

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

جامعة 20 اوت 1955- سكيكدة

UNIVERSITE 20 AOUT 1955- SKIKDA



Faculté des Sciences

Département des Sciences de la Nature et de la Vie

Mémoire Présenté en Vue de l'Obtention du Diplôme de Master

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Microbiologie Appliquée

Intitulé :

Etude de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle
d'*Allium sativum* et antibiorésistance des microorganismes
d'infections urinaires

Présenté Par :

Khrouche Yousra

Ladaci Amal

Louchi Amira

Membre de Jury:

Dr. Bendjamaa Abdallah (MCA)

Président

Univ. du 20 Août 1955 – Skikda

Dr. Aggoun Asma (MCB)

Promotrice

Univ. du 20 Août 1955 – Skikda

Dr. Bouzebda abdrezzak (MCB)

Examineur

Univ. du 20 Août 1955 – Skikda

Année universitaire 2022/2023

Remerciement

Après avoir rendu grâce à Dieu le tout puissant et le miséricordieux nous tenons à remercier vivement tous ce qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail. Il s'agit plus particulièrement de :

Notre encadrant Dr Aggoun Asma pour sa disponibilité, sa rigueur scientifique et ses orientations et conseils. Les membres de jury Dr Bouzebda abdrezzak et Dr Bendjamaa Abdallah d'avoir accepté de juger notre Travail.

Nos vifs remerciements et notre profonde gratitude s'adressent à Mlle Djemli Basma, Mlle Hermouche Abir et Mlle Nakab Soumia pour l'aide qu'ils nous ont apporté pour la réalisation de ce travail.

Nous tenons également à remercier tous les laboratoires qui nous ont fourni les souches microbiennes à tester dans ce modeste travail.

Enfin, nous exprimons notre gratitude à tous les enseignants qui nous ont formés du primaire jusqu'à nos jours.

Merci

Dédicace

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ : <وقل ربي زدني علما >

Avec une sensation de détermination ambitieuse et courageuse j'ai conduit mon rêve vers la réalité. Avec une immense fierté et l'expression de ma reconnaissance du profond de mon cœur je dédie ce travail :

*A ma chère mère **Saïda Chaïb***

*A mon cher père **Mohamed***

Qui n'ont jamais cessé de formuler des prières à mon égard, de me soutenir et de m'épauler pour que je puisse atteindre mes objectifs et diriger vers la gloire. Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices qu'ils ont consenti pour mon instruction et bien être.

*A ma chère sœur **Soumaya** et mes chers frères **Rida** et **Anis** que dieu les protège et leurs offre la chance et le bonheur.*

A ma grand-mère, mes oncles et mes tantes, que dieu leur donne une longue et joyeuse vie.

*A mes chères amis **Roumaïssa** et **Yasmine** pour leurs soutiens moraux, encouragement et amour inconditionnel.*

*A toutes mes cousines **Linda, Marwa, Hind, Houda, Rayane, Bouchra, Yousra** et **Imane** Je les souhaite le succès et la prospérité*

Sans oublier mon Trinôme Yousra et Amal la meilleure connaissance que j'ai rencontré durant mon cursus universitaire et le meilleur groupe que j'avais l'honneur de travailler avec eux. Je les remercie pour leurs patiences et leurs compréhensions tout au long de ce projet.

Amira

Dédicace

Avec l'expression de ma reconnaissance, je dédie ce modeste travail à ceux qui, quels que soient les termes embrassés, je n'arriverais jamais à leur exprimer mon amour sincère. :

À ma très chère mère Salmi Mounira ; tu es pour moi un tout; un bijou précieux ; ton amour et ton affection exprime que vous êtes une maman idéale qui mérite toujours le meilleur; sans toi je n'aurais pas vu ce jour, toi qui m'as toujours soutenue inébranlablement.

*A mon très cher père Aissa ce travail est le fruit de tes sacrifices, ton éducation, tes comforts moraux et matériels que tu m'as apporté; sans toi je n'aurais pas arrivé jusqu'ici. Je vous remercie pour ta tendre affection
A mes chers frères Yasser et Ahmed Je vous souhaite beaucoup de bonheur et de succès.*

A mon soutien moral et source de joie et de bonheur, mon fiancée Bouzabra Moustapha pour l'encouragement et l'aide qu'il m'a toujours accordé.

Une spéciale dédicace pour mon agréable tante Salmi Karima et ces enfants Nizhar, Maya et Aya ; Je vous remercie pour votre amour, votre soutien et votre stimulante fierté que dieu vous protège.

A toute ma famille : oncles, tantes, cousins et cousines.

A ma belle-famille : mon beau père Abd El Waheb ma belle-mère Fatima et mes belles sœurs Chaima, Bouthaina, Hind.

Je souhaite remercier mon trinôme et amies Yousra et Amira, nous avons formé une belle équipe, je te remercie donc pour tout ce que tu m'as apporté au cours de ces Cinq années partagées.

Amal

Dédicace

A mon très cher père moussa, je lui dédie avec fierté ce modeste travail qui reflète le fruit de l'éducation et de l'attention qu'il m'a tant réservé, je suis très reconnaissante et j'aurai tant aimé partager la joie de ma réussite avec lui.

A ma chère mère chebel Mounira pour leur amour et soins leur conseil et leur encouragement sont pour moi les soutiens indispensables qui ont guidés mes pas vers la réussite.

A ma sœur sana et leur enfants : Meriem et Zakaria pour leur soutien moral

A mes frères : mon chère seif Eddine, Mohamed, aymen Je vous souhaite beaucoup de bonheur et de succès

A mon grand-père maternel chebel Rabah Que Dieu le protège et prolonge sa vie

A toute ma famille : oncles, tantes, cousins et cousines

A mes très chères amis(e) : amani et Rania pour tous les précieux moments passés ensemble

Exceptionnellement a A mes source de force et mes efforts mes trinômes : Amal et Amira pour son soutien morale et ses compréhensions tout long de ce projet

A mon chat lutchy

A tous ceux qui comptent pour moi. A tous ceux pour qui je compte. Je leur dédie ce modeste travail en guise de reconnaissance.

Merci à vous.....

Yousra

Résumé

Les conséquences indésirables des antibiotiques et l'apparition de bactéries résistantes aux médicaments ont incité les chercheurs à explorer l'utilisation de plantes médicinales dans le traitement de certaines infections causées par des agents pathogènes. *Allium sativum*, une plante utilisée traditionnellement en médecine pour traiter ces infections, a été étudiée en raison de ses propriétés antimicrobiennes, notamment ses effets antibactériens et antifongiques attribués à la présence d'allicine.

Notre étude vise à évaluer l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle d'ail cultivé *Allium sativum* récolté dans la région El Harrouche de la wilaya de Skikda, obtenue par hydrodistillation. Nous avons testé cette huile essentielle sur quatre souches bactériennes *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et *Klebsiella pneumoniae* et *Klebsiella pneumoniae* 152 ainsi qu'une souche fongique *Candida albicans* à l'aide de la méthode de diffusion en milieu gélosé et de la méthode de dilution en milieu solide.

Les résultats obtenus par la méthode de diffusion ont révélé que l'huile essentielle, à une certaine concentration, possède une activité inhibitrice modérée. Quant à la méthode de dilution en milieu solide, elle a permis de déterminer des concentrations minimales inhibitrices (CMI) de 80 µg/ml pour l'activité fongicide et des CMI bactéricides comprises entre 320 µg/ml et 640 µg/ml pour *Staphylococcus aureus* et *E.coli* respectivement, et les deux variantes de *Klebsiella pneumoniae* indiquent une résistance élevée à toutes les concentrations testées. Ces résultats pourraient justifier l'utilisation de l'*Allium sativum* dans le traitement des infections urinaires en phytothérapie.

Mots clés : *Allium sativum*, huile essentielle, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*.

الاثار الغير مرغوب فيها للمضادات الحيوية وظهور البكتيريا المقاومة للمضادات الحيوية دفعت الباحثين إلى استكشاف استخدام النباتات الطبية في علاج بعض الحالات *Allium sativum*، نبات يستخدم تقليديا في الطب لعلاج هذه الحالات، وقد تمت دراسته بسبب خصائصه المضادة للميكروبات، بما في ذلك آثاره المضادة للبكتيريا والفطريات بسبب وجود الأليسين.

جعلت دراستنا تهدف إلى تقييم النشاط المضاد للميكروبات لزيت الثوم الأساسي المزروعة *Allium sativum* المحصودة بمنطقة الحروش بولاية سكيكدة. تم اختبار الزيت العطري على أربع سلالات بكتيرية *Escherichia coli* و *Staphylococcus aureus* و *Klebsiella pneumoniae* و *Klebsiella pneumoniae 152* وكذلك سلالة فطرية *Candida albicans* باستخدام طريقة الانتشار و طريقة التخفيف.

تم الحصول على النتائج المبينة أما بالنسبة لطريقة التخفيف في الوسط الصلب، فقد تم تحديدها الى الحد الأدنى من التركيزات المثبطة 80 (MIC) ميكروغرام / مل نشاط الفطريات نشاط الجراثيم بين 320 ميكروغرام / مل و 640 ميكروغرام / مل من أجل *Staphylococcus aureus* و *E.coli* على التوالي، ويشير كلا النوعين من *Klebsiella pneumoniae* إلى مقاومة عالية في جميع التركيزات المختبرة. قد تبرر هذه النتائج استخدام *Allium sativum* في علاج التهابات المسالك البولية في طب الاعشاب.

الكلمات المفتاحية: *Allium sativum*، زيت عطري، *Staphylococcus aureus*، *Escherichia coli*، *Klebsiella pneumoniae*.

Abstract

The adverse consequences of antibiotics and the emergence of drug-resistant bacteria have prompted researchers to explore the use of herbal medicines in the treatment of certain conditions caused by pathogens. *Allium sativum*, a plant traditionally used in medicine to treat these conditions, has been studied for its antimicrobial properties, including its antibacterial and antifungal effects attributed to the presence of allicin.

Our study aimed to evaluate the antimicrobial activity of the essential oil of cultivated garlic (*Allium sativum*) harvested in El Harrouche region of Skikda city, obtained by hydrodistillation. We have tested this essential oil on four bacterial strains *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Klebsiella pneumoniae* and *Klebsiella pneumoniae* 152 as well as one fungal strain *Candida albicans* using the agar medium diffusion method and the dilution in solid medium.

The results obtained by the diffusion method revealed that the essential oil, at a certain concentration, has a moderate inhibitory activity. As for the method of dilution in solid medium, it made it possible to determine minimum inhibitory concentrations (MIC) of 80 µg/ml for the fungicidal activity and bactericidal MICs of between 320 µg/ml and 640 µg/ml for *Staphylococcus aureus* and *E.coli* respectively, and both variants of *Klebsiella pneumoniae* show high resistance at all concentrations that have been tested. These results could justify the use of *Allium sativum* in the treatment of urinary tract infections in herbal medicine.

Keywords: *Allium sativum*, essential oil, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*.

Table des matières

Résumés	
Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Introduction	1
Chapitre I : Synthèse Bibliographique	2
I. <i>Allium sativum</i>	3
1.1. Définition	3
1.2. Classification botanique	3
1.3. Origine (habitat et culture).....	3
1.4. Description botanique	4
1.4.1. Appareil végétal	4
1.4.2. Appareil reproducteur	4
1.5. Composition biochimique	5
1.6. Effets thérapeutiques et pharmacologiques.....	7
1.6.1. Effet antimicrobien	7
1.6.1.2. Effet antifongique	8
1.6.1.3. Effet antiparasitaire	8
1.6.1.4. Effet anti viral	8
1.6.2. Effet anti inflammatoire	9
1.6.3. Effet antioxydant.....	9
1.6.4. Effet anti -cancéreux	9
1.6.5. Effets diverses	9
II. Les huiles essentielles	9
2.1. Définition	9
2.2. Méthodes d'extraction des huiles essentielles.....	10
2.2.1. Extraction par entrainement à la vapeur d'eau	10

2.2.2.	L'hydro-diffusion.....	10
2.2.3.	L'hydrodistillation	11
2.2.4.	Extraction par des solvants organiques	11
2.2.5.	Extraction à froid	12
2.3.	Usage et propriété	12
2.3.1.	En pharmacie.....	12
2.3.2.	Dans l'industrie alimentaire	12
2.3.3.	En agriculture	12
2.3.4.	Dans l'industrie	12
III.	L'appareil urinaire	12
3.1.	Définition	13
3.2.	Définition de l'urine	14
IV.	Les infections urinaires.....	14
4.1.	Définition	14
4.2.	Les symptômes de l'infection urinaire	14
4.3.	Physiopathologie.....	15
4.3.1.	Les agents pathogènes.....	15
4.3.2.	Les facteurs favorisant l'infection urinaire.....	15
4.3.2.1.	Facteurs liés aux bactéries.....	15
4.4.	Le traitement	16
V.	Les microorganismes responsables des infections urinaires	16
5.1.	<i>Escherichia coli</i>	16
5.2.	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	16
5.3.	<i>Staphylococcus aureus</i>	17
5.4.	<i>Candida albicans</i>	18
VI.	Mode d'action des antibiotiques	18
6.1.	Les antibiotiques	18
6.2.	Mode d'action des antibiotiques	18
VII.	Antibiorésistance	19
7.1.	Définition	19

7.2. Mécanismes de la résistance aux antibiotiques	19
ChapitreII : Matériels et Méthodes.....	19
I. Objectif.....	20
II. Site d'accueil	20
III. Matériels.....	20
3.1.Matériel biologique	20
3.1.1. <i>Allium sativum</i>	20
3.1.2. Souches microbiennes utilisées.....	22
3.2. Matériels de laboratoire	22
IV. Méthodes	23
4.1. Protocole expérimental	23
4.2. Analyses chimiques.....	23
4.2.1. Préparation du matériel végétal.....	23
4.2.2. Extraction de l'huile essentielle d' <i>Allium sativum</i>	24
4.2.3. Séparation des deux phases.....	25
4.2.4. Détermination du rendement d'extraction :	26
4.3. Analyses microbiologiques	26
4.3.1. Vérification des souches microbiennes	26
4.3.2. Etude des caractères macroscopiques	27
4.3.3. Etude microscopique.....	27
4.3.3.1. L'état frais.....	27
4.3.3.2. La coloration différentielle de Gram et au bleu de méthylène.....	27
4.3.4. Les tests enzymatiques.....	29
4.3.5. Les caractères biochimiques	30
4.3.5.1. Etude des caractères biochimiques par la galerie API 20NE.....	30
4.4. Activité antimicrobienne.....	31
4.4.1. Antibiogramme des souches bactériennes étudiées	31
4.4.2. Évaluation de l'activité antimicrobienne d'huile essentielle par la méthode de diffusion en milieu gélosé « aromatoigramme sur milieu solide »	32
4.4.2.1. Préparation des disques d'aromatoigramme	33
4.4.2.2. Préparation de l'inoculum bactérien et fongique :	33

4.4.2.3.	Préparation de la solution mère de l'huile essentielle.....	33
4.4.3.	Détermination des Concentrations Minimales Inhibitrices de l'huile essentielle	35
4.4.3.1.	Préparation de la gamme de concentration de l'huile essentielle	35
4.4.3.2.	Dilution en milieu solide.....	36
Chapitre III :		36
Résultats et Discussion.....		36
I. Résultat de l'analyse chimique et rendement d'huile essentielle		37
II. Résultat de l'analyse microbiologique.....		38
2.1.	Etude des caractères macroscopiques	38
2.1.1.	Sur milieu Chromagar.....	38
2.1.2.	Sur milieu Hektoen	38
2.1.3.	Sur milieu Chapman.....	39
2.1.4.	Sur milieu Sabouraud.....	39
2.2.	Études microscopiques.....	39
2.2.1.	État frais des souches bactériennes	39
2.2.2.	Coloration de Gram et bleu de méthylène.....	40
2.3.	Test enzymatique	41
2.3.1.	Test oxydase.....	41
2.3.2.	Test coagulase (<i>S. aureus</i>)	41
2.3.3.	Tests catalase (<i>S. aureus</i>).....	42
2.4.	Caractères biochimiques	42
2.4.1.	Résultats des galeries API20E pour les entérobactéries à Gram (-).....	42
III. Sensibilité des souches bactériennes aux antibiotiques « antibiogramme »		43
IV. Évaluation de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle		44
4.1.	Activité antibactérienne	45
4.2.	Activité antifongique.....	47
V. Concentration minimale inhibitrice de l'huile essentielle.....		48
Conclusion et perspectives		50
Références bibliographiques		1
Annexes.....		13

Liste des Abréviations

Abréviation	Signification
% :	Pourcentage
ADH :	Décarboxylation De L'acide Aminé Arginine Par L'arginine Dihydrolase
AFNOR :	Association Française De Normalisation
AK :	Amikacine
AMY :	Fermentation De L'amygdaline (Glycoside)
ARA :	Fermentation De L'arabinose (Sucre Pentose)
C :	Chloramphenicol
CA-SFM :	Comité De L'antibiogramme De La Société Française De Microbiologie
CFM :	Cefixime
CIT :	Utilisation Du Citrate Comme Seule Source De Carbone
CMI :	Concentration Minimale Inhibitrice
COT :	Co-Trimoxazole
CS :	Colistin Sulfate
<i>E.coli</i> :	<i>Escherichia coli</i>
Ecart :	Ecart Type
EDS :	Eau distillé stérile
EPH :	Etablissement Public Hospitalier
FC :	Fusidic Acide
g	Gramme
Galerie API :	Analytique Profile Index
GEL :	Test De Production De L'enzyme Gélatinase Qui Liquéfie La Gélatine
Gen :	Gentamicine
GLU :	Fermentation Du Glucose (Sucre Hexose)
H ₂ S :	Production De Sulfure D'hydrogène
HE :	Huile Essentielle

IND :	Test Indole Production D'indole A Partir De Tryptophane Par L'enzyme Tryptophanase. Réactif - L'indole Est Détecté Par L'ajout Du Réactif De Kovac.
INO :	Fermentation De L'inositol (Polyalcool Cyclique)
ISO	Organisation internationale de normalisation
<i>K.pneumoniae</i> :	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
KZ :	Cefazoline
LDC :	Décarboxylations De L'acide Aminé Lysine Par La Lysine Décarboxylase
MAN :	Fermentation Du Mannose (Sucre Hexose)
MEL :	Fermentation Du Mélibiose (Disaccharide)
ml	Millilitres
Moy :	Moyenne
ODC :	Décarboxylations De L'acide Aminé Ornithine Par L'ornithine Décarboxylase ^
OMS :	Organisation mondial de la santé
ONPG :	Test De L'enzyme B-Galactosidase Par Hydrolyse Du Substrat O-Nitrophényl-Bd-Galactopyranoside
Ox :	Oxacilline
R :	Résistante
R :	Rifampicine
RHA :	Fermentation Du Rhamnose (Sucre De Méthyl Pentose)
<i>S.aureus</i> :	<i>Staphylococcus aureus</i>
S :	Sensible
SAC :	Fermentation Du Saccharose (Disaccharide)
SM :	Solution Mère
SOR :	Fermentation Du Sorbitol (Sucre D'alcool)
T :	Témoin
TDA	(Tryptophane Désaminase): Détection De L'enzyme Tryptophane Désaminase: Réactif A Mettre - Chlorure Ferrique.
TOB :	Tobamycine
URE :	Test De L'enzyme Uréase
V/ V :	Volume Par Volume
VP :	Le Test De Voges-Proskauer Pour La Détection De L'acétoïne

	(Acétylméthylcarbinol) Produite Par Fermentation Du Glucose Par Des Bactéries Utilisant La Voie Du Butylène
--	---

Liste des Figures

N° Figure	Titre	Page
01	Présentation de l' <i>Allium sativum</i>	7
02	Entrainement à la vapeur ascendante et descendante	13
03	Appareillage utilisé par l'hydrodistillation de l'huile	13
04	Les différents types d'extraction par solvants volatils	14
05	Anatomie de l'appareil urinaire	17
06	Mode d'action des antibiotiques	22
07	Lieu d'analyse microbiologique	24
08	Les bulbes d'ail	25
09	Les gousses d'ail	25
10	Carte géographique de la région El Harrouche « El Toumiette »	25
11	Protocole expérimentale	27
12	Transformation de l'alline en allicine	28
13	Schéma de macération d' <i>Allium sativum</i>	28
14	Montage d'hydro- distillation employé pour l'extraction d'HE	29
15	Séparation de deux phases du distillat	30
16	Réactivation des souches	31
17	Galerie api 20 NE	35
18	Préparation des disques d'aromatogramme	37
19	Inoculum bactériens et fongiques	37
20	L'activité antimicrobienne « aromato gramme »	38
21	Illustration de la méthode des aromato grammes sur boite de pétri	39
22	Préparation de série de dilution de la CMI	39
23	L'aspect macroscopique des souches étudiées sur les différents milieux de cultures.	44
24	L'aspect microscopique de la coloration de Gram souches bactériennes grossissement×100	45
25	L'aspect microscopique de la coloration bleu de méthylène de <i>Candida albicans</i> grossissement ×100.	45

26	Résultats de test oxydase de souches bactériennes étudiées.	46
27	Résultat coagulase positif pour <i>Staphylococcus aureus</i>	46
28	Le test catalase pour <i>Staphylococcus aureus</i>	46
29	Résultats de l'antibiogramme de <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>E. coli</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> 152.	49
30	Résultats méthode de diffusion en milieu solide « aromatoigramme»	52
31	L'effet antimicrobien de l'huile essentielle d' <i>Allium sativum</i> sur la croissance des souches testées par la méthode des disques « Aromatoigramme».	52
32	Les concentrations minimales inhibitrice de l'huile essentielle vis-à-vis les souches Bactériennes testées.	54
33	Les concentrations minimales inhibitrices de l'huile essentielle vis-à-vis <i>Candida albicans</i>	55

Liste des Tableaux

N° Tableau	Titre	Page
1	Classification d'ail (<i>Allium sativum</i>)	5
2	Composition biochimique de l' <i>Allium sativum</i> frais	7
3	Classification d' <i>Escherichia coli</i>	19
4	Classification de <i>Klebsiella pneumoniae</i>	20
5	Classification de <i>Staphylococcus aureus</i>	21
6	Classification de <i>Candida albicans</i>	21
7	Situation géographique de la région de la récolte	25
8	les souches microbiennes étudiées responsables d'infections urinaires.	26
9	caractères macroscopiques sur les boites pétris	31
10	listes antibiotiques utilisés pour l'évaluation de l'antibiorésistance	36
11	la quantité, le rendement, la couleur et l'odeur d'huile essentielle d' <i>Allium sativum</i> .	42
12	Etat frais des souches bactériennes étudiées	44
13	Identification biochimique des souches étudiées	47
14	Résultats de la sensibilité aux antibiotiques des souches pathogènes cocci testées	48
15	Résultats de la sensibilité aux antibiotiques des souches pathogènes bacilles testées	48
16	L'activité antimicrobienne de HE étudiée vis-à-vis des souches microbiennes, exprimé par la méthode d'aromatogramme.	49
17	Détermination des CMI de l'huile essentielle d' <i>Allium sativum</i> sur les souches testées.	53

Introduction

Introduction

Depuis de nombreuses décennies, les scientifiques cherchent à développer des nouveaux antibiotiques à large spectre contre les maladies infectieuses causées par les différents microorganismes et due à la résistance des microbes aux composés antimicrobiens synthétiques et également face au souci des effets secondaires de ces derniers. Cela mène à la nécessité de la découverte de nouveaux agents antimicrobiens provenant de plusieurs sources (**Karaalp et al. 2009**).

En fonction de l'évolution de la phytothérapie, l'utilisation des plantes médicinales ou leurs préparations connaît une amélioration positive (**Ghnimi, 2015**), et de cela elles sont considérées comme une sérieuse alternative à l'antibiothérapie, contre les pathologies infectieuses depuis plus d'une vingtaine d'années (**Chebaibi et 2016**) par exemple les infections urinaires, une pathologie également appelée cystite. C'est une infection bénigne mais très douloureuse avec une tendance à la récurrence malgré un traitement antibiotique adapté, ce qui peut devenir très handicapant dans la vie sociale et familiale (**Duhamel M, 2013**).

La capacité de la guérison de ces plantes est grâce à leurs richesses en métabolites secondaires. Il existe des dizaines de familles chimiques qu'elles sont produites par les plantes et qu'elles ont des fonctions physiologiques différentes (**Daniel, 2006**). Leur champ d'action est vaste et leur puissance varie. La plupart ont des effets spécifiques sur certaines parties de l'organisme et sont reconnues pour pouvoir traiter divers cas (**Iserin, 2001**).

L'*Allium sativum* est une plante médicinale miraculeuse. D'une part elle est un aliment essentiel dans de nombreuses traditions culinaires et c'est aussi une plante utilisée en phytothérapie. Proposé principalement pour préserver la santé, il dénombrerait plus de soixantaines maladies soignées, il a été considéré comme une panacée grâce à ses différents propriétés thérapeutiques majoritairement dues à l'allicine et ses composés soufrés (**The Complete German Commission E Monographs, 1998 ; Batiha et al., 2020 ; Corzo-Martínez et Corzo Mar Villamiel, 2007**).

C'est pourquoi, nous nous sommes intéressés dans ce travail à l'*Allium sativum*, qui est une plante locale dans la région d'El Toumiete el Harrouche Skikda l'Algérie. Le but de notre recherche est l'évaluation de l'activité antimicrobienne *in vitro* de l'huile

essentielle d'*Allium sativum* de la famille Liliacées sur les microorganismes responsables des infections urinaires suivant : *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*.

Pour mener à bien cette étude, nous l'avons divisée en trois chapitres comme suit :

- **Chapitre 1:** Synthèse bibliographique inclut l'*Allium sativum*, les huiles essentielles, les infections urinaires et les microorganismes responsables des infections urinaires
- **Chapitre 2 :** Matériels et méthodes pour effectuer l'extraction de l'huile essentielle, la confirmation de la pureté de souches microbiennes, la réalisation d'antibiogramme ainsi que l'aromatogramme et la CMI
- **Chapitre 3:** Résultats obtenus et la discussion

Chapitre I : Synthèse Bibliographique

I. *Allium sativum*

1.1. Définition

Plante bulbeuse vivace appartenant, à la famille des liliacées, cultivée pour ses caïeux appelés gousses, utilisé comme épice (Clement, 1981), et à l'espèce *Allium sativum* L. (Chaux et Foury, 1994)

L'ail (*Allium sativum*) a des feuilles plates et allongées. La tête d'ail est un bulbe formé par des caïeux, implantés sur un plateau d'où partent les racines. Tous les caïeux sont enveloppés dans une fine pellicule blanche ou rose. Le nombre de caïeux par bulbe varie de 5 à 16 (Clement, 1981).

1.2. Classification botanique

Tableau 1 : Classification d'ail (*Allium sativum*). (RUCHOT, 2013)

Règne	Plantae
Embranchement	Spermatophytes
Classe	Liliopsida
Ordre	Liliales
Famille	Liliaceae
Genre	<i>Allium</i>
Espèce	<i>Allium sativum</i>
Nom vernaculaire	Ail

1.3. Origine (habitat et culture)

L'ail provient à l'origine d'Asie centrale. De là, il est passé en Égypte, puis sur la côte méditerranéenne. Aujourd'hui il est largement cultivé en Europe. Cultivé sans intervention humaine en Sicile, en Espagne, en Égypte et en Algérie (Daif, 1993). Il est cultivé à partir de bulbilles présentes dans l'inflorescence ou à partir des fragments du bulbe (caïeux) (Delaveau, 1982).

L'ail cultivé dans une large gamme de sols, mais de préférence dans des sols légers, bien drainés et riches en matière organique et qui possèdent une grande capacité à retenir les nutriments et l'humidité (OMAFRA, 2002). Il nécessite un pH de 6,5 à 7,0 avec un chaulage ajusté. Avant d'être plantés. (OMAFRA, 2002)

1.4. Description botanique

En science botanique, *Allium sativum* est une espèce de plante potagère, vivace et monocotylédone Herbacée, de 20 à 40 cm d'hauteur (Gerges Geaga, 2015). Il se compose de différentes parties :

1.4.1. Appareil végétal

- **Des bulbes** : ils sont composés de 3 à 20 bulbilles (plus communément connues sous le nom de gousses) arquées appelés caïeux. Ces derniers ont un diamètre de 5 à 10 mm et sont composées d'une enveloppe externe, d'un épiderme renfermant un mésophylle non chlorophyllien ; de parenchyme et d'une assise de cellules épidermiques inférieures (WHO, 1999).
- **Des feuilles** : engainantes, linéaires, planes et lisses, mesurant 1 à 2,5 cm de large et 30 à 60 cm de long (1), Le froissement des feuilles dégage une odeur typique caractéristique (Colin, 2016 ; Bourgoïn et al., 2017).
- **Les racines** : sont des racines adventives qu'elles se situent sous le bulbe, au niveau du plateau correspondant à la tige souterraine (Colin L, 2016).
- **Une tige** : cylindrique, feuillée jusqu'au milieu, elle mesure 30 à 60 cm d'hauteur selon les espèces (Bourgoïn et al., 2017).

1.4.2. Appareil reproducteur

- **Les fleurs** : elles sont formées de 6 sépales pétaloïdes peuvent s'apparaître sous différentes couleurs blanc rose ou bien verdâtre, et de 6 étamines Les anthères sont fixées dorsalement et les filets élargis à la base (Fenwick et al., 1985) les fleurs sont groupées en ombrelles, assez peu nombreuses elles s'épanouissent en été (Meddeb V, 2008).
- **Les inflorescences** : sont des ombelles. De petites bulbilles sont produites dans les inflorescences. Dans certains cas l'ombelle est composée à la fois de fleurs et de Bulbilles, ou uniquement de bulbilles. Le nombre de ces bulbilles et leur couleur est liée en fonction de la variété d'ail mentionnée par suite (Colin L, 2016).
- **Le fruit** : Le fruit de l'ail est une capsule à trois loges mais celle-ci est rarement produite (Meddeb V, 2008).

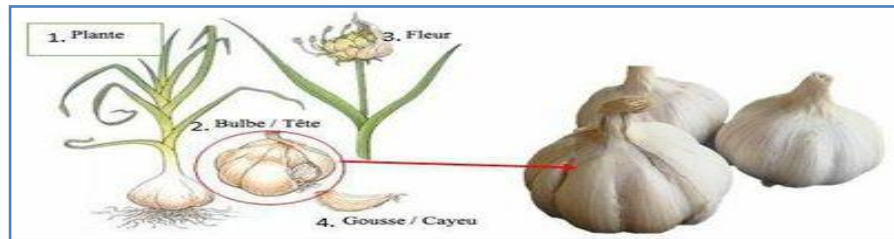


Figure 1: présentation de l'*Allium sativum* (Gambogouet al, 2019).

1.5. Composition biochimique

Quelques études sont intéressées à la séparation et l'identification des composés actifs présents dans l'ail. Le principal composé organo-sulfuré de l'ail est l'alliine, ce dernier se transforme en allicine qu'il est un composé volatile responsable à la fois des propriétés aromatiques et biotiques de l'ail (Arvy et Gallouin, 2003).

De plus, il est composé en moyenne de 65 % d'eau, 27,5 % de glucides, 2 % de protéines et de 4,7 % de fibres. D'autre part, il regorge des vitamines A, B ou C, d'oligo-éléments tels que le sélénium, le cuivre, le fer et le magnésium et des acides aminés (Gambogou et al., 2019).

La composition biochimique de l'*Allium Sativum* frais est présentée dans le tableau suivant :

Tableau 2: composition biochimique de l'*Allium sativum* frais

<p>Les glucides</p>	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Les monosaccharides (fructose, glucose). ➤ Les disaccharides (saccharose, lactose). Les trisaccharides (raffinose). ➤ Les tétrasaccharides (Tétra Fructose, Scorodose). ➤ Les polysaccharides (l'amidon, dextrine, inuline, fructosane). ➤ Et autres comme le D-galactane, L-arabinose, Pectines, D-fructane.
<p>Les lipides</p>	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Les acides gras (acide linoléique, acide linoléique, acide Oléique, acide palmitique). ➤ Les triglycérides. ➤ Les phospholipides (phosphatidylcholine, phosphatidylsérine, phosphatidyléthanolamine). ➤ Les prostaglandines (prostaglandine A, prostaglandine E,

	prostaglandine F).
Les composés azotés	<ul style="list-style-type: none"> ➤ 18 acides aminés : ➤ Les acides aminés essentiels (la lysine, la thréonine, la valine, ➤ La méthionine, l'isoleucine, le tryptophane, la phénylalanine, la leucine, l'histidine). ➤ Les autres acides aminés comme l'arginine, l'acide aspartique, la sérine, la glutamine, la proline, la glycine, l'alanine et la cystéine
Les vitamines	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Vitamine A (Bêta-carotène) ➤ Vitamine B1 ou Thiamine ➤ Vitamine B2 ou Riboflavine ➤ Vitamine B3 ou PP ou Niacine ➤ Vitamine B5 ou Acide pantothénique ➤ Vitamine B6 ou Pyridoxine ➤ Vitamine B9 ou Folates totaux ➤ Vitamine B12 ou Cobalamines ➤ Vitamine C ➤ Vitamine D ➤ Activité vitaminique E(en équivalents alpha-tocophérol)
Les minéraux et oligo-éléments	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Le phosphate, le potassium, le magnésium, le cuivre, le fer, le Manganèse, le zinc et le sélénium. ➤ Diméthylsélénide, acide méthylesterméthanesulfénosélénoïque, diméthyldisélénide, bis(méthylthio)sélénide, allylméthylsélénide, acide méthylester-2-propènesulfénosélénoïque, acide propylester-1-propènesulfénosélénoïque, allylthiométhylthiosélénide
Les composés soufrés	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Alliine, Allicine et les dérivés d'Allicine.

Les fibres	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Les fibres alimentaires sont les parties d'origine végétale non transformées par les enzymes de la digestion. Ce sont des substances résiduelles provenant de la paroi cellulaire ou le cytoplasme des végétaux, constituées de mélanges complexes de glucides.
Les enzymes	<ul style="list-style-type: none"> ➤ L'hexokinase, l'alliinase. ➤ L'γ-L-glutamylpeptidase. ➤ L'γ-L-glutamyltranspeptidase. ➤ La lipase, la peroxydase et la polyphenoloxydase.
Autres composés divers	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Les saponosides, les flavonoïdes... ➤ Polyphénole

(Corzomartinez, M, 2007), (Trefeil, N, 1997), (Sendl A, 1995), (Senninger, 2009)
(Gambogou et al., 2019)

1.6. Effets thérapeutiques et pharmacologiques

L'ail conduit à se prévenir des risques et dangers de plusieurs maladies aiguës et chroniques, il est largement utilisé comme un traitement économique et efficace.

1.6.1. Effet antimicrobien

1.6.1.1. Effet antibactérien

Un certain nombre des chercheurs se sont penchés sur les vertus thérapeutiques de l'ail notamment ses propriétés antibactériennes (**Okomb eembeya.et Nzuzi, 2019**).

Les composés d'ail qui possèdent cette activité antibactérienne sont : Le diallyldisulfide (C₆H₁₀S₂), le diallylsulfide (C₆H₁₀S), le diallyltrisulfide (C₆H₁₀S₃) et l'allicine (C₆H₁₀OS₂) (**Ghesquière, 2016**).

L'allicine, une substance chimique fabriquée par l'ail, tue les bactéries causant les maladies, mais n'affecte pas sur les bactéries bénéfiques pour l'organisme. Au contraire de la plupart des médicaments ne font pas tant de discrimination. Ils ont tendance à détruire toutes les bactéries, les bonnes aussi bien que les mauvaises. Ceci risque de laisser l'organisme prédisposé à de nouvelles maladies ou infections (**Thacker, 1996**).

Il exerce une activité antibactérienne par inhibition totale et immédiate de la synthèse de l'ARN même si la synthèse de l'ADN et des protéines soit aussi partiellement inhibée. Ceci prouve que la principale cible d'action de l'allicine est l'ARN (**Feldberg et al., 1988 ; Bhandari, 2012**). Ainsi qu'il modifie les enzymes contenant le groupement -SH comme l'ARN polymérase. D'où son effet antimicrobien par la réaction chimique qui s'opère avec le groupe des thiols de cette enzyme (**Ankri et al., 1997 ; Ankri et Mirelman, 1999**). Il agit en provoquant un changement du profil lipidique de la membrane cellulaire (**Pail Goltz et Kamel Ghedira, 2012**).

Cette activité antibactérienne agit sur les bactéries Gram négatives et Gram positives (**Ghesquiére, 2016**).

1.6.1.2. Effet antifongique

Les extraits d'ail ont montré un effet fongicide à large spectre contre un large éventail de champignons, y compris les (*Candida*, *Trichophyton*, *Cryptococcus*, *Aspergillus...*).

L'extrait d'ail affectant la paroi des cellules fongiques et en provoquant des changements ultra structuraux irréversibles dans les cellules fongiques, ce qui a entraîné une perte d'intégrité structurale et a affecté la capacité de germination. (**Batiha et al., 2020**).

Ces changements dans la teneur en cytoplasme conduisent à des dommages au noyau et aux organites cellulaires qui entraînent la mort cellulaire. De plus, l'allicine et l'huile d'ail ont montré des effets antifongiques puissants contre *Candida albicans*, *Ascosphera apisin* et *Aspergillus niger*, et ils ont agi en pénétrant la membrane cellulaire ainsi que les membranes organelles comme les mitochondries et conduisant à la destruction des organelles et à la mort cellulaire. (**Batiha et al., 2020**).

1.6.1.3. Effet antiparasitaire

L'ail possède aussi des activités contre beaucoup de microorganismes (**Cellini et al., 1996**) grâce à l'allicine (30 µg/ml) a empêché très efficacement la croissance d'autres protozoaires parasites tels que *Giardia lamblia*, *Leishmania major*, *Leptomonascolosoma* et *Crithidia fasciculata* (**Ankri et Mirelman, 1999**).

1.6.1.4. Effet anti viral

L'ail exerce une activité antivirale sur les *herpès simplex virus* (HSV) de types 1 et 2, le *Cytomégalo virus* (CMV), les virus à l'origine de la grippe (*virus Influenza B*)

(**Mehrbod Pet *et al.*, 2009**). Le rhinovirus de type 2 responsable de rhumes, ainsi que sur le *Molluscum contagiosum* (**Josling *et al.*, 2001 ; Minker , 2012**).

1.6.2. Effet anti inflammatoire

Des études ont démontré l'efficacité des ingrédients actifs de l'ail (par ex : sulfure) dans l'atténuation des facteurs inflammatoires, comme le cycle oxygénase 2 induite par l'IL 1 β Sup régulation. (**Majewski, 2014**).

1.6.3. Effet antioxydant

L'ail est apéritif et digestif et agit également comme drogue antilipémiante, anti-athérosclérotique et anti-hypertonique, il freine l'agrégation plaquettaire augmente L'activité fibrinolytique et prévient ainsi l'apparition d'infarctus, il favorise également la circulation sanguine au niveau périphérique, stimule l'activité thyroïdienne et agit comme anti-hépatotoxique. Presque tous ces effets sont liés à l'activité anti-oxydante de ses constituants soufrés (**Eberhard *et al.*, 2005**).

1.6.4. Effet anti -cancéreux

De nombreux essais in vitro et in vivo indiquent que les composés sulfurés de l'ail peuvent avoir un effet anti cancer (**Nagini, 2008 ; Seki *et al.*, 2008**). Le Diallyldisulfide (DADS) peut inhiber la croissance des cellules du cancer du sein (**Nakagawa *et al.*, 2001**), ainsi qu'il inhibe le Dimethylhydrazine qui induit le cancer du côlon (**Cantwell, 2000 ; Guemouni, 2016**).

1.6.5. Effets diverses

En outre, l'ail a des vertus antiseptiques, expectorantes, sudorifiques et anticoagulantes, il ferait également chuter la glycémie et la pression artérielle, l'ail contient de plus une quantité importante de vitamines A.B.C et E (**Elcy, 2007**), il disperse les amas alimentaires et active la digestion, de plus il est un rajeunissant majeur des os et des tissus nerveux. (**Verbois, 2015**).

II. Les huiles essentielles

2.1.Définition

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes de substances organiques aromatiques liquides qui se trouvent naturellement dans diverses parties des plantes. Ils sont concentrés, volatils, non gras et se décomposent lorsqu'ils sont exposés à la chaleur. Celles-ci sont aujourd'hui largement utilisées en parfumerie et en alimentation. Ce premier est un produit obtenu par hydro distillation et elles sont séparées de la phase aqueuse par des procédés physiques. (AFNOR., 1992).

2.2. Méthodes d'extraction des huiles essentielles

Plusieurs procédés d'extraction de substances aromatiques ont été identifiés. Parce qu'ils visent à extraire les molécules les plus sensibles et fragiles produites par les plantes sans altérer leur qualité. (Rullière, M. et al., 2015) et recueillir les essences piégées dans les tissus végétaux spécialisés en aromathérapie (Bengahroua, Ce et al., 2020) Ces premiers se pratiquent en fonction de la partie du végétal choisie.

2.2.1. Extraction par entrainement à la vapeur d'eau

Cette technique ne met pas en contact direct l'eau et la matière végétale à traiter. De la vapeur d'eau fournie par une chaudière traverse la matière végétale située au-dessus d'une grille. Durant le passage de la vapeur à travers le matériel, les cellules éclatent et libèrent l'huile essentielle qui est vaporisée sous l'action de la chaleur pour former un mélange « eau + huile essentielle ». Le mélange est ensuite véhiculé vers le condenseur et l'essencier avant d'être séparé en une phase aqueuse et une phase organique : l'huile essentielle. (Lucchesi, 2005).

2.2.2. L'hydro-diffusion

Consiste à pulser la vapeur d'eau à très faible pression (0,02-0,15bar) à travers la masse végétale, de haut vers le bas. Ce procédé permet un gain de temps et d'énergie (Bruneton, 1999). Cette technique exploite ainsi l'action osmotique de la vapeur d'eau (Lucchesi, 2005).

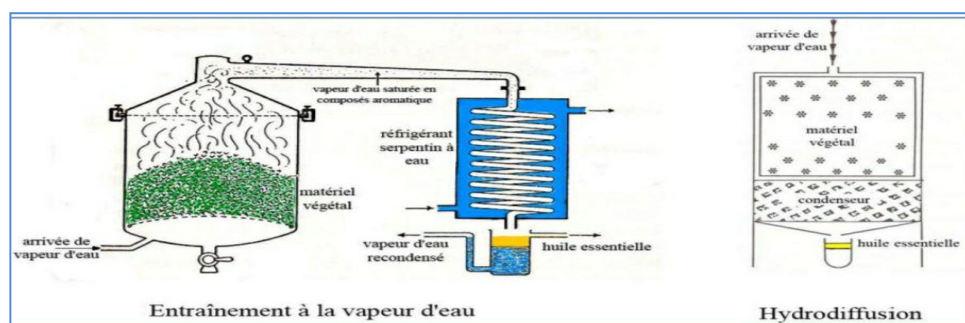


Figure 2 : entrainement à la vapeur ascendante et descendante (Lucchesi, 2005).

2.2.3. L'hydrodistillation

L'hydrodistillation proprement dite, est la méthode normée pour l'extraction d'une huile essentielle (AFNOR, 1992). Elle consiste à immerger directement la matière végétale à traiter dans un ballon rempli d'eau qui est ensuite porté à ébullition, les vapeurs hétérogènes vont se condenser sur une surface froide et l'huile essentielle sera alors séparée par différence de densité (Bruneton, 1993).

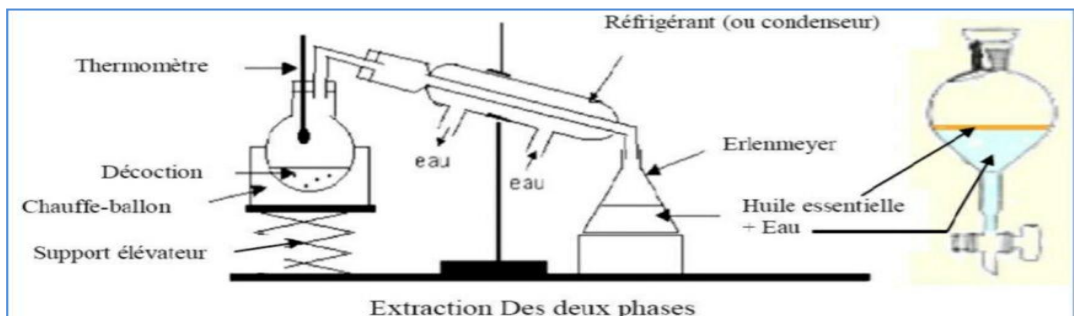


Figure 3 : appareillage utilisé par l'hydrodistillation de l'huile (Lagunez, 2006).

2.2.4. Extraction par des solvants organiques

Consiste à placer dans un extracteur un solvant volatil et la matière végétale à traiter. Grâce à des lavages successifs, le solvant va se charger en molécules aromatiques, avant d'être envoyé au concentrateur pour y être distillé à pression atmosphérique le produit obtenu est appelé « concrète ». Cette concrète pourra être par la suite brassée avec de l'alcool absolu, filtrée et glacée pour en extraire les cires végétales. Parmi les solvants utilisés sont le méthanol, l'éthanol et l'éther de pétrole. L'appareillage le plus utilisé est celui de SOXHLET (Lucchesi, 2005).

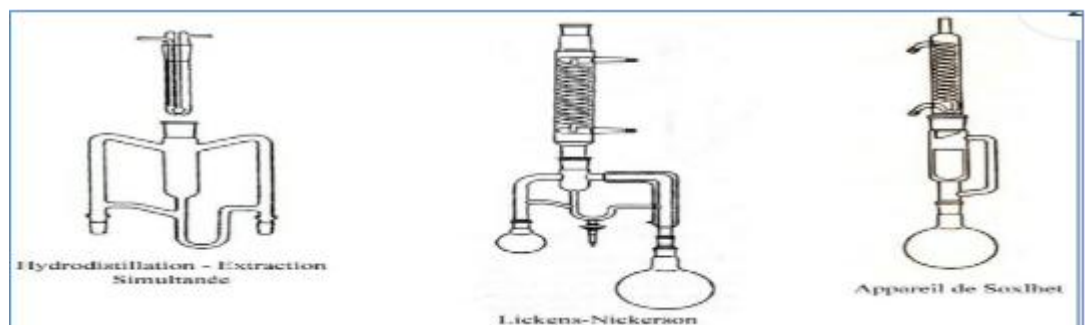


Figure 4 : les différents types d'extraction par solvants volatils (Lucchesi, 2005).

2.2.5. Extraction à froid

Elle constitue le plus simple des procédés, mais ne s'applique qu'aux agrumes dont l'écorce des fruits comporte des poches sécrétrices d'essences. Ce procédé consiste à broyer, à l'aide de presses, les zestes frais pour détruire les poches afin de libérer l'essence. Le produit ainsi obtenu porte le nom d'essence, car il n'a subi aucune modification chimique (**Roux, 2008**).

2.3. Usage et propriété

Les huiles essentielles présentent de multiples propriétés exploitables qui leur permettent de trouver des Applications dans un large éventail de domaines. (**Garneau, et al., 2005**).

2.3.1. En pharmacie

L'homme utilise les huiles essentielles Depuis des milliers d'années pour se soigner. Aujourd'hui, les médecines dites naturelles rencontrent un succès grandissant auprès du public (**Garneau, et al., 2005**).

La plupart des huiles essentielles sont aujourd'hui en vente libre, y compris en dehors de tout contrôle médical, certaines voient tout de même leur délivrance au public réservée aux pharmaciens.

2.3.2. Dans l'industrie alimentaire

Certaines huiles essentielles dans l'agroalimentaire trouvent leur place comme antioxydant et bien reconnue est également exploitée pour augmenter la de conservation durée des aliments (**Fernandez., et al., 2012**).

2.3.3. En agriculture

Les huiles essentielles sont actuellement testées sur différentes cibles : les insectes, les champignons, les bactéries, les adventices et également pour la conservation des semences. (**Furet., et al., 2013 ; Chavassieux D, 2014**).

2.3.4. Dans l'industrie

Notamment dans la production des détergents, colles et vernis. (**Krausz, 2009 ; Kabera Nzeyumwami, 2004**).

III. L'appareil urinaire

3.1. Définition

L'appareil urinaire est un ensemble d'organes assurant l'épuration du sang de la même façon que la production et l'élimination de l'urine. Cette dernière se compose de deux reins, des uretères, d'une vessie, d'un urètre et d'un méat urinaire. Il se forme et commence à fonctionner avant la naissance (**Kouta, 2009**).

➤ Les reins

Les reins sont localisés dans la région lombaire de part et d'autre de la colonne vertébrale. Ils ont plusieurs fonctions : d'épuration et de régulation du milieu intérieur permettent de maintenir l'équilibre intérieur de l'organisme (entrées et sorties de l'eau, des électrolytes, potassium, sodium, chlore, bicarbonates...), de l'azote (**SPILF, 2015**).

➤ Les uretères

Les uretères transportent l'urine vers la vessie. Ce sont des conduits longs de 22 à 25 cm et très fins, avec un diamètre de 3 mm. Ils partent de chaque rein et descendent en oblique vers la vessie. La contraction des muscles de leur paroi assure la progression de l'urine (**Lasnier et al., 1984**).

➤ La vessie

C'est un réservoir musculo-membraneux, extensible. Sa contenance est variable, 300 ml en moyenne. Elle est fermée par un sphincter, un muscle en forme d'anneau qui commande l'ouverture et la fermeture de la vessie. Par ailleurs le besoin d'urine se nomme miction (**Lasnier et al., 1984**).

➤ L'urètre

L'urètre évacue l'urine vers l'extérieur. C'est un canal de longueur variable selon le sexe. Chez l'homme, il mesure environ 16 cm de long. À sa partie inférieure il se confond avec les voies génitales. Chez la femme, il mesure seulement 3 cm. Il descend verticalement en avant du vagin (**Lasnier et al. 1984**).

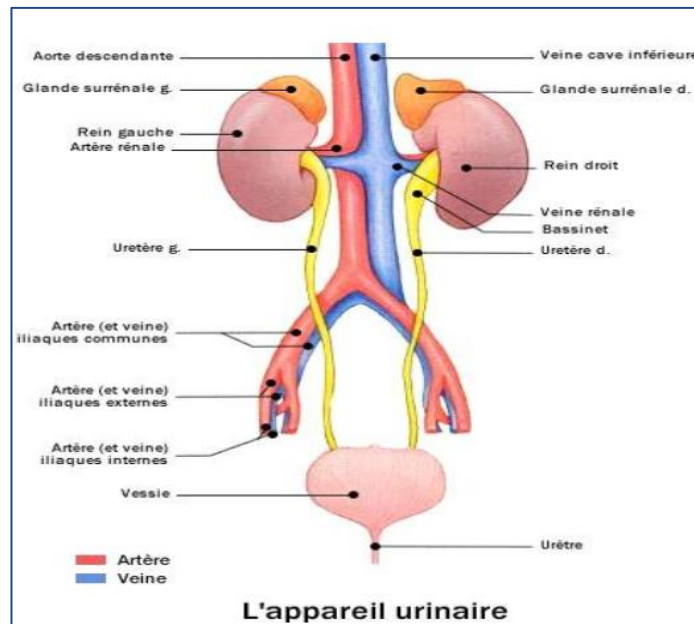


Figure 5 : anatomie de l'appareil urinaire (2).

3.2. Définition de l'urine

L'urine est un liquide biologique composé de déchets du corps et est excrétée par les reins par filtration du sang qui sera expulsée hors du corps par le système urinaire (Zerari et al., 2014).

IV. Les infections urinaires

4.1. Définition

Elle est définie par la présence et multiplication par un ou plusieurs microorganismes (d'origine de la flore digestive, génitale ou cutanée) dans l'arbre urinaire, qui peuvent générer une réponse inflammatoire, (Prakash et Ramasubramanian, 2016). Elle peut être localisée dans les voies urinaires inférieures, ou supérieures. (Cunha, 2017). Elle occupe le 1er rang des infections bactériennes nosocomiales (Vuke, 2014). Elle est considérée comme un problème majeur de santé publique en raison de sa très forte incidence. Ces infections sont plus fréquentes chez les femmes que chez les hommes. (Bouguenec, 2003 ; Aries et al., 2014).

4.2. Les symptômes de l'infection urinaire

Il existe deux principaux symptômes importants : (Ardtan, 1992)

- **Pyurie** : c'est la présence de pus dans les urines (leucocytes altérés).

- **Bactériurie** : est la présence de bactérie dans les urines.

4.3. Physiopathologie

4.3.1. Les agents pathogènes

Il existe nombreux microorganisme qui peuvent infecter les voies urinaires (**Lobel et Soussy, 2007**). En classant en premier lieu les infections urinaires dues à une agression bactérienne, elles sont généralement monobactériennes. Les agents les plus fréquents sont : les *Enterobacteriaceae*, généralement présents dans le tractus gastro-intestinal Il s'agit dans la majorité des cas (90%) d'entérobactéries et plus particulièrement d' *E. coli* dans 77 à 69% des cas pour les IU simples ou compliquées, elle représente la bactérie la plus souvent isolée quel que soit l'âge et le sexe du patient .puis *Proteus mirabilis* à 5 % (**Weber, 2002; Yombi & Marot, 2015**), les autres bactéries sont plus rares tel que les bactéries à Gram négatif aérobies comme les *Pseudomonas* et les cocci à Gram positif comme *Staphylococcus aureus* , *Streptococcus* et *Enterococcus* (**Kouta,2009**). .

En second position, les infections urinaires d'origine fongique due à l'agression d'une levure *Candida albicans* qu'elle est un membre ubiquitaire de la flore humaine, principalement des muqueuses digestives et génitales. La colonisation se fait soit dès la naissance, soit juste après, par simple contact physique. La situation devient pathologique lorsque l'individu colonisé est en état d'immunodépression : *Candida albicans* devient alors pathogène opportuniste et cause une infection endogène, allant de la mycose superficielle à la mycose profonde (systémique et généralisée). C'est encore aujourd'hui l'espèce la plus fréquemment associée aux candidoses (50 %) (**Whiteway. et Bachewich, 2007**).

4.3.2. Les facteurs favorisant l'infection urinaire

Il existe plusieurs facteurs de risque qui jouent un rôle essentiel dans la cause des infections urinaires (**Bouvenot, 2012**) parmi eux :

4.3.2.1. Facteurs liés aux bactéries

Les bactéries responsables des infections urinaires se caractérisent par des facteurs de virulence spécifiques :

- Les adhésines.
- La production d'hémolysines.

- Les facteurs cytotoxiques nécrosants et de quantité plus importante d'antigène capsulaire K (**Bouvenot, 2012**).

4.4. Le traitement

Il existe des différents traitements :

- **Traitement général** : l'utilisation des antibiotiques pour traiter les infections urinaires d'origine bactérienne. Le choix de l'antibiotique est en fonction des résultats de l'analyse d'urine.
- **Traitements des infections urinaires graves** : dans le cas où les infections sont récurrentes, il est nécessaire de consulter un urologue qui pratiquera des analyses plus poussées (**Haertig et Conort, 1991**).

V. Les microorganismes responsables des infections urinaires

5.1. *Escherichia coli*

❖ Définition

Un bacille à Gram négatif (Gram-), oxydase négative, aéro-anaérobie, cultivant rapidement sur milieux ordinaires fermentant le glucose avec production de gaz, possédant un nitrate réductase, le plus souvent mobile (péritriche), ces bactéries sont identifiées en pratique par les tests suivants fermentation du lactose, du mannitol et du sorbitol, production d'indole, présence d'une bêta galactosidase. (**Patrick et al., 1991**).

❖ Taxonomie

Règne	Bacteria
Embranchement	Pseudomonadota
Classe	Gammaproteobacteria
Ordre	Enterobacterales
Famille	Enterobacteriaceae
Genre	<i>Escherichia</i>
Espèce	<i>Escherichia coli</i>

Tableau 3 : Classification d'*Escherichia coli* (3).

5.2. *Klebsiella pneumoniae*

❖ **Définition**

Ce sont des bacilles à Gram négatif, toujours immobiles et très souvent encapsulés, fermentant le glucose et le lactose en produisant du gaz la production d'indole, celle d'uréase et la fermentation acétone mise en évidence par la réaction de voges-pros Kauer (vp), sont des caractères distinctifs importants entre les différentes espèces *Klebsiella* (Patrick et al., 1991).

❖ **Taxonomie**

Règne	Bacteria
Division	Pseudomonadota
Classe	Gammaproteobacteria
Ordre	Enterobacterales
Famille	Enterobacteriaceae
Genre	<i>Klebsiella</i>
Espèce	<i>Klebsiella pneumoniae</i>

Tableau 4 : Classification de *Klebsiella pneumoniae* (4).

5.3. *Staphylococcus aureus*

❖ **Définition**

Sont des cocci à Gram positif (Gram+), bactéries sphériques, regroupés en diplocoques ou en petits amas (grappes de raisin), ils sont immobiles, a sporulés, habituellement sans capsule, sont aéro-anaérobies, à métabolisme respiratoire et fermentaire. Sont des catalase positive (Patrick et al., 1991).

❖ **Taxonomie**

Règne	Bacteria
Division	Bacillota
Classe	Bacilli
Ordre	Caryophanales
Famille	Staphylococcaceae
Genre	<i>Staphylococcus</i>
Espèce	<i>Staphylococcus aureus</i>

Tableau 5 : Classification de *Staphylococcus aureus* (5).

5.4. *Candida albicans*

❖ Définition

Un champignon diploïde et encapsulé classé parmi les polymorphes car il peut prendre l'aspect de levures ou l'aspect de pseudo-hyphes selon la température, le pH et les nutriments du milieu. La forme levure est associée à une production de blastoconidies par bourgeonnement (**Hazen., et Howell, S. A ,2007**).

❖ Taxonomie

Règne	Fungi
Division	Ascomycota
Classe	Saccharomycetes
Ordre	Saccharomycetales
Famille	Sacchromycetaceae
Genre	<i>Candida</i>
Espèce	<i>Candida albicans</i>

Tableau 6 : Classification de *Candida albicans* (6).

VI. Mode d'action des antibiotiques

6.1. Les antibiotiques

Les antibiotiques antibactériens sont des molécules qui inhibent sélectivement certaines voies métaboliques des bactéries, sans exercer habituellement d'effets toxiques pour les organismes supérieurs (**Nauciel, 2000**).

6.2. Mode d'action des antibiotiques

Les antibiotiques sont également classés selon leurs sites d'action :

- Inhibiteurs de la synthèse du peptidoglycane.
- Antibiotiques actifs sur les enveloppes membranaires.
- Inhibiteurs de la synthèse des protéines
- Inhibiteurs des acides nucléiques.
- Inhibition des voies métaboliques d'acide folique. (**Hervé Boutal, 2017**)

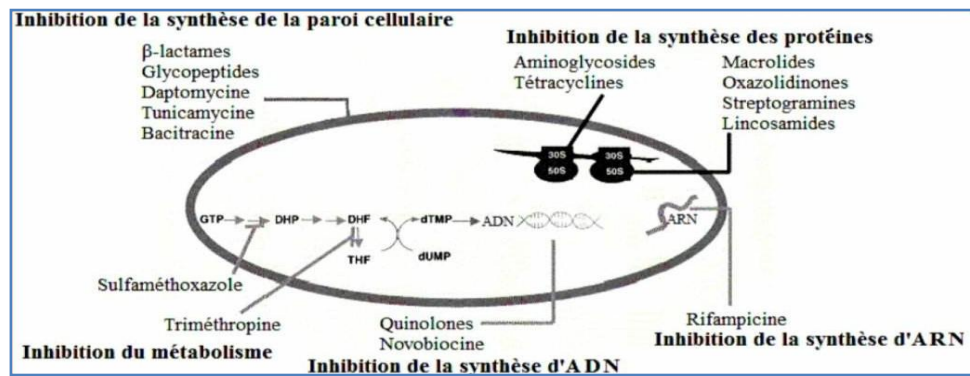


Figure 6 : Mode d'action des antibiotiques (Singh et Barrett, 2006) Avec DHP : dihydroptéroate ; DHF : dihydrofolate ; THF : tétrahydrofolate.

VII. Antibiorésistance

7.1. Définition

Une souche d'une espèce bactérienne est considérée résistante à un antibiotique donné, lorsqu'elle est capable de croître en présence de cet antibiotique (Bousseboua.2005).

7.2. Mécanismes de la résistance aux antibiotiques

Les bactéries se défendent contre l'action des antibiotiques par des différents mécanismes :

- **L'inactivation enzymatique :** C'est un mécanisme de résistance très répandu grâce à l'inactivation de l'antibiotique par une enzyme (Senhadji. 2020).
- **Diminution de la perméabilité à efflux actif (mécanisme biochimique) :** Il repose sur une pompe insérée dans la membrane, elle est capable d'éjecter l'antibiotique hors de la bactérie grâce à un canal, cet efflux conduit à une diminution de la concentration intracellulaire de l'antibiotique (Abalikamwe ,2004).
- **Modification des cibles**

L'antibiorésistance a conduit à la recherche d'agents antimicrobiens présentant une efficacité supérieure aux médicaments synthétiques, tout en étant bien tolérés par l'organisme et sans avoir d'effets néfastes sur la santé humaine (García-Ruiz et al., 2008 ; Kempf et Zeitouni, 2009).

Chapitre II : Matériels et Méthodes

I. Objectif

Cette étude a l'objectif d'évaluer l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de la plante médicinale *Allium sativum* sur les microorganismes responsables des infections urinaires.

II. Site d'accueil

Le travail expérimental a été effectué au niveau de deux sites d'accueil pendant 2 mois allant de 28 Février 2023 jusqu'au 20 Avril 2023.

L'extraction de l'huile essentielle (HE) d'*Allium sativum* a été effectuée au laboratoire de physique du sol et hydraulique département de l'agronomie, Université 20 Août 1955 Skikda.

Le repiquage des souches microbiennes et l'évaluation de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle au niveau de laboratoire de microbiologie à l'Hôpital les frères Saad Guermech (EPH) Skikda.



Figure 7 : Lieu d'analyse microbiologique. (Prise personnelle)

III. Matériels

3.1. Matériel biologique

3.1.1. *Allium sativum*

Cette étude est basée sur le choix minutieux d'une plante médicinale par excellence qu'elle était l'ail selon les critères suivants:

- Il est sans danger pour un usage domestique.
- Sa disponibilité dans notre Wilaya grâce à les conditions environnementales favorables.

- Son utilisation traditionnelle dans le traitement des maladies d'origine microbienne (Larousse encyclopédie des plantes médicinales ,2001).

Il a été récolté de la région El Harrouche exactement El Toumiette de la wilaya de Skikda (Algérie) durant le mois de Septembre 2022. Après la récolte la plante a été conservée à l'ombre dans un endroit sec et aéré.



Figure 8 : Les bulbes d'ail.

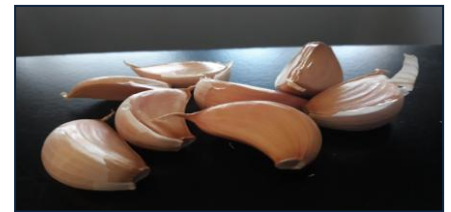


Figure 9 : Les gousses d'ail.

Le tableau 7 et la figure 10 illustre la situation et la carte géographique de la région.

Tableau 7 : situation géographique de la région de la récolte.

Région	Altitude	Latitude	Longitude	Etat bioclimatique
El Toumiette El Harrouche	Entre 200 et 250m	36°et 37° W	6°et 7° W	Hiver tempéré Eté chaud et sec

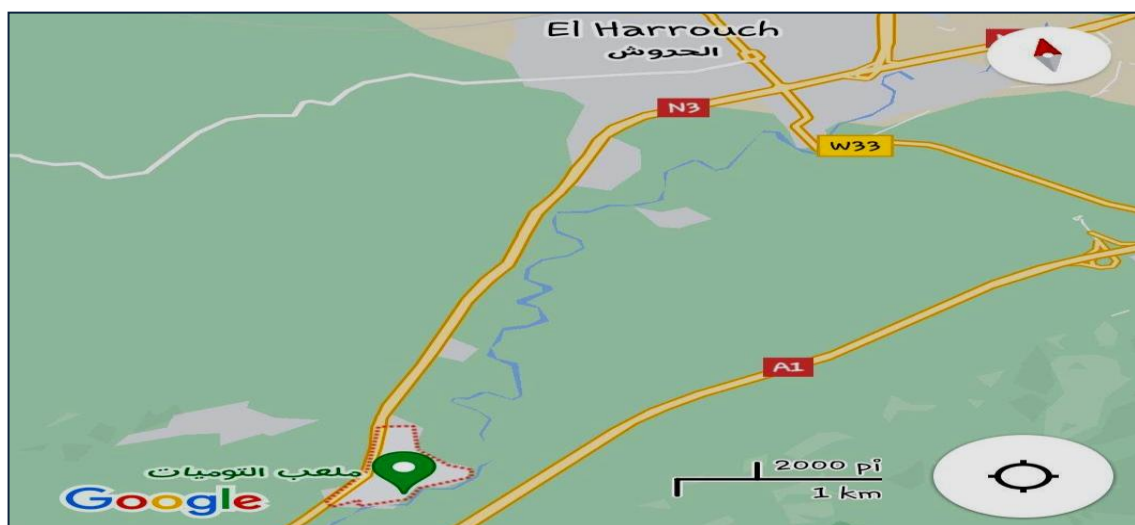


Figure 10 : Carte géographique de la région El Harrouche « El Toumiette ». (Google Maps)

3.1.2. Souches microbiennes utilisées

Afin d'évaluer l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle d'*Allium sativum*, le test sera effectué sur quatre souches bactériennes et une souche fongique (**tableau 8**).

Tableau 8: les souches microbiennes étudiées responsables d'infections urinaires.

Souches microbiennes	Pouvoir pathogène chez l'homme
<i>Escherichia coli</i>	infections nosocomiales. infections intestinales. Diarrhées. Cholécystites. Infections urinaires (Flandrois ,2000).
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	infections urinaires. septicémie. Infections de plaies. Infections hépatiques. (Masonet al,1987).
<i>Staphylococcus aureus</i>	infections cutanées : furoncles, panaris, abcès, impétigo... Et de certaines infections ORL : angines, otites, sinusite infections urinaires. septicémie. (Flandrois ,2000).
<i>Candida albicans</i>	infections des muqueuses gynécologique et digestive, qui peuvent évoluer en maladies systémiques (Brown Denning, et al, 2012).

Les souches pathogènes cliniques ont été fournies par deux laboratoires médicaux situés à Skikda :

- ❖ Laboratoire d'analyse el AMAL Skikda centre Algérie.
- ❖ Laboratoire d'analyse Bouhjila EL Harrouche Skikda Algérie.

3.2. Matériels de laboratoire

Afin de réaliser notre étude, nous avons eu recours à :

- ✓ Un équipement du matériel du laboratoire et l'appareillage. (Annexe 1)
- ✓ Les milieux de cultures. (Annexe 2)
- ✓ Les réactifs et les colorants. (Annexe 3)

IV. Méthodes

4.1. Protocole expérimental

Le schéma de la figure 11 représente les étapes suivies dans notre étude.

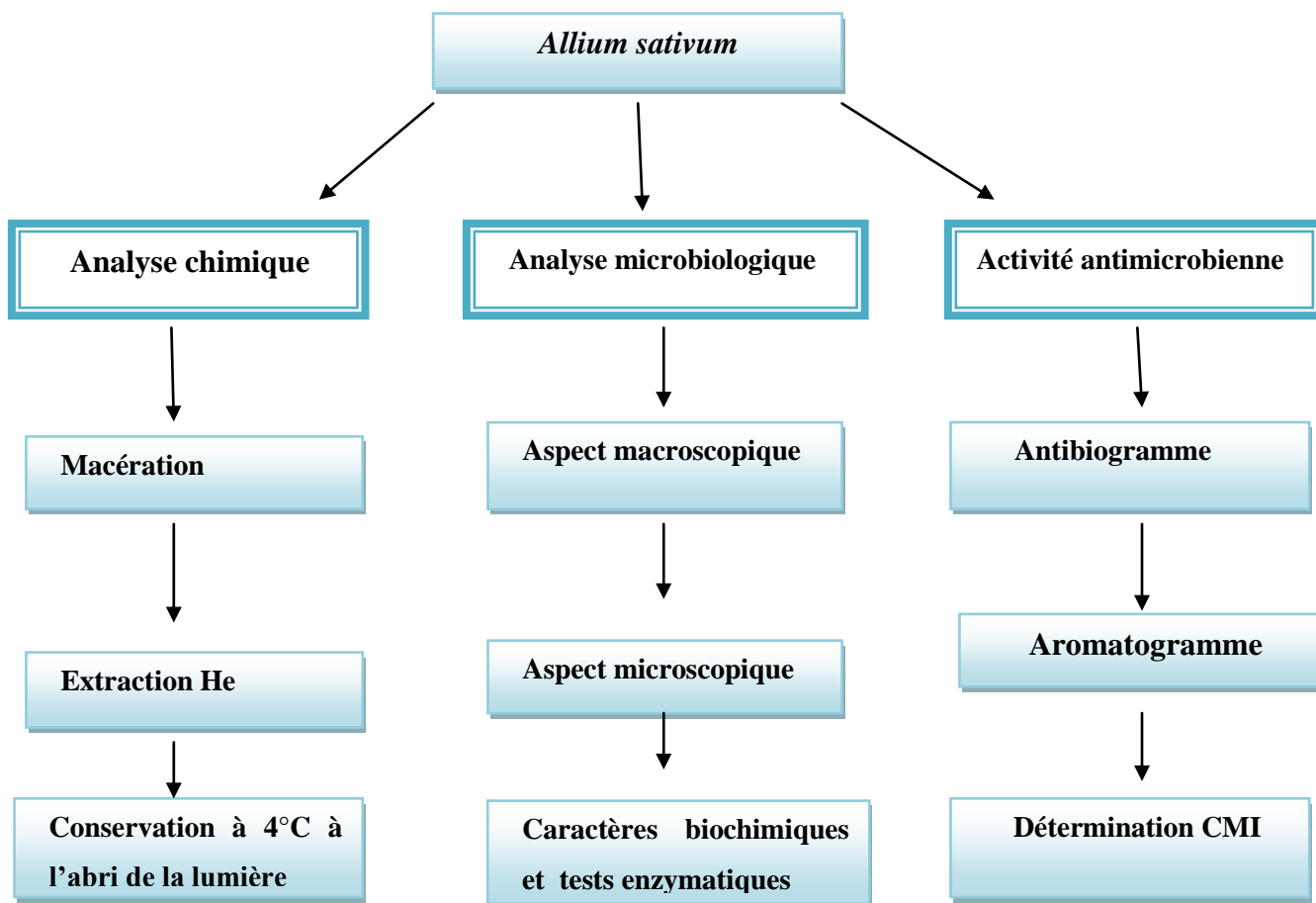


Figure 11 : Protocol expérimental.

4.2. Analyses chimiques

4.2.1. Préparation du matériel végétal

Tout d'abord, le matériel végétal a été macéré dans de l'eau distillée.

➤ Mode opératoire

200 g de bulbes d'*Allium sativum* coupées en petits morceaux ont été ajoutés dans 500 ml de l'eau distillé. Puis homogénéiser le tout à l'aide d'un agitateur pendant une minute à une vitesse moyenne. L'homogénat obtenu est gardé pendant une heure en macération (**Benkeblia N, 2004**).

❖ **But de la macération**

La macération est primordiale afin de transformer l'alliine (constituant majeur de l'ail frais non contusé) en allicine (précurseur principale de l'huile essentielle). Les bulbes d'ail cultivé ne contiennent pas d'allicine puisque l'alliine et l'alliinase se trouvent dans des compartiments différents au sein des cellules de bulbe d'ail, quand ce dernier est coupé ou bien écrasé l'alliine entre en contact avec l'alliinase pour former l'allicine, l'acide pyruvique et l'ammoniac (**Lilia. et al., 2008 ;Miron. et al.,2008**)

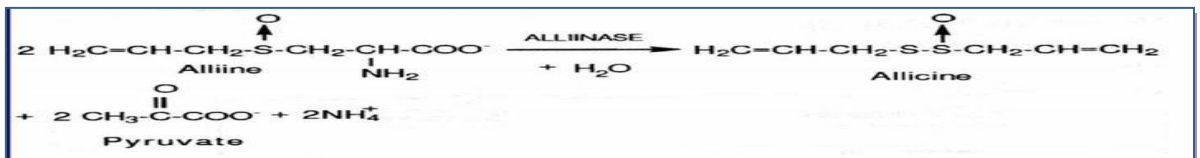


Figure 12: Transformation de l'alliine en allicine (**Lilia.L et al., 2008 ;Miron.T et al.,2008**).

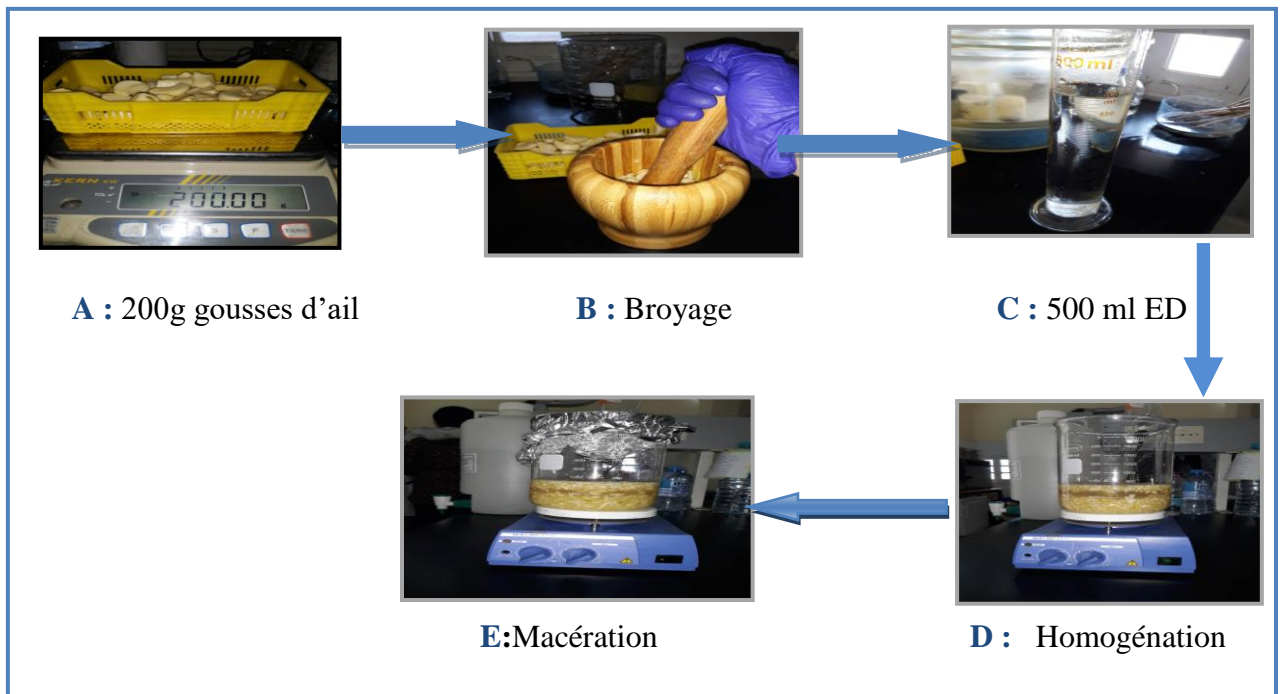


Figure 13 : Schéma de macération d'*Allium sativum*. (Prise personnelle)

4.2.2. Extraction de l'huile essentielle d'*Allium sativum*

L'huile essentielle est extraite à partir des bulbes d'*Allium sativum* par la méthode d'hydro distillation. Cette extraction a été effectuée au niveau du laboratoire de physique de sol et hydraulique au département d'agronomie à l'université 20 Août 1955 Skikda.

➤ **Mode opératoire**

L'appareil utilisé pour l'hydro distillation est un montage rudimentaire se constitue d'un valet élévateur, un ballon à fond rond avec un tube de dégagement latéral, un chauffe ballon sert à chauffer le mélange, un réfrigérant à l'eau et un erlenmyer pour recueillir le distillat (**figure14**)

Après une heure de macération l'homogénat est versé dans une fiole rondet de 1L puis porté à l'ébullition pendant 2 à 3 heures dans l'hydro distillateur.

Sous l'action de la chaleur, les cellules sécrétrices de l'huile essentielle éclatent et libèrent des composés organiques volatils. La vapeur d'eau formée va entrainer avec elle, les composés organiques à l'état gazeux vers le réfrigérant où ils vont se condenser et chutent dans un erlenmyer. L'eau et l'huile essentielle se séparent par différence de densité en deux phases :

- ❖ **Phase organique** : huileuse et très odorante appelée " huile essentielle " contenant la majorité des composés odorants.
- ❖ **Phase aqueuse** : odorante appelée " eaux aromatiques" contenant que très peu des composés odorants (**Benkabilia ,2004 ; Padma Vankar, 2004 ;Semen et al., 2005**)



Figure 14 : Montage d'hydrodistillation employé pour l'extraction d'HE. (**Prise personnelle**)

4.2.3. Séparation des deux phases

Le distillat est ensuite placé dans une ampoule à décanter afin de séparer les deux phases huileuse et hydrique. On récupère ensuite la phase huileuse et on ajoute le sulfate anhydre pour assurer l'élimination de toute trace d'eau. L'huile essentielle est conservée au

réfrigérateur à 4°C dans l'obscurité pour éviter la dégradation, due à l'action de l'air ou de la lumière (Makhloufi et al., 2012).

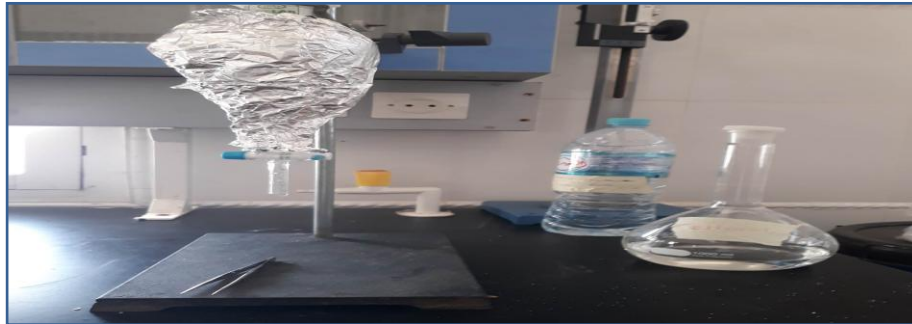


Figure 15: Séparation de deux phases du distillat (phase huileuse et phase hydrique).

4.2.4. Détermination du rendement d'extraction :

Selon la norme **AFNOR(1982)**, le rendement en huile essentielle (Rd), est défini Comme étant le rapport entre la masse de l'huile essentielle obtenue après extraction (M') et la masse de la matière végétale utilisée (M). Il est donné par la formule suivante :

$$\text{Rd} = \frac{M'}{M} \cdot 100$$

Rd : Rendement en huile essentielle exprimée en pourcentage (%).

M' : Masse de l'huile essentielle obtenue en gramme (g).

M : Masse de la matière végétale utilisée en gramme (g) qui vaut 200 grammes.

4.3. Analyses microbiologiques

4.3.1. Vérification des souches microbiennes

A partir du milieu de conservation Chromagar, un isolement des souches a été effectué dans le but d'obtenir des souches pures, selon la méthode d'ensemencement par stries, à l'aide d'une pipette Pasteur sur les différents milieux de culture. D'une part, le milieu Hektoen pour les deux variantes de *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella pneumoniae* 152 et *Escherichia coli*, (**Kings. et al., 1968**). Et d'autre part le milieu Chapman pour *Staphylococcus aureus* (**Chapman, G.H, 1945**) et le milieu Sabouraud pour *Candida albicans* (**ASM**).



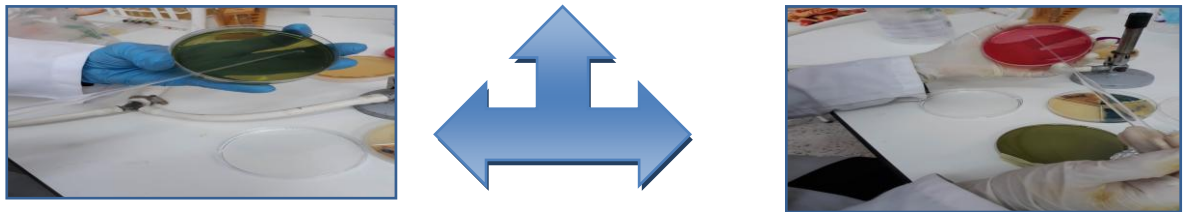


Figure 16 : Réactivation des souches étudiées. (Prise personnelle)

L'incubation a été réalisée dans l'étuve à 37 °C pendant (18-24) heures pour les bactéries, et incubation à 28°C pendant (18-24) heures pour la levure. Les colonies isolées ont servi à la préparation de l'inoculum bactérien ou fongique (**Communiqué du CASFM, 2012**).

4.3.2. Etude des caractères macroscopiques

L'observation macroscopique ou la description des colonies bactériennes est la première étape du diagnostic bactérien. (**Camille D ,1998**). Elle englobe les caractères suivants :

Tableau 9 : caractères macroscopiques sur les boîtes pétris.

Caractères culturaux	Taille	forme	Surface	opacité	Consistance	L'odeur	Couleur
Résultats	Petite Moyenne Grande	bombée plate ronde ovoïde	Lisse Rugueux e	Opaque translucide	Colonies lisses Rugueux Muqueuses	Très forte Forte	

4.3.3. Etude microscopique

4.3.3.1.L'état frais

Permet d'observer des bactéries vivantes et apporte des renseignements sur ses différentes caractéristiques telles que la morphologie, le mode de groupement et la mobilité (**Camille D, 1998**).

4.3.3.2.La coloration différentielle de Gram et au bleu de méthylène

❖ Coloration de Gram

➤ Principe

La coloration de Gram est un examen clé de la microbiologie qui consiste à différencier la paroi bactérienne et scinder les bactéries en deux grands groupes : bactéries à Gram positif (+) et bactéries à Gram négatif (-). **Camille, 1998 ; Camille et Bernanrd ,2003 ; Lansing et al., 2003).**

➤ Mode opératoire

- Déposer sur une lame propre une goutte d'eau stérile, puis prélever à l'aide d'une pipette pasteur une colonie de la culture ; mélanger afin d'obtenir une suspension homogène.
- Réaliser le frottis en partant du centre de la lame, en décrivant avec la pipette des mouvements circulaires de façon à obtenir un étalement mince et homogène.
- Stériliser la pipette.
- Sécher au-dessus de la flamme d'un bec Bunsen.
- Recouvrir le frotti avec de violet de Gentiane ; laisser agir 1mn ; rincer à l'eau distillée
- Verser du lugol et le laisser agir pendant 1 mn ;
- Décolorer à l'alcool à 95° entre 15 et 30 secondes, rincer à l'eau distillée.
- Fixer avec de la fuchsine pendant 1 min; rincer à l'eau distillée.
- sécher au-dessus de la flamme d'un bec Bunsen.

Observer au microscope optique à l'objectif x 100 à immersion, les Gram+ se colorent en violet tandis que les Gram- apparaissent colorés en rose (**Delarras, 2007).**

❖ Coloration bleue de méthylène

➤ Principe

La coloration au bleu de méthylène est une coloration très simple qui permet d'observer les bactéries, les champignons. Elle permet de renseigner sur : la forme, la taille, le mode de regroupement.

➤ Mode opératoire

- ✓ Réaliser un frottis et le fixer.
- ✓ Recouvrir la lame de bleu de méthylène phéniqué, 1 à 2 minutes.
- ✓ Rincer à l'eau distillée.
- ✓ Sécher la lame

- ✓ Observer à l'objectif X 100 à l'immersion dans l'huile et à pleine lumière.
(Rocken et al., 1976)

4.3.4. Les tests enzymatiques

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

❖ La recherche de catalase pour *Staphylococcus*

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

➤ Mode opératoire

La méthode consiste à prélever une colonie du germe à étudier sur l'extrémité d'une pipette Pasteur fermée que l'on plonge ensuite dans un millilitre d'eau oxygénée. Le dégagement de bulles gazeuses signe la présence de l'enzyme (Reuter et al., 1996).

❖ La recherche d'oxydase

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

➤ Mode opératoire

- ✓ La recherche de l'oxydase s'effectue avec des disques prêts à l'emploi du commerce. Déposer le disque sur une lame porte-objet,
- ✓ Humidifier avec deux gouttes d'eau distillée stérile
- ✓ Écraser la colonie testée sur le disque.
- ✓ Une réaction positive se traduit par un virage rapide au bout de 30s du réactif de l'incolore au violet (Burdock, 1995).

❖ La recherche de coagulase pour *Staphylococcus*

Selon ISO 6888-1 le test mettant en évidence l'aptitude des bactéries à coaguler le plasma est le principal test caractérisant *S. aureus*. Le test de détection consiste à incuber pendant 4 heures à 37°C un mélange de plasma oxalaté de lapin et la souche à tester, de préférence à partir d'une culture en gélose Chapman.

L'apparition d'un caillot est observée en inclinant le tube à 90°C. Il existe de très rares souches de *S. aureus* non sécréteurs de coagulase.

4.3.5. Les caractères biochimiques

4.3.5.1. Etude des caractères biochimiques par la galerie API 20NE

C'est une version standardisée des techniques biochimiques conventionnelles pour l'identification des bactéries à Gram négatif, dont les entérobactéries. Elle comporte 20 Microtubes contenant des substrats sous forme déshydratée. Ces microtubes ont été inoculés avec une suspension bactérienne qui reconstitue les milieux. Les réactions produites pendant la période d'incubation (18h-24h à 37°C) se traduisaient par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs (Ayad, 2017).

➤ Préparation suspension bactérienne standard

Prélever 2 à 3 colonies identiques isolées sur milieu gélosé à l'aide d'une pipette Pasteur, déposée sur les parois d'un tube contenant de l'eau physiologique 9 ml pour dissocier la colonie, puis agitée soigneusement (Michael et Smith, 1993).

➤ Inoculation de la galerie

- Humidifier l'atmosphère par mettre l'eau physiologique dans le fond de la boîte
- Remplir le micro tube de la galerie avec la suspension bactérienne à l'aide d'une pipette pasteur. Au sein du micro tube, on distingue deux parties, le tube et la cupule. Selon les tests, la suspension bactérienne doit être placée dans le tube et la cupule (CIT, VP, GEL) ou uniquement dans le tube des autres tests.
- Créer une anaérobiose dans les tests : **ADH, LDC, ODC, URE, H2S** ajoutant l'huile de vaseline.
- Refermer et étiqueter la boîte.
- Incubation à 37°C pendant 24h (Michael. et
- **Smith. 1993).**

➤ Lecture

Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs.

La lecture se fait à l'aide du tableau de lecture et l'identification à l'aide d'un logiciel d'identification (annexe 4).



Figure 17 : Galerie api 20 NE. (Prise personnelle)

4.4. Activité antimicrobienne

4.4.1. Antibiogramme des souches bactériennes étudiées

L'antibiogramme c'est l'étude de la croissance bactérienne en présence de différents antibiotiques permet de définir pour chaque bactérie analysée un profil de la sensibilité et la résistance aux antibiotiques. Selon les recommandations de l'organisation mondiale de la santé **OMS** on recommande d'adopter la méthode de disques selon la NCCLS (National Comité for clinical laboratory).

Elle est réalisée en respectant les étapes suivantes :

- ✓ **Préparation de l'inoculum** : à l'aide d'une pipette pasteur flambée au bec bunsen prélever 3 à 5 colonies bien isolées et parfaitement identiques. Mettre des colonies dans l'eau physiologique Na Cl 0.9% de façon à voir la turbidité d'un Mac Ferland 0.5.
- ✓ Ensemencer la suspension sur le milieu gélose Mueller Hinton coulé dans une boîte Pétri par inondation.
- ✓ Placer les disques d'antibiotique soigneusement.
- ✓ Incuber pendant 18h à 37°C.

Le diamètre obtenu est comparé aux diamètres critiques établis par le **CA-SFM**. Si le diamètre est supérieur au diamètre correspondant à la concentration critique basse, la souche est sensible vis-à-vis de l'antibiotique testé, tandis que si le diamètre est inférieur au diamètre correspondant à la concentration critique haute, la souche est catégorisée résistante. Entre ces deux valeurs, la souche est dite intermédiaire.

Tableau 10 : listes antibiotiques utilisés pour l'évaluation de l'antibiorésistance.

Antibiotiques	Famille	Code	Charge de disque
Azithromycine	Macrolides	AZ	30 µg
Co-trimoxazole	Sulfamides_ Triméthoprime	COT	1,25/23,75 µg
Rifampicine	Rifamycines, antituberculeux, antilépreux	R	16 µg
Fusidic acide	Fusidane	FC	10 µg
Oxacilline	pénicillines	OX	1-5 µg
Gentamicine	aminosides	GEN	10 µg
Amikacine	aminosides	AK	30
Cefixine	céphalosporine	CFM	10
Tobramycine	aminosides	TOB	10
Chloramphénicol	Phénicolés	C	30 µg
Colistin sulfate	Polymixine	CS	30 µg

4.4.2. Évaluation de l'activité antimicrobienne d'huile essentielle par la méthode de diffusion en milieu gélosé « aromatoigramme sur milieu solide »

❖ Principe

La méthode de diffusion en milieu gélosé ou aromatoigramme est une méthode inspirée de l'antibiogramme qui permet de déterminer l'activité inhibitrice de croissance des huiles essentielles par la mesure du diamètre d'inhibition autour d'un disque de papier buvard ou de cellulose imprégné d'huile essentielle ou de produit à base d'huiles essentielles (**Billerbeck V.G., 2003**).

➤ Mode opératoire

4.4.2.1. Préparation des disques d'aromatogramme

A partir du papier Wattman, des disques de 6 mm de diamètre ont été préparés, puis ont été mis dans un flacon ensuite stérilisé dans un autoclave pendant 2h (Khadri S, 2009).

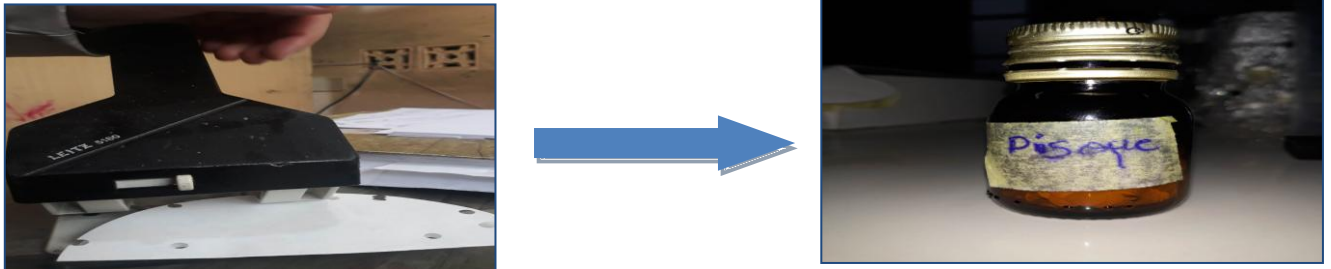


Figure 18 : Préparation des disques d'aromatogramme. (Prise personnelle)

4.4.2.2. Préparation de l'inoculum bactérien et fongique :

L'inoculum est préparé à partir d'une culture pure de 18 h / 37°C sur milieu contenant 3 à 5 colonies bien isolées et parfaitement identiques sont prélevées à l'aide d'écouvillon, puis mise en suspension dans 9 ml d'eau physiologique stérile à 0.9% façon à voir la turbidité d'un Mac Ferland 0.5 (Communiqué Du CASFM, 2012). La suspension fongique standardisée à une absorbance comprise entre 0,08 et 0,10 lu à 449 nm équivalent à 10^7 - 10^8 UFC/ml (Communiqué du CA-SFM, 2012).



Figure 19 : Inoculum bactériens et fongiques. (Prise personnelle)

4.4.2.3. Préparation de la solution mère de l'huile essentielle

Dans un flacon stérile qui contient un volume bien déterminé d'eau distillée stérile nous avons ajouté une quantité de l'huile essentielle pour avoir une concentration égale à 2560 µg/ml. On ajoute 2% (v/v) d'alcool éthylique à 95% et une quantité de 0.05 % (v/v) de Tween 80 à la solution mère afin d'obtenir un mélange homogène (Koba et al., 2005). Calcule :(Annexe 5)

➤ **Ensemencement**

Le milieu Mueller-Hinton est fondu à 90°C dans un bain Marie et refroidi, ensuite il doit être coulé en boîte de Pétri à une épaisseur de 0.4mm.

- ✓ Après la solidification, la surface de la gélose estensemencée par écouvillonnage avec l'inoculum.
- ✓ Un disque de papier Wattman de 6 mm de diamètre stérile imprégné avec 10 µl de la solution mère et un disque stérile imprégné avec 10 µl d'huile essentielle pure (répété 3 fois) sont placés à la surface de la boîte de Pétri, un disque témoin imprégné en solution préparée (eau distillée + Tween 80 + alcool éthylique) a été placé pour servir de témoin.
- ✓ Incuber à 37° C pendant 18 à 24 h.

Note : Les essais sont répétés trois fois

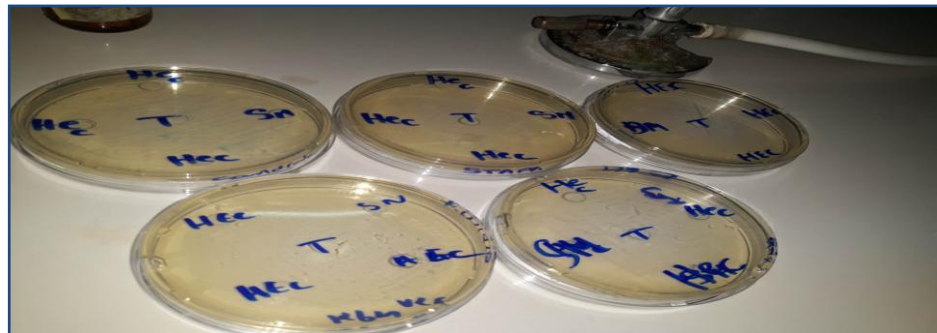


Figure 20 : L'activité antimicrobienne « aromatogramme » ; **HEC:** huile essentielle pure ; **SM :** solution mère ; **T :** témoin.

➤ **Lecture des résultats**

L'échelle d'estimation de l'activité antimicrobienne est donnée par (**Moreira et al., 2005**). Les diamètres des zones d'inhibition de la croissance microbienne sont classés comme suit:

- Non sensible pour le diamètre moins de 8 mm.
- Sensible pour un diamètre entre 9-14 mm.
- Très sensible pour un diamètre entre 15-19 mm.
- Extrêmement sensible pour le diamètre plus que 20 mm.

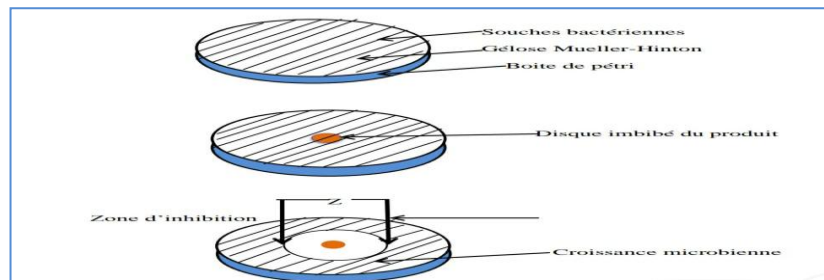


Figure 21: illustration de la méthode des aromatochromes sur boîte de pétri (Zaika, 1998).

4.4.3. Détermination des Concentrations Minimales Inhibitrices de l'huile essentielle

❖ Principe

La méthode consiste à diluer l'huile essentielle dans un milieu de culture solide ou liquide et à inoculer ce milieu avec les souches microbiennes à tester pour mettre en évidence la CMI (Moulari, 2005).

➤ Mode opératoire

4.4.3.1. Préparation de la gamme de concentration de l'huile essentielle

On prépare une gamme de concentration de l'huile essentielle d'*Allium sativum* allant de 2560 $\mu\text{g/ml}$ à 80 $\mu\text{g/ml}$ qu'elle a été préparée à partir de la solution mère selon la méthode de dilution en progression géométrique à raison de 2 (Khadri, 2009).

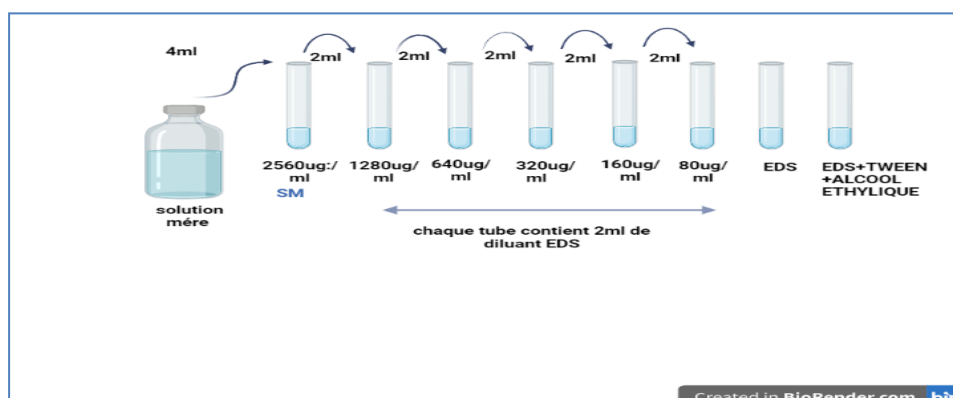


Figure 22: Préparation de série de dilution de la CMI EDS : eau distillé stérile ; SM : Solution mère.

4.4.3.2. Dilution en milieu solide

Cette technique a été choisie car elle est plus économique, elle permet de tester une trentaine de souches dans une seule boîte par la méthode de touches (**Benjilali et al., 1986**).

Elle est préparée comme suit :

- ✓ Dans cette méthode les concentrations finales sont obtenues après addition dans les boîtes de Pétri de 1 ml de chaque dilution de l'huile essentielle à tester et de 9 ml du milieu Mueller Hinton fondu.
- ✓ Homogénéiser le mélange par mouvements rotatoires sous forme de 8. Deux boîtes sans huile essentielle; une avec alcool éthylique et une autre sans alcool sont considérées comme des témoins.
- ✓ Après séchage, les boîtes sont ensemencées avec le même inoculum préparé pour l'aromatogramme, les boîtes de Pétri sont partagées suivant le nombre de bactéries.
- ✓ Incuber les boîtes à 37°C et 28°C pour les souches bactériennes et la souche fongique respectivement pendant 18 à 24h (**Khadri S, 2009**).

➤ **Lecture**

La CMI sera donnée par la première des concentrations de l'huile essentielle qui inhibe sur la gélose toute culture apparente (**Amhis et al., 2001 ; Kamagate et al., 2001**).

Chapitre III :
Résultats et Discussion

I. Résultat de l'analyse chimique et rendement d'huile essentielle

L'extraction d'huile essentielle par la méthode d'hydro distillation des bulbes d'*Allium sativum* provenant d'el Toumiette la région el Harrouche de wilaya Skikda a conduit à l'obtention d'une quantité d'huile essentielle d'*Allium sativum* de couleur jaune claire avec une très forte odeur caractéristique.

Le rendement est donné par la masse de l'huile essentielle par rapport à la masse de la matière végétale et il est exprimé en pourcentage(%).

Les résultats obtenus sont mentionnés dans le tableau (11) et ils montrent un rendement égal à 0.095%.

Tableau (11) : la quantité, le rendement, la couleur et l'odeur d'huile essentielle d'*Allium sativum*.

Quantité de la matière végétale (g)	Masse d'huile essentielle (g)	Rendement (%)	Couleur	odeur
200g	0.19g	0.095%	Liquide jaune claire	Très forte et désagréable

La plante présente un rendement en huile essentielle très faible, ce qui peut être expliqué par la quantité initiale de bulbes utilisés. D'une part, le rendement obtenu est nettement inférieur à celui obtenu par **Haci Seferogullari et al., (2005)**, qui s'élève à 0,14%. Cette équipe a travaillé sur la plante *Allium sativum* originaire de Turquie. En comparaison, dans les régions de Mostaganem, El Taraf et Biskra, les rendements obtenus étaient respectivement de 0,2%, 0,3% et 1% selon **T. Benmeddour et al., (2015)** **Benkeblia (2004)** et **Benmeziane et al., (2018)**.

D'autre part, le rendement est presque équivalent à celui obtenu par **Khadri S** en 2009, qui était de 0,09%, et bien supérieur à celui obtenu par **Chekroud et al., (2019)**, qui était de 0,02%.

Nous constatons que la variation de rendement est bien que la technique d'extraction soit la même peut être expliquée par plusieurs facteurs :

- ✓ L'origine géographique de la plante et les facteurs de l'environnement (**Bruneton, 1993**).
- ✓ La température, le taux d'humidité, la durée d'ensoleillement et la composition du sol et le degré de maturité de bulbes d'ail sont autant de facteurs d'ordre **Fadil et al., (2015)** ont confirmé l'effet du temps de l'hydrodistillation et de la durée de séchage sur la maximisation du rendement. **Vasconcelos et al., (1999)** prouvent que l'heure et le moment de la récolte du matériel végétal dans l'année sont en effet des facteurs importants.

II. Résultat de l'analyse microbiologique

2.1. Etude des caractères macroscopiques

2.1.1. Sur milieu Chromagar

- ***Klebsiella pneumoniae et Klebsiella pneumoniae 152***
Colonies de taille petite, de forme vue de profil bombée et vue dessus ronde, avec une surface lisse pour *Klebsiella pneumoniae* et rugueuse pour *Klebsiella pneumoniae 152*, opaques, couleur bleu- métallique et muqueuses.
- ***Escherichia coli***
Colonies de taille petite, de forme ronde et plate et surface lisse, opaques couleur marron foncé, muqueuses.
- ***Staphylococcus aureus***
Colonies petites, de formes rondes et bombées avec une surface lisse, opaques couleur jaune claire.

2.1.2. Sur milieu Hektoen

- ***Klebsiella pneumoniae et Klebsiella pneumoniae 152***
Colonies de taille moyenne, de forme rondes et bombées, surface rugueuses, opaques, couleur orange et muqueuses.
- ***Escherichia coli***
Colonies de taille moyenne, forme rondes et plates surface rugueuses, opaques muqueuses et couleur jaune orangé avec des précipités biliaries autour des colonies.

2.1.3. Sur milieu Chapman

- *Staphylococcus aureus* : colonies de taille grande, rondes et plates, lisses, translucides jaunes et crémeuses.

2.1.4. Sur milieu Sabouraud

- *Candida albicans* : colonies luisantes blanc-crème ivoire bombées.

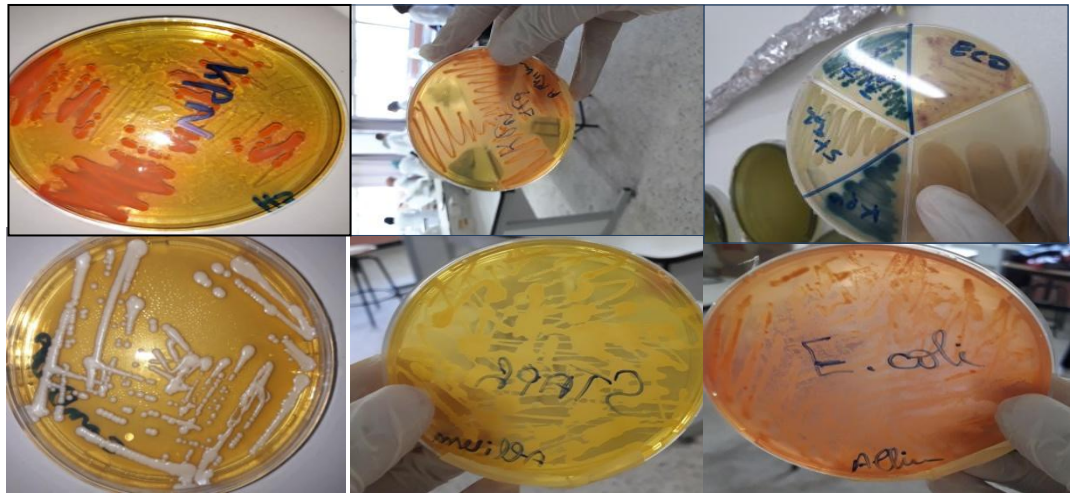


Figure 23 : l’aspect macroscopique des souches étudiées sur les différents milieux de cultures.

2.2.Études microscopiques

2.2.1.État frais des souches bactériennes

L’état frais a montré les résultats dans le tableau (12)

Tableau 12 : Etat frais des souches bactériennes étudiées.

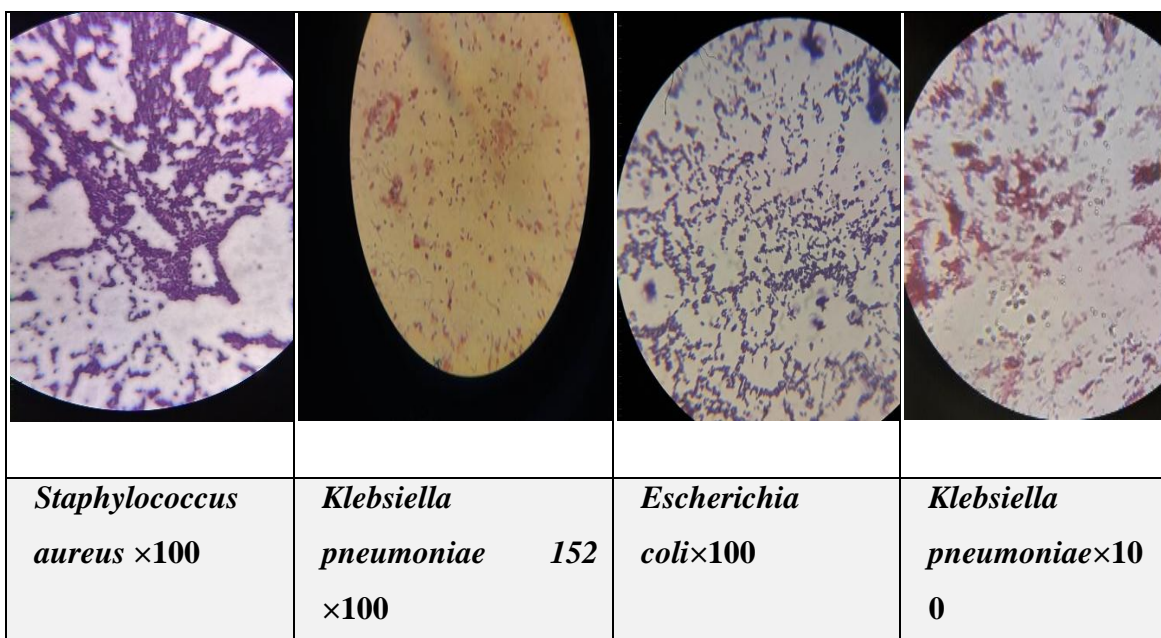
Bactéries	Morphologie	Mobilité	Mode de regroupement
<i>Klebsiella pneumoniae</i> 152	bacilles	immobile	bacille
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	bacilles	immobile	Bacille et diplobacille
<i>Escherichia coli</i>	bacilles	mobile	bacille

<i>Staphylococcus aureus</i>	coccis	immobile	En amas sous forme de grappe de raisin
------------------------------	--------	----------	--

2.2.2. Coloration de Gram et bleu de méthylène

Après la coloration de Gram, l’observation microscopique a révélé la présence des bacilles à Gram négatif pour les deux variantes de *Klebsiella pneumoniae* et des bacilles à Gram positif pour *E .coli* et des coccis à Gram positif pour *Staphylococcus aureus*.

Selon **Kuniaki Nagata et al., (2010)** les conditions de coloration de Gram et la morphologie des bactéries changent parfois en raison de l’antibiothérapie ceci justifie le



changement de Gram de la souche *Escherichia coli*.

Figure 24: L’aspect microscopique de la coloration de Gram souches bactériennes grossissement×100.

Après la coloration bleue de méthylène, l’observation microscopique a révélé la présence des Blastoconidies.

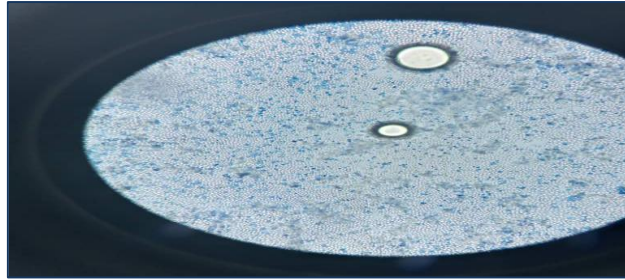


Figure 25: L'aspect microscopique de la coloration bleu de méthylène de *Candida albicans* grossissement $\times 100$.

2.3. Test enzymatique

2.3.1. Test oxydase

Le test oxydase de toutes les souches bactériennes étudiées n'a pas révélée l'apparition d'une coloration violette foncé donc elles sont toutes oxydase négative.



Figure 26: résultats de test oxydase de souches bactériennes étudiées.

2.3.2. Test coagulase (*S. aureus*)

Le test coagulase de *Staphylococcus aureus* a montré une coagulation du plasma donc il est positif.



Figure 27 : Résultat coagulase positif pour *Staphylococcus aureus*.

2.3.3. Tests catalase (*S. aureus*)

Le test catalase de *Staphylococcus aureus* a montré un dégagement de bulbes gazeuses signe de la présence de l'enzyme.



Figure 28: Le test catalase pour *Staphylococcus aureus*.

2.4. Caractères biochimiques

2.4.1. Résultats des galeries API20E pour les entérobactéries à Gram (-)

Les résultats de l'étude des caractères biochimiques par la galerie API 20E de toutes les souches testées répondent réellement au profil numérique spécifique aux différentes espèces (tableau 13).

Tableau 13: Identification biochimique des souches étudiées

	ONPG	ADH	LDC	ODC	CIT	H2S	URE	TDA	IND	VP	GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA
<i>E.coli</i>	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	-	+
<i>K.pneumniae</i>	+	-	+	-	+	-	+	-	-	+	-	+	+	+	+	+	-	+	-	+

<i>K.pneumoniae</i> 152	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
-------------------------	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---

Les résultats de l'observation macroscopique et microscopique des souches étudiées et leurs tests enzymatiques et caractères biochimiques confirment l'authenticité de leurs puretés. En effet, la souche d'*E.coli* est apparue Gram positive lors de l'observation microscopique mais les tests biochimiques de la galerie API20E confirment que c'est bien cette souche, notamment le lactose + et indole + et l'urée – (Stephen. Gillespie et Peter. Hawkey, 2006).

III. Sensibilité des souches bactériennes aux antibiotiques « antibiogramme »

La sensibilité des souches bactériennes testées vis-à-vis les différents antibiotiques a été déterminés par la technique de l'antibiogramme.

Tableau 14: résultats de la sensibilité aux antibiotiques des souches pathogènes cocci testées.

Antibiotiques \ Bactérie	<i>Staphylococcus aureus</i>
AZ	S
COT	S
R	S
FC	S
OX	R

R : résistante / **S** : sensible.

Tableau 15: résultats de la sensibilité aux antibiotiques des souches pathogènes bacilles testées.

bactéries \ Antibiotiques	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Klebsiella pneumoniae 152</i>	<i>Escherichia coli</i>
Gen	S	S	S
CS	S	S	S
AK	S	S	R
CFM	S	S	R
TOB	S	R	S
C	R	R	S

R : résistante / S : sensible.

Les résultats obtenus révèlent que la souche de *Staphylococcus aureus* présente une sensibilité aux antibiotiques de manière générale. En ce qui concerne la première variante de *Klebsiella pneumoniae* isolée, elle se montre également sensible à la majorité des antibiotiques. Cependant, la souche de *Klebsiella pneumoniae 152* présente une sensibilité plus limitée, ne réagissant favorablement qu'à environ deux tiers des antibiotiques testés. En outre, *Escherichia coli* se caractérise par un taux de sensibilité similaire, soit environ 66,6%. Il convient également de noter que la majorité des souches résistantes cliniques développent des mécanismes d'adaptation face aux antibiotiques (Silver, 2011). Cette résistance est le résultat de mutations chromosomiques ou de l'acquisition de gènes de résistance portés par des éléments génétiques mobiles tels que des plasmides, des phages, des transposons et des intégrons. (García-Ruiz et al., 2008 ; Kempf et Zeitouni, 2009).



Figure 29: Résultats de l'antibiogramme de *Staphylococcus aureus*, *E.coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella pneumoniae 152*.

IV. Évaluation de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle

Lors de cette étude, nous avons testé l'effet antimicrobien de l'huile essentielle d'*Allium sativum* vis-à-vis quatre souches bactériennes et une levure. Nous avons utilisé la méthode de diffusion en disques sur milieu solide (aromatogramme).

Tableau 16: L'activité antimicrobienne de HE étudiée vis-à-vis des souches microbiennes, exprimé par la méthode d'aromatogramme.

Méthode Souches	Aromatogramme					
	HE 1	HE2	HE3	Moy ±Ecart	SM	T
<i>Escherichia coli</i>	11	12.5	13.8	12,43±1,40	8	6.2
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	6.2	6	6	6,1±0,29	6	6
<i>Klebsiella pneumoniae</i> 152	6	6	6	6±0	6	6
<i>Staphylococcus aureus</i>	12	11.8	14	12,6±1,21	9	6
<i>Candida albicans</i>	16	8.5	13	12,5±3,77	12.4	6.3

SM : solution mère ; **HE**: huile essentielle ; **T** : témoin ; **Moy** : moyenne ; **Ecart** : écart type

4.1. Activité antibactérienne

Les résultats illustrés dans la figure (31) et le tableau (16) démontrent une moyenne sensibilité de l'huile essentielle envers les souches de *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*, avec des diamètres d'inhibition de 12,6 mm et 12,43 mm respectivement. Cependant, les deux variantes de *Klebsiella pneumoniae* ont montré une croissance sans aucune inhibition autour du disque, ce qui révèle une résistance significative de ces variantes envers l'huile essentielle.

Et le témoin composé d'eau distillée et d'alcool éthylique n'a montré aucune activité antimicrobienne contre les cinq souches étudiées, ce qui confirme que l'effet observé dans la solution mère est dû à l'ajout de l'huile essentielle.

Les résultats observés contre *Staphylococcus aureus* dans notre étude sont inférieurs à ceux obtenus par **Chekroud et al., (2019)** et **Benmeddour et al** en 2015, qui ont obtenu respectivement des zones d'inhibition de 18 mm et 15 mm. Cependant, nos résultats sont meilleurs que ceux trouvés par **G. Paul et al** en 2012 (8 mm) et presque similaires à ceux marqués par **Chekki et al** en 2014 (12 mm). D'autre part, les résultats obtenus contre *Escherichia coli* sont supérieurs à ceux obtenus par **Chekroud et al., (2019)** qui ont montré une absence totale d'inhibition (< 8 mm).

L'activité antibactérienne de l'huile essentielle d'ail s'est avérée puissante contre les bactéries à Gram positif, ce qui confirme les études antérieures qui ont démontré que la plupart des huiles essentielles testées pour leurs propriétés antibactériennes ont un effet plus marqué contre les bactéries à Gram positif.

La résistance des bactéries à Gram négatif est attribuée à leur membrane externe hydrophile, qui peut entraver la pénétration des composés hydrophobes dans la membrane cellulaire cible, comme l'a souligné **Wan en 1998**.

Chez les bactéries à Gram négatif, la paroi cellulaire est composée d'un peptidoglycane plus fin et est associée à une enveloppe externe complexe qui crée un espace périplasmique distinct. Cette enveloppe externe est une bicouche lipidique asymétrique hydrophobe qui comprend des phospholipides, des protéines (porines) et des lipopolysaccharides (LPS). L'espace périplasmique contient des enzymes qui dégradent les substances complexes, facilitant ainsi leur passage à travers la membrane cytoplasmique, tout en neutralisant les produits chimiques toxiques tels que les antibiotiques et les métaux lourds (**Wan, 1998**).

Par contre, chez les bactéries à Gram positif, la paroi cellulaire est constituée d'un peptidoglycane épais qui est associé à des protéines pariétales exposées ainsi qu'à des structures polysidiques telles que les acides lipoteichoïques et teichoïques.

Selon **Feldberg et al., (1988)** l'allicine cible directement les bactéries et il a été démontré qu'elle inhibe partiellement la synthèse de l'ADN et des protéines. Cependant, son effet sur la synthèse de l'ARN est immédiat, ce qui suggère que l'ARN pourrait être la cible principale de l'action de l'allicine. Ces résultats ont été confirmés par **Bhandari, (2012)**. En effet l'action ciblée de l'allicine est le groupement –SH de l'enzyme ARN polymérase (**Cavallito et al., 1944 ; Ankri et al., 1997; Ankri et Mirelman, 1999**).

4.2. Activité antifongique

L'huile essentielle d'ail (*Allium sativum*) a démontré un effet inhibiteur sur la levure *Candida albicans*, avec une zone de diamètre de 12,5 mm. Ces résultats confirment les observations faites par **Benmendour et al.**, en 2015, qui ont également constaté un pouvoir inhibiteur notable des extraits d'*Allium sativum* vis-à-vis de *C. albicans*.

Yin et Tsao, (1999) ont rapporté que l'action inhibitrice sur les champignons pourrait être attribuée à la formation de liaisons d'hydrogène entre les composés phénoliques et les sites actifs des enzymes cibles.

De plus, **Lucini et al.**, (2006) ont démontré que les monoterpènes présents dans les huiles essentielles jouent un rôle dans l'inhibition de la croissance du mycélium. **Sharma et Tripathi**, (2006) ont également mis en évidence l'action de l'huile essentielle sur les hyphes du mycélium, entraînant une perte de rigidité et d'intégrité de la paroi cellulaire, conduisant à l'effondrement et à la mort du mycélium.

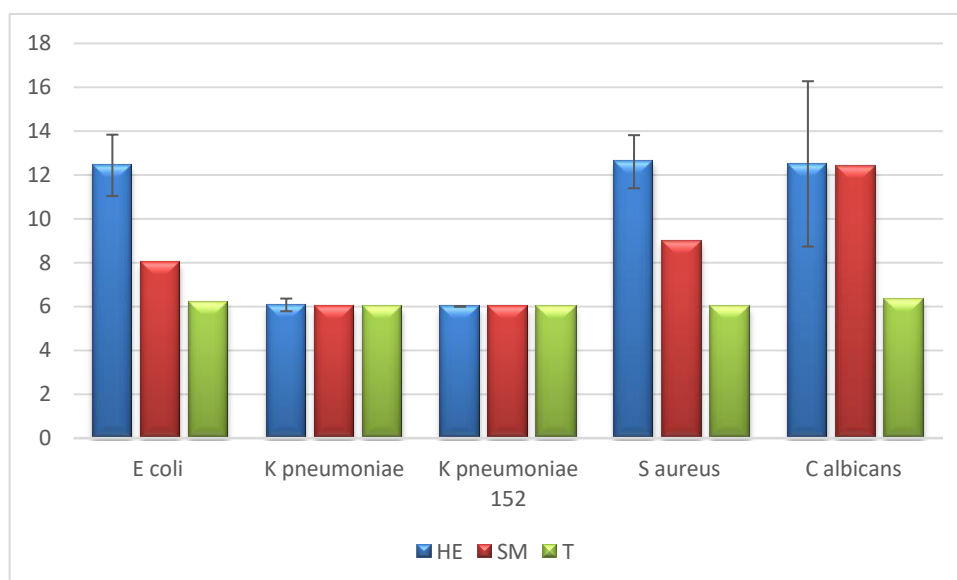


Figure 30 : Résultats méthode de diffusion en milieu solide « aromatogramme »

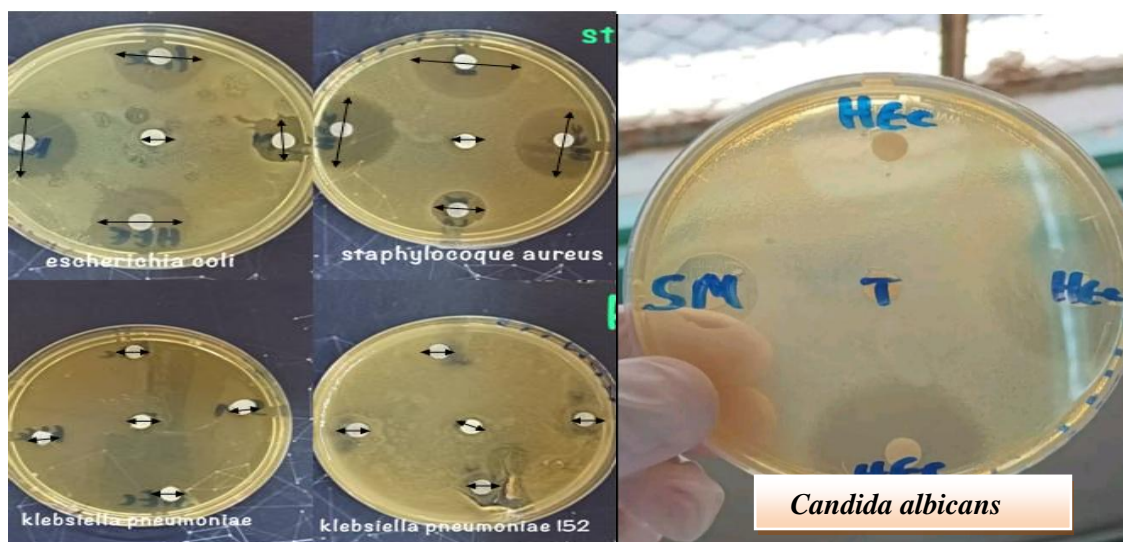


Figure 31: L'effet antimicrobien de l'huile essentielle d'*Allium sativum* sur la croissance des souches testées par la méthode des disques « Aromatogramme ».

V. Concentration minimale inhibitrice de l'huile essentielle

Les résultats obtenus de l'aromatogramme ont été confirmés quantitativement par la technique de la concentration minimale inhibitrice (CMI) tableau (17) et figures(33,34)

Tableau 17 : Détermination des CMI de l'huile essentielle d'*Allium sativum* sur les souches testées.

Les concentrations d'HE	Concentration minimale inhibitrice (µg/ml)					
	80	160	320	640	1280	2560
Souches microbiennes						
<i>Escherichia coli</i>	-	-	-	-	+	+
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	+	+	+	+	+	+
<i>Klebsiella pneumoniae 152</i>	+	+	+	+	+	+
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	-	+	+	+
<i>Candida albicans</i>	-	+	+	+	+	+

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

Les souches microbiennes testées, à savoir *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*, ont présenté des concentrations minimales inhibitrices différentes. Pour *Candida albicans*, la concentration minimale inhibitrice était de 80 µg/ml, tandis que pour *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*, les concentrations minimales inhibitrices étaient respectivement de 320 µg/ml et 640 µg/ml. Par ailleurs, les deux variantes de *Klebsiella pneumoniae* (*Klebsiella pneumoniae* et *Klebsiella pneumoniae* 152) ont montré une croissance dans toutes les concentrations de l'huile essentielle testée, ce qui indique une résistance de ces souches à l'effet inhibiteur de l'huile essentielle.

Les résultats obtenus pour *Staphylococcus aureus* dans notre étude confirment les conclusions de l'étude menée par **Chekroud et al.**, en 2019, qui ont également étudié l'*Allium sativum* de la région El Harrouche. Dans notre cas, la faible activité de l'huile essentielle utilisée peut être expliquée par son profil chimique qui est pauvre en diallyltrisulfide (DATS) à hauteur de 1,47% et diallyltétrasulfide (DATTS) à hauteur de 4,92% (**Khadri, 2009**). Ces deux composés ont été identifiés par plusieurs auteurs (**O'Gara et al., 2000; Tsao et Yin, 2001**) comme les composants les plus actifs de l'huile essentielle d'*Allium sativum*. Par ailleurs, la variabilité des concentrations minimales inhibitrices (CMI) observée peut également être attribuée à la différence de sensibilité de l'espèce microbienne testée. Ou peut être influencée par la quantité de l'émulsifiant utilisé cependant, l'ajout d'un émulsifiant au cours de l'étude de l'activité antibactérienne peut limiter le contact entre l'huile essentielle et la bactérie à tester. (**Khadri S, 2009**).

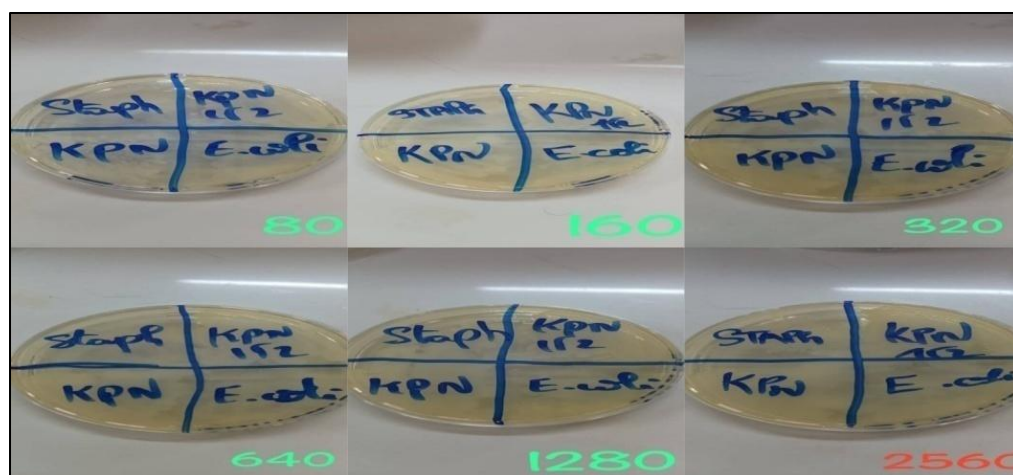


Figure 33 : Les concentrations minimales inhibitrices de l'huile essentielle vis-à-vis les souches bactériennes testées.



Figure 34: Les concentrations minimales inhibitrices de l'huile essentielle vis-à-vis *Candida albicans*

Conclusion et perspectives

Conclusion

La résistance aux antibiotiques est un enjeu critique pour la santé publique, car elle compromet l'efficacité des traitements antibiotiques existants contre les divers microorganismes responsables des maladies infectieuses. Cette résistance est provoquée par une utilisation excessive et inappropriée des antibiotiques, ce qui nécessite la recherche de solutions alternatives efficaces, telles que l'utilisation des extraits de plantes médicinales. Ces extraits offrent des possibilités prometteuses pour combattre les infections de manière active et efficace.

En effet, en première partie nous avons extrait l'huile essentielle d'*Allium sativum*, plante très fameuse en phytothérapie par l'hydrodistillation avec un montage rudimentaire ce qui a donné un faible rendement estimé à 0.095 %.

En deuxième partie, les analyses microbiologiques des souches responsables des infections urinaires confirment leurs puretés.

Enfin, l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle d'*Allium sativum* par la méthode de diffusion en milieu solide a permis de révéler que les bactéries *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* ainsi que la levure *Candida albicans* sont sensibles à cette huile essentielle par rapport aux bactéries *Klebsiella pneumoniae* et *Klebsiella pneumoniae 152* qui sont résistantes.

La détermination de la CMI a montré des valeurs moyennes et variables entre les souches cliniques testées. Nous avons enregistré 80 µg/ml, 320 µg/ml et 640 µg/ml pour *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli* respectivement. Par contre, les deux variantes de *Klebsiella pneumoniae* testées ont poussé dans toutes les dilutions de l'huile essentielle allant de 2560 µg/ml à 80 µg/ml ce qui confirme les résultats d'aromatogramme précédent.

Nos résultats indiquent que l'huile essentielle d'*Allium sativum* a une activité antimicrobienne intéressante sur les microorganismes d'infections urinaires.

Cette étude pourra ouvrir plusieurs portes de recherche sur différents aspects :

- L'étude de l'activité antimicrobienne d'*Allium sativum* sur d'autres microorganismes responsables d'autres maladies infectieuses.

- L'étude des propriétés biologiques de cette plante telle que les propriétés antioxydantes, anti-tumorales et anti-inflammatoires.
- La valorisation de l'effet d'huile essentielle d'ail sur la conservation des aliments.

*Références
bibliographiques*

Références bibliographiques

A

- Abalikamwe. 2004** ; Bactéries Responsables Des Infections Urinaires De Kigali ; Mémoire de master , Rwanda
- AFNOR. (1992).** Recueil des normes françaises sur les huiles essentielles. Paris.
- Amhis W., Benslimane A., Tiouit D., Naim M. (2001).** Tests de sensibilité utiles au traitement antibiotique. Médecine du Maghreb; n°91.
- Ankri S, Miron T, Rabinkov A, Wilchek M, and Mirelman D. Antimicrob.(1997)** .agents chemother,41, 2286-2288.
- Ankri, S., & Mirelman, D. (1999).** Antimicrobial properties of allicin from garlic. *Microbes and infection*, 1(2), 125-129.
- Arvy, M. P., & Gallouin, F. (2015).** Épices, aromates et condiments. Belin.
- Ardtan N.,(1992).** Néphrologie –Lapis. France. P319.
- Aries W., Dorbane S., Ghiat I., (2014)** .Infections urinaires communautaires à *Escherichia coli*, Mémoire de fin d'étude pour l'obtention du doctorat en en pharmacie, université Constantine 1.
- Arvy, M.P. et Gallouin, F. (2003).** Epices aromates et condiments. Paris: Belin. P: 24-30
- ASM – Sabouraud Agar for Fungal Growth Protocols**
- Ayad, A. (2017)** ; Etude Des Mécanismes De Résistance Aux Antibiotiques Chez *Escherichia coli* Au Niveau Des Hôpitaux De l'Ouest Algérien ; Thèse de doctorat en Biologie ; Université Abou Bekr Belkaid ; Tlemcen

B

- Batiha.G. Beshbishy.A. Wasef.LetElewa.Y. (2020).**Chemical Constituents and Pharmacological Activities of Garlic (*Allium sativum L.*): A Review.12 (3):872
- Bengahroua, C.,&Ouhib, M. (2020).** Extraction, Caractérisation et Les effets Thérapeutiques de l'Huile Essentielle d'Ail (*Allium sativum*) (Doctoral dissertation, université ibn khaldoun-tiaret
- Benmeddour.T, H. Laouar, A. Benabdi, andS. Brahim. (2015),** “Evaluation of the activity of antibacterial and antifungal agents in the genus *Allium*,” *Courrier du Savoir*, vol. 19, no. 6, pp. 9–14, 2015

- Benjilali B.,** Tantaoui-elaraki A., Ismaïl-alaoui.M ., Ayadi A.(1986). Méthode d'étude des propriétés antiseptiques des huiles essentielles par contact direct en milieu gélosé Plantes médicinales et phytothérapie. 20 (12), p: 155-167.
- Benkeblia N. (2004).**Antimicrobial activity of essential oil extracts of various onionions(*Allium cepa*) and garlic (*Allium sativum*). Lebensmittel-Wissenschaftund-Technologie ;37 :263-268.
- Bhandari, Prasan R. (2012)** Garlic (*Allium sativum L.*): A review of potential therapeutic applications
- Billerbeck V.G. (2003).** Détermination des CMI et QMI des produits air pharma sur des souches bactériennes multi résistantes. Laboratoire de Bactériologie, Virologie et Microbiologie industrielle. Toulouse
- Bouguéneq Ch.(2003).** Mécanismes bactériologiques des infections de l'appareil urinaire. Rev Prat ; 17-70-71.
- Bousseboua, H.(2005).** Eléments de Microbiologie : Constantine : Edition Campus-club. 215 p.
- Bourgoin M-A.,** Garza Guajardo R., Philippe G., Souchet S. (2017). Etude des propriétés antimicrobiennes de l'extrait d'ail (*Allium sativum L.*). Ecole supérieure d'agriculture f49000 Angers –France.
- Bouvenot. (2012).** Guide du bon usage du médicament, 2^{ème} édition – Paris. 1273p.
- Brown G D, Denning DW, Gow NA. (2012).** Hidden killers: human fungal infections. Sci TranslMed ; 4 : 165rv113. [Google Scholar
- Bruneton J. (1993).** Pharmacognosie. Phytochimie, plantes médicinales. Tec. & D oc. Lavoisier, 2^{ème} édition, Paris. 915p.
- Bruneton, J. (1999).** Pharmacognosie. Phytochimie des plantes médicinales. 3^{ème} édition. Technique et Documentation Lavoisier. Paris. 915 p
- Burdock GA. (1995)** .Fenaroli's Handbook of Flavor Ingredients. Volume I, 3^e Edition CRC Press.

C

- Camille D. (1998).** Microbiologie, 90 heures de travaux pratiques, enseignement.
- Camille D., Bernard T. (2003).** Surveillance sanitaire et microbiologique des eaux, réglementation- prélèvement-Analyse.
- Cantwell, M. I. (2000).** Alliin in garlic. Perishables Handling Q, 102: 5-6.
- Cavallito CJ and Bailey JH .(1944).** Allicin, the antibiotic principle of *Allium sativum*. Isolation, physical properties and antibacterial action. J Am Chem Soc., 66 :1950-1951.

- Cellini, L.**, Di Campli, E., Masulli, M., Di Bartolomeo, S., &Allocati, N. (1996).
- Chapman, G.H. (1945).**, The significance of sodium chloride in studies of *staphylococci*, J. Bact50 : 201-203
- Chaux Cl. et Fourycl. (1994).** Production légumière - tome1Généralités (série Agriculture d'aujourd'hui) Edition Tec et Doc Lavoisier Paris, Londres, New York.
- Chavassieux. D. (2014).** Les huiles essentielles en protection des cultures Analyse et Enquêtes. Institut Technique de l'Agriculture Biologique (ITAB). Embranes, 1788(11), 2362-2373.
- Chebaibi A.**, Marouf Z., Rhazi-Filali F., Fahim M., Ed-Dra A. (2016). Évaluation du pouvoir antimicrobien des huiles essentielles de sept plantes médicinales récoltées au Maroc. *Phytothérapie*, 14(6), 355
- Chekroud zohra** ,Hanene Silini, Sara Khalfi et Youcef Redjem . (2019) Contribution to the Evaluation of Antibacterial Activity of *Allium sativum* L. (Garlic) Essential Oil and Fresh Juice International Journal of Applied and Physical Sciences volume 5 issue 2 pp. 42-50 doi : <https://dx.doi.org/10.20469/ijaps.5.50002-2>
- Clement J.M.(1981)** . «Larousse agricole » Librairie Larousse Paris p1208
- Colin L. (2016).** L'ail et son intérêt en phytothérapie. Thèse de doctorat en Pharmacie. Université de Lorraine
- Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CASFM).** (2012).
- Corzo-Martínez M**, Corzo N, Villamiel M. (2007); Biological properties of onions and garlic.Trends FoodSci Technol. 18(12):609 25
- CUNHA.J.P. (2017).** Urinary Tract Infection (UTI) Symptoms, Treatment & Causes [en ligne].Emedicine Health Disponible sur<https://www.emedicinehealth.com/urinary_tract_infection_uti/article_em.htm#urinary_tract_infection_uti_facts » Consulté le 25 Avril 2023

D

- Daif , N. (1993).** L'ail, *Allium sativum* 1. (Liliacées) : de la tradition à ses perspectives
- Daniel M. (2006).** Medicinal plants. USA, Science Publisher.
- Delarras C. (2007)** Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyse ou de contrôle sanitaire. Technique et documentation. Lavoisier, Paris
- Delavaux - PIERRE. (1982).** Ail: *Allium sativum* L. (Liliacées) Actuel. Thèse doctorat.184p.

Duhamel M. (2013). Les infections urinaires chez la femme. Thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie : conseils à l'officine.

E

Eberhard T, Robert A &Annelise L. (2005). Plantes aromatiques, édition lavoisier, P 90-94.

Elcy. (2007). Lexi guide des herbes et plantes aromatiques, 2 ème édition, P 31/ 32.

F

Fadil M., Farah A., Ihssane B., Haloui T., Rachiq S. (2015). Optimisation des paramètres influençant l'hydrodistillation de *Rosmarinus officinalis* L. par la méthodologie de surface de réponse. *J. Mater. Environ. Sci.* 6 (8) : 2346-2357.

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

Fenwick, G.R., Hanley, A.B., Whitaker, J.R. (1985). The genus *Allium* part 1. *Critical Reviews in Food Science&Nutrition*22, 199-271.

Fernandez X., Chemat F. (2012). La chimie des huiles essentielles. Editions Vuibert .288p

Flandrois. Jean Pierre . (2000). Bactériologie Médicale. Coll Azay. Puf.

Furet A., Bellenot D. (2013). Les huiles essentielles dans la protection des cultures: une voie en cours d'exploration. Institut technique interprofessionnel des plantes médicinales, aromatiques et industrielles (ITEIPMAI).

G

G. Paul and G. Kamel. (2012). "PhytothÃAl'rapie anti-infectieuse," Universite de Monasti Springer Verlag France, Paris, Unpublished master's thesis.

Gambogou. B. Ameyapoh. Y. Gbekley. E et Djeri.B . (2019). Revue sur l'Ail et ses composés bioactifs. Review on Garlic and its bioactive compounds. *European Scientific Journal*.1857- 7431.

Garcia-Ruiz A., Bartolomé B., Martinez-Rodriguez A.J., Pueyo E., Martin-Alvarez P.J., and Moreno-Arribas M.V. (2008). Potential of phenolic compound for controlling lactic acid bacteria growth in wine. *Food Control*. 19: 835–841.

Garneau, F. X., &Collin, G. J. (2005). Huiles essentielles: de la plante à la commercialisation, le matériel végétal et les huiles essentielles. Chicoutimi, Quebec, 1.

GergesGeagea Alice. (2015). Les Bienfaits de l'Ail sur la Santé. Phytothérapie. HUMAN & HEALTH, N°3, 46- 47p

Ghesquiére.C. (2016).Les bienfaits de l'ail dans les maladies cardiovasculaires. Thèse pour le diplôme d'état de docteur en Pharmacie, Université de Picardie Julesverne.2016

Ghimi, W. (2015). Étude phytochimique des extraits de deux Euphorbiaceae: Ricinuscommunis et Jatrophacurcas. Évaluation de leur propriété anti-oxydante et de leur action inhibitrice sur l'activité de l'acétylcholinestérase (Doctoral dissertation, Université de Lorraine

Guemouni S. (2016). Etude comparative du séchage par micro-onde et à l'étuve de l'ail « *Allium sativum* ». Université A. MIRA – Bejaia. Sciences des aliments.

H

Haci seferogullari H, Ozcan M, Demir F, Calisir S. (2005). Some nutritional and Technological properties of garlic. Journal of Food Engineering; 68: p 463-469

Haertig A, P CONORT. (1991): urologie-Imp8.Paris; P: 41.

Hazen, K. C., & Howell, S. A. (2007).Candida, Cryptococcus, and Other Yeasts of Medical Importance.In P. R. Murray (Ed.), Manual of Clinical Microbiology (9th ed., pp. 1762-1788).Washington D.C.: ASM Presse.

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

Hervé Boutal. (2017) Développement et validation de tests de détection rapide de la résistance aux antibiotiques Thèse de doctorat en Biochimie et biologie structurale Université Paris-Saclay (Com UE).

I

Iserin P. (2001). Identification, Préparation, Soins. Larousse encyclopédie des plantes médicinales, Dorling Kindersiey Limited,

ISO Organisation international de normalisation ISO 6888-1

J

Josling P. (2001). . Preventing the common cold with a garlic supplement: a double blind, placebo- controlled survey. Adv There; 18(4):p189-93.

K

Kabera Nzeyumwami J. (2004). Caractérisation des huiles essentielles de trois plantes aromatiques : *HyptisSpicigera*, *PlucheaOvalis* et *LaggeraAurita*. DEA.Université de Lome, Togo.

Kamagate A., Kone D., Coulibaly N.T., Brou E., Sixou M. (2001). Etude comparative de différentes méthodes d'évaluation de la sensibilité aux antibiotiques des bactéries anaérobies strictes de la flore sous-gingivale. *Odonto-Stomatologie Tropicale* ; N°95.

Karaalp C., Yurtman A.N., Yavasoglu N.U.K.(2009). Evaluation of antimicrobial properties of *Achillea L.* flower head extracts. *Pharmaceutical Biology*. 47(1): 86–91.

Khadri Sihem. (2009) “Evaluation of antibacterial activity of garlic (*Allium sativum l.*) Essential oil of the Algerian East against different strains of *pseudomonas aeruginosa*,” University of Badji Mokhtar, Annaba, Algeria, Unpublished master’s thesis.

Kings S et al. (1968). A new plating medium for the isolation of enteric pathogens. II. Comparaison of hektoen enteric agar with SS and EMB agar. *Appl. Microbiol.* 16 : p.577-578

Koba K., Sanda K., Raynaud C., Nenonene Y.A., Millet J., Chaumont J.P. (2005). Activités antibactériennes des huiles essentielles de trois *Cymbopogon Sp.* Africains vis-à-vis de germes pathogènes d’animaux de compagnie .*Ann.Méd.Vét* ; 148 : 202-206.

Kouta.K. (2009). « Infections urinaires chez les diabétiques adultes », Mémoire de magistère, Université de KASDI-MERBAH, Ouargla : P 09.

Krausz M. (2009) Le marché mondial du lavandin, de la lavande. Perspectives. Centre d'Etude et de Développement Durable Euro-méditerranéen (CEDDEM). http://www.ceddem.org/maj/upload/publications/fichier_4.pdf. Consulté le 09-04-2023.

Kuniaki Nagata, Hirotoishi Mino, Shunsuke Yoshida. (2010), Usefulness and limit of Gram staining smear examination , *Rinsho byori. The Japanese Journal of Clinical Pathology* 58 (5), 490-497.

L

Lagunez –Rivera L. (2006). Etude de l'extraction de métabolites secondaires de différentes matières végétales en réacteur chauffe par induction thermomagnétique directe, Thèse de Doctorat de l'Institut National Polytechnique de TOULOUSE ; p. 31-42.

Lansing M., John P., Harley. (2003). *Microbiologie* 2^{ème} édition français, 5^{ème} édition américaine.

Larousse Encyclopédie des plantes médicinales : identification, préparations et soins, 2001 (2eme Edition) gralic p 58

Lasnier F et Crouzols G et Lechaud M. (1984). Livre d'hygiène et biologie humaines

Lilia L., Méndez L., François C. (2008).Effect of temperature cycling on allinase activity in garlic .Food Chemistry ; 111 : 56-60.

Lobel.B et SOUSSY.C.J. (2007). Livre « Les infections urinaires », Monographie En Urologie, Springer, Paris

Lucchesi M.E. (2005) : Extraction Sans Solvaont Assistée par micro-ondes Conception et Application à l'extraction des huiles essentielles, thèse doctorat : Université de la Reunion Faculté des Sciences et Technologies France, p146.

Lucini E.I., Zunino M.P., López M.L., Zygadlo J.A. (2006). Effect of Monoterpenes on Lipid Composition and Sclerotial Development of *Sclerotium cepivorum* Berk. J. Phytopathol. 154: 441–446.

M

Majewski, M. (2014). , *Allium sativum*: facts and myths regarding human health. Roczniki Panstwowego Zakla du Higieny Journal Impact Factor, vol 65, p 1–8.

Makhloufi, A., Moussaoui, A & Lazouni, H.A. (2012). Antibacterial activities of essential oil etcrude extracts from *Matricaria pubescens* (Desf.) growing wild in Bechar, Southwest of Algeria. Journal of Medicinal Plants Research. 6 (16), p. 3124-3128

Mason, C. A., & Hamer, G. (1987). Survival and activity of *Klebsiella pneumoniae* at super-optimal temperatures. Bioprocess and Biosystems Engineering, 2(3), 121-127.

Meddeb V. (2008).étude des effets des rayonnements ionisants sur les propriétés biochimiques et biologiques de l'ail (*Allium sativum*).

Mehrbod P, Amini E, Tavassoti-Kheiri M. (2009). Antiviral Activity of Garlic Extract on Influenza Virus. Iran J Virol ; 3(1) :19-23.

Michael,B. et Smith, H.(1993). Dépistage Des Infections Des Voies Urinaires Chez LesNourrissons Et Les Enfants Asymptomatique ; Canada ; 247-259p.

Michael,B. et Smith, H.(1993). Dépistage Des Infections Des Voies Urinaires Chez LesNourrissons Et Les Enfants Asymptomatique ; Canada ; 247-259p.

Ministère de l'agriculture, de l'alimentation et des affaires rurales (OMAFRA)

(2002). Fiche technique: La culture de l'ail. . [En ligne]

<http://www.omafra.gov.on.ca/french/crops/facts/97008.htm>

Minker. (2012). Ail et autres alliées : un concentré de bienfaits pour votre santé, votre beauté et votre jardin. Eyrolles. Paris: Eyrolles: p157.

Moreira M.R., Ponce A-G., Del Valle C.E., Roura S.I. (2005). Inhibitory parameters of essential oils to reduce a foodborne pathogen. *LWT-Food Science and Technology*. 38, 565-570.

Moulari B. (2005). Propriétés antimicrobiennes in vitro d'extraits de deux plantes africaines – Rôle de l'Astilbine – potentialisation du pouvoir antibactérien par nanoencapsulation. Thèse Doctorat Univ. Franche-Comté (France). P 209.

N

Nagini, S. (2008) .Cancer chemoprevention by garlic and its organosulfur compounds- panacea or promise. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry (Formerly Current Medicinal Chemistry-Anti-Cancer Agents)*, 8(3), 313-321.

Nakagawa H., Tsuta K., Kiuchi K., Senzaki H., Tanaka K., Hioki K. et Tsubura A. (2001). Growth inhibitory effects of diallyl disulfide on human breast cancer cell lines. *Carcinogenesis*. 22 (6): 891-897

Nauciel,C.(2000).bactériologiemédicinale,3émeédition.Masson,p.5,11,17,21,35,45,55,65, 75.

O

O’Gara E. A., Hill D. J., Maslin D. J. (2000). Activities of Garlic Oil, Garlic Powder, and Their Diallyl Constituents against *Helicobacter pylori*. *Applied and Environmental Microbiology*; Vol 66, No. 5: p. 2269–2273.

Okombeembeya. V. Nzuzi mavungu.G. (2019). Etude de l’activité antibactérienne (in vitro) des extraits aqueux et méthanoliques de l’ail (*Allium sativum L.*)*Journal of applied Biosciences* 141: 14419 – 14425

P

Pail Goetz et Kamel Gheidira. (2012). *Phyto-anti infectious* springer Heidelberg network-springer verlog.france .Paris.

Patrick B, Jean – louis G & Michel S. (1991). *Bactériologie bactérie des infections*

Prakash.K, Ramasubramanian.V .(2016). *Urinary Tract Infection. Manual of Nephrology. Products. Biochemical Pharmacology.* 71: 1006-1015.

R

R. Z. Chekki, A. Snoussi, I. Hamrouni, and N. Bouzouita .(2014) “Chemical composition, antibacterial and antioxidant activities of tunisian garlic (*Allium sativum*)

essential oil and ethanol extract,” Mediterranean Journal of Chemistry, vol. 3, no. 4, pp. 947–956 . Doi: <http://dx.doi.org/10.13171/mjc.3.4>.

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

Rocken, W., and Strauss, M. (1976). Monatschrift für Brauerei, 5, 209

Roux D. (2008). Conseil en aromathérapie. 2 ème édition, Pro -Officina, 187.

Ruchot H. (2013) L’oignon *Allium cepa* L3 SVB. Faculté libre de la science e Technologies

Rullière, M.,et Porraz, A. (2015). Conseils en aromathérapie à l’officine: création d’un site internet destiné aux pharmaciens d’officine (Doctoral dissertation, Thèse]. Grenoble: Université Joseph Fourier

S

Seki, T., Hosono, T., Hosono-Fukao, T., Inada, K., Tanaka, R., Ogihara, J., & Ariga, T. (2008). Anticancer effects of diallyltrisulfide derived from garlic. Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition, 17(S1), 249-252.

Sendl A. (1995). *Allium sativum* and *Allium ursinum*: Part 1 Chemistry, analysis, history, botany. Phytomedicine. ; 1(4):p323-39.

Senninger F. (2009). L’ail et ses bienfaits. Saint-Julien-en-Genevois ; Genève-Bernex : Editions Jouvence ; 94p.

Sharma N., Tripathi A. (2006). Fungi toxicity of the essential oil of *Citrus sinensis* on post-harvest pathogens. World Journal of Microbiology and Biotechnology 22(6):587

Silver L. (2011). Challenges of Antibacterial Discovery. Clin. Microbiol. Rev. 24, 71–109. 10.1128/CMR.00030-10.

Singh S.B& Barrett J.F. (2006). Empirical antibacterial drug discovery foundation in natural products. Biochemical Pharmacology. 71: 1006-1015.

SPILF. 2015. Diagnostic et antibiothérapie des infections urinaires bactériennes communautaires de l’adulte

Stephen H. Gillespie et Peter M. Hawkey. (2006) Practice of clinical Bacteriology Second Edition p 343

Senhadji,I. (2020). les antibiotiques Généralités, université Oran 1 faculté de médecine ,38p

T

Thacker.E. (1996).Le livre d'Ail. Editeur, La Maison du saule.65p.

The Complete German Commission E. (1998) Monographs - Therapeutic Guide to Herbal Medicines, American Botanical Council, US

Trefeil, N. (1997), L'ail (*Allium sativum*) : Botanique, composition chimique, propriétés antioxydantes .Thèse : Pharmacie : Limoges.

V

V. Christopher, Natural Alternatives to Antibiotics: Fight Infections By Stren

Vasconcelos Silva M.G., Craveiro A.A., Abreu Matos F.J., Machado M.I.L., Alencar J.W. (1999). Chemical variation during daytime of constituents of the essential oil of *Ocimum gratissimum*. *Fitoterapia* 70, 32-34.

Verbois.S. (2015).La phytothérapie. Une synthèse de référence illustrée pour découvrir les vertus et profiter des bienfaits des plantes. Eyrolles Pratique.190p

Vuke-Weledji, S. (2014). Infections et colonisations urinaires à entérocoque à l'Hmi Mohammed V De Rabat. Thèse de Doctorat : Pharmacie. Rabat : Université Mohammed V – Souissi Faculté de Médecine et de Pharmacie, 89p

W

Wan, J., Wilcock, A., Coventry, M.J. (1998). “The effect of essential oils of basil of the growth *Aeromonas hydrophila* and *Pseudomonas fluorescens*.”, *J. Appl. Microbiol.*, 84 : 152-158.

Weber P. (2002).Epidémiologie bactérienne des infections urinaires basses communautaires, état de sensibilité des bactéries des infections urinaires en ville. In les infections urinaires, question d'actualité, Phase 5, Editions médicales : 65-67.

Whiteway M, Bachewich C. (2007). Morphogenesis in *Candida albicans*.*Annu Rev Microbiol.* 61: 529-553.

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

Y

Yin M.C., Tsao S.M. (1999). Inhibitory effect of seven *Allium* plants upon three *Aspergillus* species. *Int. J. Food Microbiol.* 49 :49

Yombi J C & Marot J C. (2015).Le bon usage des antibiotiques en médecine générale, focus sur les infections respiratoires et urinaires chez l'adulte. Louvain médical, 134(7): 363-371. Faculté de médecine Cote d'Ivoire

Z

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

Zerari Z et DJE Kouadio K. (2014). Mémoire du master, les infections nosocomiales : cas de l'infection urinaire. Université de Constantine1, Constantine.

Sites Web

1-**Wikimedia Fondation. (2010).** Wikipédia – L'encyclopédie libre. Ail cultivé. Disponible sur: « http://fr.wikipedia.org/wiki/Ail_cultiv%C3%A9 » **Consulté :** le 20.05.2023.

2-**Jésus Cardenas. (2015)** <https://www.doctissimo.fr/html/sante/atlas/fiches-corps-humain/appareil-urinaire.htm>

3- **T. Escherich. (1885).** https://fr.m.wikipedia.org/wiki/Escherichia_coli

4- **Schroeter. (1886) ; Trevisan. (1887).**

https://fr.m.wikipedia.org/wiki/Klebsiella_pneumoniae

5- **Rosenbach. (1884)** https://fr.m.wikipedia.org/wiki/Staphylocoque_dor%C3%A9






6- **Berkhout.(1923).**https://fr.m.wikipedia.org/wiki/Candida_albicans

Annexes

Annexe 1

Annexe 1

❖ Matériel utilisée







Eau physiologique	Flacon sombre	Tube à essai stériles	Ampoule à décanter	Eprouvette graduée
				

Verreries

- Boîtes de pétrie
- Pipette pasteur
- Bécher
- Fiole rondet
- Erlenmeyer
- Entonnoir

➤ Produits chimiques et solvants


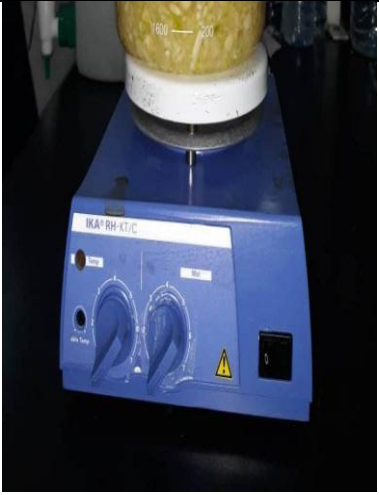

- Eau distillée.
- Le surfactant Tween 80.
- Sulfate de sodium anhydre (Na_2SO_4).
- Alcool éthylique Alcool 95

Réfrigérateur	Hydro distillateur	Etuve	Bain-marie	Spectrophotomètre	Balance
					

➤ Appareils utilisés

Autres:

- Papiers filtre.
- Disques en papier wattman de 6mm.
- Boîtes de Pétri en plastique.
- Eau physiologique.
- Bec bunsen.

Autoclave	agitateur	Microscope
		

- Ecouvillons.
- Seringues de 5ml.
- Embout jaune stérile de 10 μ l.
- Anse de platine.
- Micropipette.
- Pince.

Annexe 2

Annexe 2

Milieux de culture utilisés

1-Mueller Hinton

2-1 compositions

- Infusion de viande de bœuf..... 4g
- Hydrolysate acide de caséine.....17,5g
- Amidon de Mais.....1,5g
- Agar.....12g

1-2 Préparation

Après dissolution de tous les ingrédients dans l'eau distillée, ajuster le pH à 7,3 et stériliser à l'autoclave 15 min à 121°C.

2-Milieu Hektoen

2-1 Composition

- Peptone pepsique de viande.....12,0 g
- Extrait autolytique de levure.....3,0 g
- Lactose.....12,0 g
- Saccharose 12,0 g
- Salicine.....2,0 g
- Sels biliaires..... 9,0 g
- Chlorure de sodium..... 5,0 g
- Thiosulfate de sodium..... 5,0 g
- Citrate ferrique ammoniacal 1,5 g
- Bleu de bromothymol 65 mg
- Fuchsine acide 40 mg
- Agar bactériologique 13,5 g

2-2Préparation Après dissolution de tous les ingrédients dans l'eau distillée, ajuster le pH à $7,6 \pm 0,2$, et stériliser à l'autoclave 15 min à 121°C.

3-Milieu Chapman

3-1Composition

- Extrait de viande de boeuf1 g/l
- Peptones10 g/l
- Mannitol10 g/l
- Chlorure de sodium.....75 g/l

- Rouge de Phénol.....0.025 g/l
- Agar.....15 g/l

3-2Préparation

Après dissolution de tous les ingrédients dans l'eau distillée, ajuster le pH à 7,4 Stériliser 15

Minutes à 121°C à l'autoclave.

4-La gélose Sabouraud

4-1Composition

- Peptone..... 10 g
- [Glucose](#) massé..... 20 g
- [Agar-agar](#)..... 15 g
- [Eau](#) distillée (qsp)..... 1 000 ml
- [vitamines](#) et facteurs de croissance
- [pH](#) = 6,0

4-2 la préparation

Après dissolution de tous les ingrédients dans l'eau distillée, ajuster le pH à = 6,0 stériliser à l'autoclave 15 min à 121°C.

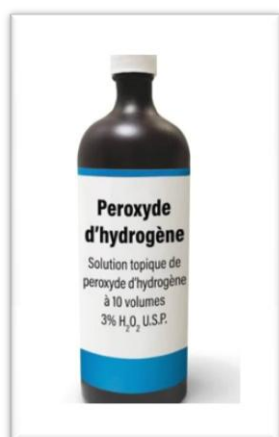
5-Le milieu gélosé chromogénique Chromagar

Il a été développé et validé pour la culture des prélèvements urinaires, il est utilisé pour l'ensemencement d'une grande variété de prélèvements par les laboratoires

Annexe 3

Annexe 3**Réactifs utilisés****violet de gentiane**

- Solution de violet de gentiane
- Ethanol..... 2g
- Oxalate d'ammonium.....0,8g
- Eau distillée.....80ml.

Eau oxygénée.**Réactifs de Voges Proskauer (VP)****VP I**

- hydroxyde de potassium.....40g
- eau distillée.....100ml

VP II

- Alpha-naphtol..... 6g
- Ethanol.....100ml

Réactif TDA.

- ferric chloride
- 1 g/10 mL (eau distillé)

Réactif de Kowacks.

- Diméthylamino 4- benzaldéhyde..... 50g
- Pentanol 750ml
- Acide chlorhydrique concentré.....

Fuschine**Lugol**

Annexe 4

Annexe 4

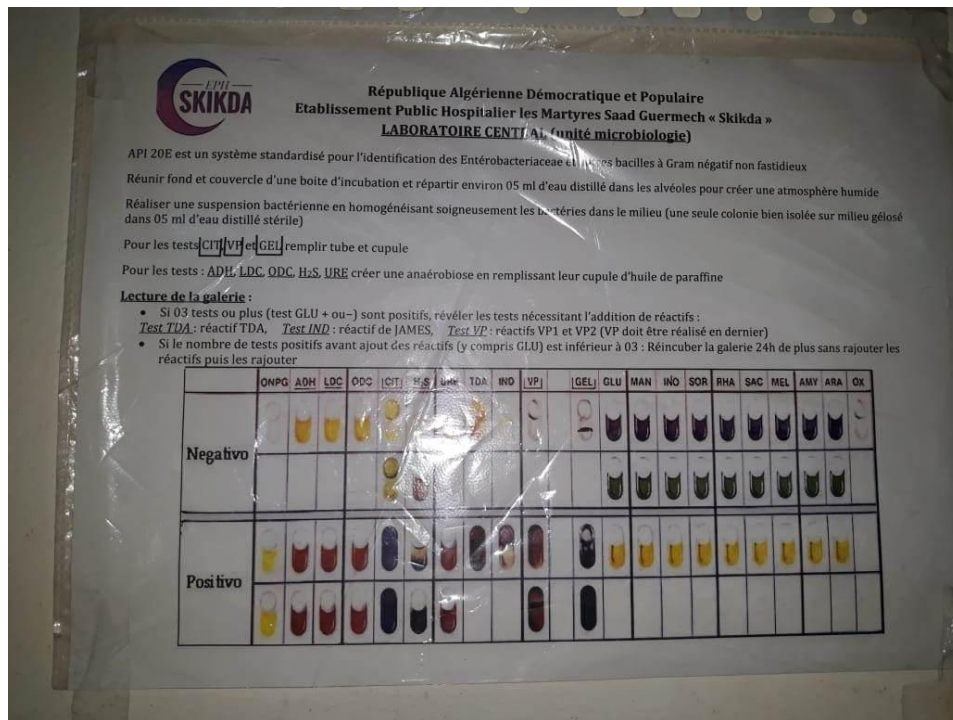


Figure : La galerie api20E

Annexe 5

Calcul de concentration de la Solution mère :

On a:

$$C_m = m \text{ (HE)} / V \text{ (eau distillé)}$$

$$C_m = 2560 \mu\text{g/ml ET } m \text{ (HE)} = 0.19 \text{ g}$$

$$0.19\text{g} = 19 \times 10^4 \mu\text{g}$$

$$V \text{ (eau distillé)} = 19 \times 10^4 / 2560 = 74.22\text{ml} = 74\text{ml}$$

2) Calcule 2% alcool

$$100\text{ml} \text{ ---} > 2\text{ml}$$

$$74\text{ml} \text{ ---} > X$$

$$X = 1.48\text{ml}$$

3) Calcul 0,05% TWEEN 80

$$100 \text{ ml} \text{ ---} > 0.05 \text{ ml}$$

$$74\text{ml} \text{ ---} > X$$

$$X = 0.037\text{ml}$$