**19-Djemoui D.** 2012. Contribution à l'étude de l'activité antioxydante et antibactérienne de quelques coumarines synthétisées. Mémoire master academique. Université kasdi merbah ouargla.PP15, 16.

**20-Dumas J-B.** 1844. Traité de chimie, appliquée aux arts, volume 7.Béchet jeune, Paris.

**21-Dworkin M-M, Falkow S.**2006. Proteobacteria, Gamma subclass. Ed. Springer, New York, NY.p 248.

### E

**22-Ernest F.B, Paul M Catling.**2000. Les cultures médicinales canadiennes.

**23-Eymard S.** 2003. Mise en évidence et suivi de l'oxydation des lipides au cours de la conervation et de la transformation de chinchrd (trachurus trachurus), choix des pvocedés.

Thèse de Doctort en Génie des procédés (Ecole Doctorale en Génie des procedés , spécialité Biochimie). Nant. France.

### H

**24-Hellal Z.** 2011. Contribution à l'étude des propriétés antibactériennes et antioxydantes de certaines huiles essentielles extraites des *Citrus*, Application sur la sardine (*Sardina pilchardus*). Mémoire magister, Université Mouloud Mammeri de Tizi-ouzou.p 5.

**25-Hitleme T-V.** 1818. dictionnaire des sciences médicales. Paris.

**26-Hameurlaine S.** 2009. Mise en évidence des huiles essentielles contenues dans les plantes Pituranthos scoparius et Rhantherium adpressum de la région de Ghardaïa.diplôme de Magister, Université de Kasdi Merbah -Ouargla-.P 3.

### I

**27-ISO,** 1997. Norme ISO 9235 : Matières premières d'origine naturelle - Vocabulaire.p 2.

### G

**28-Goetz P, Ghédira K.**2012. phytothérapie anti-infectieuse : collection phytothérapie pratique. Springer science et Business. P212.

**29-Guerin-Fauble V,et Carret G.**1999. L'antibiogramme, principes, méthodologie, intérêt et limites. Journées Nationales GTV-INRA. p 512.

### K

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

### L

**31-Leclerc H, Gaillard J-L, Simonet M.** 1995. Microbiologie générale, la bactérie et le

monde bactérien. Doin Editeurs, Paris.

**32-Lucchesi ME.** 2005. Extraction sans solvant assistée par micro-ondes.conception et application à l'extraction des huiles essentielles, thèse de doctorat en sciences discipliné : chimie. Université de la réunion, faculté des sciences et technologie.

### M

**33-Maurice N.** 1997. L'herboristerie d'antan à la phytothérapie moléculaire du XXIe siècle. Ed. Lavoisier, Paris. pp12-14.

### O

**34-Oussla M, Caillet S, Saucier L, Lacoix M.** 2006. Antimicrobienne effects of selectd plant essential oils on the growth of a pseudomonas putida strain isolated from meat-meat science: vol 73 PP 236-244.

### P

**35-Percival SL.** 2004. Microbiology of waterborne diseases. Ed. Elsevier Academic Press, Amsterdam; Boston. p 480.

**36-Piochon M.** 2008. Étude des huiles essentielles d'espèce végétale de la flore laurentienne : composition chimique, activité pharmacologique et hémi-synthèse. Mémoire université du Quebec à chicoutimi, canada.

**37-Ponce A., fritz R., del valle C., et roura S.**2003. Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard, lebensmittel- wissenschaft und technologic.

### R

**38-Rhayour K.** 2002. Etude du mécanisme de l'action bactéricide des huiles essentielles sur *Esherichia coli*, *Bacillus subtilis* et sur *Mycobacterium phlei* et *Mycobacterium fortuitum*. *Thèse de doctorat*. Université Sidi Mohamed Ben Abdellah. Fès, Maroc.p 170.

**39-Pibiri MC.**2005. Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huile essentielle. Thèse de Doctoral. Polytechnique Fédérale de Lausanne.

**40-Robert-Demuet S.**1995. Méthodes de dilutions. In Antibiotiques et antibiogrammes, 131-137. Montréal-canada.

### S

**41-Satiadev S.** 1998. L'ail condiment et médicament. prosi Magazine N° :351.

**42-Sofowora A.**2010. Plantes médicinales et médecine traditionnelle d'Afrique, économie et développement. Karthala Editions. P165.

**43-Soubeiran E.** 1857. Traite de pharmacie theorique et pratique, volume 1,V. Masson.P637.

**44-Souza C., Koumaglo K., et Gbeassor M.**1995. Evaluation des proprietes antimicrobiennes des extraits aqueux totaux de quelques plantes medicinales.

**45-Stanier RY., Doudoroff M., Adelberg ED A.** 1966. Microbiologie Générale. Masson et Cie Editeurs.

### T

**46-Tahri, N., Orch, H., Zidane, L.**2007. Ail et microbes, examen critique de la littérature, revue antibiothérapeutique. Journée Scientifique « Ressources Naturelles et Antibiothérapie » Laboratoire de Biodiversité et Ressources Naturelles. Université Ibn Tofail, Kenitra.

**47-Tchamdja K,M.**1995. Etude de performance d'un extracteur artisanal pour la production d'essence de citronnelle. Mémoire d'ingénieur des travaux biologiques, ESTBA, UB, 95 p.

**48-Teisseire P.J.**1991. Chimie des substances odorantes. Tec et Doc., Lavoisier, Paris, France.480p.

**49-Teixeira da Silva J. A.**2004. Mining the essential oils of the Anthemideae. Afr. J. Biotechnol. P 706-720.

### V

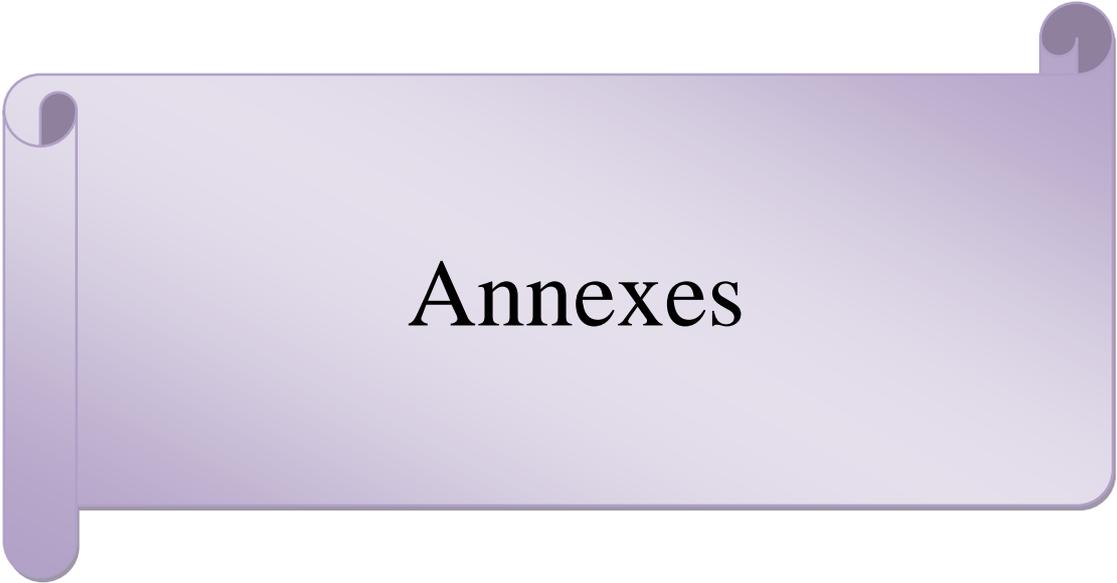
**50-Van Delden C., Iglewski B. H.**1998. Cell-to-cell signaling and *Pseudomonas aeruginosa* infections. *Emerg. Infect. Dis.* 4: 551-560.

### W

**51-Wright J.** 1995. Essential oils. *In* Ashurst PR (Ed) Food flavorings, Blackie Academic and Professional Edition.

### Z

**52-Zhiri A** 2006. Les huiles essentielles un pouvoir antimicrobien avéré, *Nutra News*. Science Nutrition, prévention et santé. Edité par la fondation pour le libre choix.p 12,8.

A horizontal purple scroll graphic with a gradient from light to dark purple. The scroll is unrolled in the middle, with the top and bottom edges curled up. The word "Annexes" is written in a black, serif font in the center of the unrolled portion.

# Annexes

### **Annexe I: préparation des Milieux de culture utilisée**

#### **➤ Milieux solides:**

##### **1. Gélose Mueller-Hinton (M-H)**

- 38g poudre: Gélose Mueller-Hinton

- 1000 ml: l'eau distillé.

-PH: 7,4

-stérilisation à 121 °C/15 mn.

##### **2. Gélose nutritive (GN)**

-20 g poudre: Gélose nutritive

-1000ml: l'eau distillé

-PH: 7,3

-stérilisation à 121 °C/15 mn.

#### **➤ Milieux liquides:**

##### **1.Eau physiologique stérile**

-1000 ml: Eau distillé

-9g: Chlorure de sodium (NaCl)

-PH: 7

-stérilisation à 121 °C/15 mn.

##### **2. Bouillon nutritive (BN)**

-20g poudre : Bouillon nutritive

-1000ml : eau distillé

-PH : 7,4

-stérilisation à 121 °C/15 mn.

Annexe II: Matériels laboratoire et produits chimiques

➤ Appareillage



Spectrophotomètre



Balance de précision



Etuve



Bac benzène



Plaque chauffante avec agitation



PH mètre



Autoclave



Vortex



Micro pipette

### ➤ **Verreries**

- Pipettes
- boites de pétries
- Eprouvettes
- Verres à pied (250ml100ml)
- Tubes à visse
- flacons (250 ml)
- bécher
- spatule
- pipettes pasteur
- anse de platine
- écouvillons
- ampoule à décante
- pissettes

### ➤ **Réactif**

- diméthyle sulfoxyde (DMSO)
- Hcl
- NaOH
- Sulfate de sodium



# Résumés

**Résumé :étude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de l'espèce *Alliumsativum*.**

Dans le cadre de l'exploitation de nos ressources naturelle, nous intéressons à étudié une plante poussant un peu partout dans le monde entier appartenant à la famille des liliacées ( *Allium sativum*) et on a pris comme exemple dans notre étude la variété rouge locale .

Ce travail englobe les travaux et les résultats suivants :

L'extraction des huiles essentielles de la plante médicinale d'ail (*Allium sativum*), de la famille *liliacées* a été obtenues par hydrodistillation.Le pouvoir antibactérienne de l'extrait a été étudié in vitro par la méthode de diffusion des disques sur les souches bactérienne isolées à partir d'échantillons pathologiques de patients hospitalisés et centre hospitalier Universitaire (CHU).

D'après les résultats obtenus on a remarqué que le rendement en huile essentielle est de l'ordre de 0.4% est conforme aux standards international.

L'activité antimicrobienne a donné des résultats intéressants d'inhibition de *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 par une zone de diamètre 12 mm, *Escherichia coli* par 10 mm.

Concernant le CMI Obtenus est de 25% chez *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603.

**Mot clé :** plantes médicinales, huiles essentielles, ail, *AllumSativum*, activité antibactérienne, Concentration minimales inhibitrices(CMI).

## المخلص: دراسة النشاط ضد بكتيري للزيوت الطيارة لنوع من الثوم.

في اطار استغلال المصادر الطبيعية اهتمنا بدراسة نبتة منتشرة عبر العالم تنتمي الى عائلة الزنبقيات وكمثال عل ذلك درسنا نوع الثوم الاحمر المحلي.

هذا العمل يضم التجارب و النتائج التالية :

تحصلنا على الزيوت الطيارة للنبته الطبية الثوم من العائلة الزنبقية , عن طريق التقطيربخار الماء.تم دراسة النشاط المضاد للبكتيريا في المختبر بطريقة الانتشار على سلالات بكتيرية معزولة من عينات مرضية لمرضى بالمستشفى وأخرى من المركز الاستشفائي الجامعي.

\* المرمدود المتحصل عليه من خلال استخلاص الزيوت الطيارة للنبته يقدر ب0.4 % و يعتبر هذا الأخير مقبول حسب المعايير المعمول بها.

\* الفعالية ضد النشاط البكتيري اعطت نتائج مهمة بحيث يملك زيت الثوم فعالية ضد

*K.apneumoniae ATCC700603* بقطر 12مم وضد *E. coli* بقطر 10مم.

\*اما فيما يخص التركيز الادنى المثبط المتحصل عليه هو 25% عند السلالة البكتيرية *K.pneumoniae ATCC 700603*

**الكلمات المفتاحية:** النباتات الطبية, الزيوت الطيارة, الثوم, النشاط ضد البكتيري, الحد الادنى للتركيز المثبط  
*Allium Sativum*

**Abstract:** study the antibacterial activity of essential oils of espèce (*Allium sativum*).

In the context of the exploitation of our natural resources, we are interested in studying a plant growing around the world belonging to the family of *lilacées* (*Allium sativum*) and was taken as an example in our study the local red variety. This work includes travaux and following result:

The essential oils of the medicinal plants *Allium sativum* were obtained by steam distillation.

The antibacterial activity of extract was studied in vitro by well diffusion method on bacterial strains isolated from pathological specimens of hospitalized patients.

After result obtain we find that the revenue of essential oil is 0.4 % this value acceptable to norm.

Activity antimicrobial is very important contra *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 by 12 mm, contra *Escherichia coli* by 10mm.

The MIC obtained is 25% of *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603.

**Key words:** Médicinal plante, Essentielle oil, Garlic, Antibacterial activity, Minimum inhibitory concentrations.

## Résumé : étude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de l'espèce *Allium Sativum L.*

Dans le cadre de l'exploitation de nos ressources naturelle, nous intéressons à étudié une plante poussant un peu partout dans le monde entier appartenant à la famille des lilacées (*Allium Sativum L*) et on a pris comme exemple dans notre étude la variété rouge locale. Ce travail englobe les travaux et le résultat suivant:

L'extraction des huiles essentielles de la plante médicinale d'ail (*Allium Sativum*), de la famille *liliacée* son été obtenues par hydrodistillation. Le pouvoir antibactérienne de l'extrait a été étude *in vitro* par la méthode de diffusion des disques sur les souches bactérienne isolées à partir d'échantillons pathologiques de patients hospitalisés et de centre hospitalier Universitaire (CHU). D'après les résultats obtenus on a remarqué que le rendement en huile essentielle est de l'ordre de 0.4 % est conforme aux standards international. L'activité antimicrobienne a donné des résultats intéressants d'inhibition de *K. pneumoniae ATCC 700603* par une zone de diamètre 12 mm, *E. coli* par 10 mm. Concernant le CMI Obtenus est de 25% chez *K. pneumoniae ATCC 700603*.

**Mot clé :** plantes médicinales, huiles essentielles, ail, *Allium Sativum*, activité antibactérienne, Concentration minimales inhibitrices (CMI).

الملخص:دراسة النشاط الضد بكتيري للزيوت الطيارة لنوع من الثوم.

في اطار استغلال المصادر الطبيعية اهتمامنا بدراسة نبتة منتشرة عبر العالم تنتمي الى عائلة الزنبقيات وكمثال عل ذلك درسنا نوع الثوم الاحمر المحلي. هذا العمل يضم التجارب و النتائج التالية: تحصلنا على الزيوت الطيارة للنبته الطبية الثوم من العائلة الزنبقية , عن طريق التقطير ببخار الماء, ثم دراسة النشاط المضاد للبكتيريا في المختبر بطريقة الانتشار على سلالات بكتيرية معزولة من عينات مرضية لمرضى بالمستشفى وأخرى من المركز الاستشفائي الجامعي

المرود المتحصل عليه من خلال استخلاص الزيوت الطيارة للنبته يقدر ب0.4 % و يعتبر هذا الأخير مقبول حسب المعايير المعمول بها.

الفعالية ضد النشاط البكتيري اعطت نتائج مهمة بحيث يملك زيت الثوم فعالية ضد *K. pneumoniae ATCC 700603* بقطر 12مم وضد *E. coli* بقطر 10م.

اما فيما يخص التركيز الادنى المثبط المتحصل عليه هو 25% عند السلالة البكتيرية *K. pneumoniae ATCC 700603*

**الكلمات المفتاحية:** النباتات الطبية, الزيوت الطيارة, الثوم, النشاط الضد البكتيري, الحد الادنى للتركيز المثبط, *Allium Sativum*,

## Abstract: study the antibacterial activity of essential oils of espèce *Allium sativum L.*

In the context of the exploitation of our natural resources, we are interested in studying a plant growing around the world belonging to the family of lilacées (*Allium sativum*) and was taken as an example in our study the local red variety. This work includes travaux and following result: The essential oils of the medicinal plants *Allium Sativum* wer obtained by steam distillation. The antibacterial activity of extract was studied in vitro by well diffusion method on bacterial strains isolated from pathological specimens of hospitalized patients.

After result obtain we find that the revenue of essential oil is 0.4 % this value acceptable to norm. Activity antimicrobial is very important contras *K. pneumoniae ATCC 700603* by 12 mm, contras *E. coli* by 10 mm. The MIC obtenutedis 25% of *K. pneumoniae ATCC 700603*

**Key words:** Médicinal plante, Essentials oil, Garlic, Antibacterial activity, Minimum inhibitory concentrations, *Allium Sativum*.