



Université Mohamed Khider de Biskra
Faculté des sciences exactes et sciences de la nature et de
la vie
Département des sciences de la nature et de la vie

MÉMOIRE DE MASTER

Domaine : Sciences de la nature et de la vie
Filière : Sciences biologiques
Spécialité : Microbiologie appliquée

Réf. :

Présenté et soutenu par :

Amira DELLOUL

Amel HAMCHA

Le : lundi 28 juin 2021

Thème

**Isolement et purification des agents
antibactériens à partir de la plante *Aloe vera*
-Analyse d'articles-**

Jury :

Mme. Kenza MOUHAMMEDI	Pr	Université de Biskra	Président
Mme. Asma MEDDOUR	MCB	Université de Biskra	Rapporteur
M. Nacer BELOUCIF	MAA	Université de Biskra	Examineur

Année universitaire : 2020 – 2021

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Remerciements

Nous tenons à remercier tout d'abord « **ALLAH** » pour nous donner la possibilité et la santé pour terminer ce modeste travail.

Nous exprimons nos profonds remerciements à **Madame Meddour Asma** docteur et maître de conférence à la faculté de science de la nature et de la vie Université **Mohammed Khider –Biskra**, d'avoir accepté de nous encadrer, nous la remercions pour son aide, sa disponibilité et sa puissance pour nos encouragements tout au long de ce travail.

Nous adressons nos sincères remerciements au membre de jury, d'avoir accepté d'examiner et de juger ce travail.

Nous tenons à remercier spécialement Nous tenons à remercier spécialement : Monsieur Ahmed et Amine et

Toutes les amis et les collègues qui ont apportés leur soutien moral et intellectuel tout au long de notre démarche.

Nous remercions toutes les personnes ayant contribué de près ou de loin pour ce travail.

Dédicace

*C'est, ici, l'occasion pour dédier ce travail aux Sources de mes joies, secret de ma force, Le support de ma vie, Les plus chères personnes dans le monde, **mes parents** :*

A mon honorable père,

qui ma appris le sens de la persévérance tout au long de mes études, qui représente pour moi le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager.

A la lumière de mes yeux,

l'ombre de mes pas et le bonheur de ma vie ma mère qui ma apporté son appui durant toutes mes années d'étude, pour tous les sacrifices qu'elle me contente toute la confiance qu'elle m'accorde tout l'amour dont elle m'entoure.

***** Qu'Allah vous accorde longue vie dans la santé et le bonheur *****

À mes adorables soeurs : Loubena, Chaima

À mes chers frères : un spécail dédicace a mes yeux :

Mohammed Naceroullah , billal

***À ma grand-mère et père paternelle**(dieu ait leur âmes)*

À ma grand-mère et père maternelle

À toutes les personnes de ma grande famille maternelle et paternelle

Mes oncles (Khelifa, Hamid , Omar, Issa) Fatima, Karima, Kawther, Youcef

À mes chères cousines,

*Une grande dédicace à mes chères **Hanan** kaddouri **et Aicha** kaddouri*

À mon binôme : Amel Hamcha

À mes chères et proches amies,

Fatano, Razika, khawla, Meriem, Sorai ,Sara Chahinaz, Samah, Soltana

***** Merci d'être dans ma vie *****

Amira

Dédicace

Je dédie ce mémoire,

A mes chères parents : Maman qui m'a porté, aimé, chéris des plus profonds de son cœur. Qui m'a soutenu, guidé, dans les moments les plus difficiles. Je t'aime.

Papa : tu reste la source de mon cœur, dans mes inspirations dans mes décisions. Tu es le seul et l'unique dans l'univers, l'homme que j'aimerais jusqu'à l'infini.

A mes très chères sœurs et frères : Naziha, Rabiaa, Abde-Elazize, Farhat, Fatiha, Hasna, Warda, Dalila, Hiloua.

A mes chères amies : Soumia, Fayrouz, Fatima, Maymouna , les 3 Meriem, Hoda, Raya, Wafa, Kholoud, Amina, Yamina, Maroua, Samah, Nihad , Toma , Chahira , Hanane, Nadjette, Amira , Docteur I.

A : Maissa, Lamia, Bouthayna, Naaima, les 2 Toma, Saif, Fares, Yassin, Rida, Mohammed.

A mon binôme : Amira Delloul

A tous ceux et toutes celles qui m'ont accompagné et soutenu durant cette année.

Amel

Sommaire

Remerciements.....	
Liste des tableaux.....	I
Liste des figures.....	II
Liste des abréviations.....	III
Introduction.....	1

Première partie

Synthèse bibliographique

Chapitre 1

Généralités sur *Aloe vera*

1. Généralités sur <i>Aloe vera</i>	3
1.1. Classification botanique.....	3
1.2. Ecologie et distribution géographique.....	3
1.3. Description botanique.....	4
1.4. Composition chimique de l' <i>Aleo vera</i> :.....	5
1.5. Activités biologiques d' <i>Aleo vera</i> :.....	6
1.6. Usages traditionnels et courants :.....	6

Chapitre 2

Les agents antimicrobiens

2. Agents antimicrobiens.....	7
2.1. Définition.....	7
2.2. Mode d'action des agents antimicrobiens.....	7
2.2.1. Agents biocides.....	7
2.3. Mode d'action des antibiotiques.....	8
2.4. Agents antimicrobiens.....	8
2.4.1. Agents chimiques.....	8
2.4.2. Agents physiques.....	8
2.4.3. Agents biochimiques.....	9

Deuxième partie

Partie expérimentale

Chapitre 03

Matériel et Méthodes

3.1. Préparation du gel d' <i>Aloe vera</i>	11
---	----

3.1.1. Matériel.....	11
3.1.1.1. Matériel végétal	11
3.1.1.2. Produit et réactif utilisés	11
3.1.1.3. Appareillages et outils utilisés	11
3.1.2. Méthode.....	11
3.2. Préparation des extraits	12
3.2.1. Matériel.....	12
3.2.1.1 Matériel végétal	12
3.2.1.2. Produit et réactif utilisés	12
3.2.1.3. Appareillages et outils utilisé.....	12
3.2.2. Méthodes	12
3.2.2.1. Principe.....	12
3.2.2.2. Mode opératoire	13
3.3. Activité antibactérienne des extraits de gel d' <i>Aloe vera</i>	13
3.3.1.1. Matériel biologique	13
3.3.1.2. Appareillages et les outils utilisés.....	13
3.3.2. Méthodes	14
3.3.2.1. Technique de diffusion de puits d'agar	14
3.3.2.2 Mode opératoire	14
3.4. Fractionnement des extraits.....	15
3.4.1. Matériel.....	15
3.4.1.1. Matériel végétal	15
3.4.1.2. Produits et réactifs utilisées :	15
3.4.1.2. Appareillages et outils utilisé.....	15
3.4.2. Méthode.....	15
3.4.2.1Chromatographie sur couche mince et chromatographie sur colonne (CCM)	15
3.5. Évaluation de l'activité antibactérienne de différents composés.....	16
3.5.1. Matériel.....	16
3.5.1.1. Matériel végétal	16
3.5.1.2. Produits et réactifs utilisés	16
3.5.2. Méthodes	17
3.5.2.1 Technique de puits	17
3.5.2.2 Mode opératoire	17

3.6. Identification des composés antibactériens	17
3.6.1. Matériel.....	17
3.6.1.1. Matériel végétal	17
3.6.1.2. Appareillages	17
3.6.2. Méthode	18
3.6.2.1. Analyse par technique spectrométrie de masse couplée à la chromatographie en phase gazeuse (GCMS) (Shimadzu QP-2000).....	18
3.6.2.2. Mode opération	18
3.7. Analyses statistiques	18

Chapitre 4

Résultats et discussion

4. Résultats et discussion.....	19
4.1. Activité antibactérienne de l'extrait du gel d' <i>Aloe vera</i>	19
4.2. Composés majeurs et mineurs identifiés dans le gel extrait de l' <i>Aloe vera</i>	20
4.3. Isolement de différents composés dans les extraits du gel d' <i>Aloe vera</i>	22
4.4. Activité antibactérienne des différentes fractions obtenus par chromatographie sur colonne	22
4.5. Les composants antibactériens dans le gel extrait de l' <i>Aloe vera</i>	24
Conclusion.....	29
Références Bibliographiques.....	31
Annexes	
Résumé	

Liste des tableaux

Tableau 1: Description botanique de l'Aloe vera (Grindlay et Reynolds ,1986; Haller, 1990).....	4
Tableau 2: Cibles d'action des principaux antibiotiques. (Carip, 2008).....	10
Tableau 3: Activité antibactérienne des extraits de gel d'Aloe vera contre certaines bactéries pathogènes.....	19
Tableau 4: Les composants majeurs et mineurs extrait de gel d'Aloe vera.....	21
Tableau 5: Activité antibactérienne de fractions obtenues de l'extrait de méthanol et éthanol de gel d'Aloe vera.....	22
Tableau 6: Antibacterial activity of selected fractions obtained from column chromatography	23

Liste des figures

Figure 1. Aloe barbadensis (Pandey et Singh, 2016)	4
Figure 2. Coupe transversale de la feuille d' <i>Aloe vera</i> (Sahu et al., 2013).	5
Figure 3. Fleur d' <i>Aloe vera</i> (Michawiya, 2013).	5
Figure 4. Préparation de gel d' <i>Aloe vera</i>	12
Figure 5. Mass Spectrum of Fraction NO. 73	26
Figure 6. Mass Spectrum of Fraction No. 74	26
Figure 7. Mass Spectrum of Fraction No. C.....	27
Figure 8. Mass Spectrum of Fraction No. D	27
Figure 9. Structure of Pyrocatechol.....	28
Figure 10. Structure of Cinnamic acid	28
Figure 11. Structure of p-coumaric acid.....	28
Figure 12. Structure of Ascorbic acid	28

Liste des abréviations

JC: Jésus-christ

CNM: *Corynebacterium, Nocardia, Mycobacterium*

ARN: acide ribonucléique

ADN: acide désoxy ribonucléique

HgCl: chlorure de mercure

NaOH: Hydroxyde de sodium

HCl: Chlorure d'hydrogène

H₂SO₄: Acide sulfurique

DMSO: Diméthylsulfoxyde

MeOH: Méthanol

EtOAc: Ethyl acetate

EEtOAc :Extrait Ethyl acetate

EAcn: Extrait d'acétone

EMeOH: Extrait méthanolique

EEthOH: Extrait éthanolique

CCM: Chromatographie sur Couche Mince

GCMS: chromatographie spectrométrie en phase gazeuse

HPCCM : Chromatographie sur Couche Mince haute performance

Test F: Test de Fisher

TMTECH: Institute of Microbial Technology

MTCC: Microbial Type Culture Collection and Genk Bank

ATP: Adenosine triphosphates

FR: facteur de rétention

° C: Degré Celsius

N: Normalité

h: heure

Mesh: Medical Subject Headings

Fig: figure

Mol: molécule

Introduction

Introduction

Il aura fallu des siècles d'évolution, de connaissances et de progrès techniques pour que l'homme redécouvre un jour la nature. Cette redécouverte, dans sa coté concernant le traitement avec les plantes s'appelle la phytothérapie (Béné *et al.*, 2016).

Dans de nombreuses régions du monde, il existe des riches traditions d'utilisation de la phytothérapie pour le traitement de nombreuses maladies infectieuses. Dans les pays en développement, on estime qu'environ 80 % de la population dépendent de la médecine traditionnelle pour leurs soins de santé primaires. En raison des effets secondaires et de la résistance que les micro-organismes pathogènes construisent contre les antibiotiques courants, une grande attention a récemment été accordée aux extraits et aux composés biologiquement actifs isolés de plantes utilisées en phytothérapie. (Alemdar et Agaoglu, 2009).

La biodiversité végétale du Sahara est caractérisée par la présence des plantes médicinales ayant un grand pouvoir thérapeutique contre plusieurs maladies (Ghourri *et al.*, 2013).

Parmi les plantes médicinales les plus répandu : *l'ALOE VERA*.

L'Aloès des Barbades, Aloe vera, plante utilisée en médecine traditionnelle depuis l'antiquité, présente parmi ses nombreuses activités (antimicrobiennes, antivirales, anti-inflammatoires, etc., des propriétés antifongiques. Les anthraquinones rendent la pulpe plus active contre les agents pathogènes. C'est une plante vivace de la famille des *liliacées* (Bhattacharya *et al.*, 2011) poussant sous les climats arides et chauds. La pulpe de ses feuilles contient plus de 99 % d'eau, des dérivés anthraquinoniques dont l'aloïne et de nombreux autres constituants : flavonoïdes, acides aminés, protéines, enzymes, vitamines, minéraux, sucres, stérols, lignine, saponosides, acides gras, acide salicylique, etc. (Bouazza et Hassikou, 2011).

L'objectif de ce modeste travail est d'isoler, purifier et évaluer des agents antibactériens de *l'Aloe vera* afin d'analyser et discuter une publication scientifique dans le journal brésilien de microbiologie en 2009 qui s'intitule : isolation, purification et évaluation des agents antibactériens de *l'Aloe vera*.

L'étude menée sur *l'Aloe vera* se déroule comme suit:

1. Partie bibliographiques: comporte deux chapitres. Le 1^{ère} est consacré à une synthèse bibliographique rappelant des généralités sur *l'Aloe vera* incluant la classification botanique de la matière végétal, l'écologie et distribution géographique, la description botanique, sa composition chimique, activités biologiques et enfin usages traditionnels et courant de la plante. Le 2^{ème} porte essentiellement sur les différentes agents antimicrobiennes (chimiques, physiques, biochimiques) et mode d'action des antibiotiques et leurs classification.
2. Partie expérimentale : elle est subdivisée en 2 chapitres : le premier présent la partie matériels et méthodes : comporte les détails sur les différentes étapes de l'extraction et de purification de gel *d'Aloe vera* et l'évaluation de l'activité antibactérienne de l'extrait de gel *d'Aloe vera* contre les agents pathogènes. le second présent la partie résultats et discussion qui sera une synthèse de recherche discutant les résultats de 21 articles scientifiques.

Première partie :
Synthèse bibliographique

Chapitre 1

Généralités sur *Aloe vera*

1. Généralités sur *Aloe vera*

La plante semi-tropicale *Aloe vera*, a une longue histoire datant de l'époque biblique (Pandey et Singh, 2016), elle est utilisée par l'humanité depuis des milliers d'années dans la médecine populaire pour ses propriétés thérapeutiques (Efterpi *et al.*, 2010).

Aloe vera tire son nom du mot arabe « Alloeh » qui signifie « substance amère brillante » à cause de l'amertume liquide trouvé dans les feuilles et Vera qui signifie « vrai » dans Latin. (Efterpi *et al.*, 2010).

1.1. Classification botanique

Aloe vera est l'espèce type de la famille *Alliaceae*, elle appartient au genre *Aloe* qui contient environ 420 espèces (Kumar et Yadav, 2014).

Règne : Végétal

Division : Trachéophytes

Embranchement : Spermaphytes

Sous /Embranchement : Angiosperme

Classe : Monocotylédones

Ordre : Asparagées

Famille : Liliaceae

Sous-famille : Asphodelaceae

Genre : *Aloe*

Espèce : *Aloe vera*

Sous espèce : *Aloe vera* *Barbadensis* Miler (Baruah *et al.*, 2016).

1.2. Ecologie et distribution géographique

L'*Aloe vera* pousse généralement dans les régions semi-arides et n'apprécie pas les conditions extrêmes telles qu'une humidité excessive ou des températures trop élevées. Il préfère des sols sableux ou limoneux, bien drainés, et peut pousser dans des sols pauvres en éléments nutritifs, mais il prospère sur les sols riches. Il peut très bien survivre à la sécheresse, mais n'est pas très résistant au gel. Il survivra malgré tout à une température de 3°C, avec peu de dégâts. Les jeunes plantes apprécieront la mi-ombre alors que les plantes plus âgées

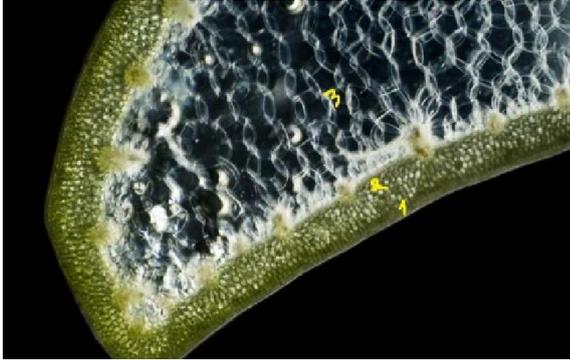
aimeront une exposition complète au soleil. Durant les mois d'hiver en régions subtropicales, la plante entre en dormance et utilise très peu d'eau (Schmelzer et Gurib-fakim, 2008).

L'aire de répartition naturelle de *Aloe vera* n'est pas claire car l'espèce a été largement cultivé à travers le monde, plutôt originaire d'Afrique (Efterpi *et al.*, 2010).

1.3. Description botanique

Tableau 1: Description botanique de l'*Aloe vera* (Grindlay et Reynolds, 1986; Haller, 1990).

Organes	Caractéristiques morphologiques
Les feuilles	<ul style="list-style-type: none"> ◆ Charnues, lisses, à section triangulaire, aux extrémités pointues avec des bords munis d'épines ; ◆ 15 à 30 feuilles par plante ; ◆ D'un vert vif et plus basses avec des taches blanchâtres irrégulières des deux côtés chez les jeunes plantes, les matures sont de couleurs gris-vert ; ◆ Les plus grandes atteignent 100 cm de long et 15 cm de largeur ; <div style="text-align: center;">  </div> <p style="text-align: center;">Figure 1. <i>Aloe barbadensis</i> (Pandey et Singh, 2016)</p> <ul style="list-style-type: none"> ◆ Présentent une écorce externe large d'environ 15 couches de cellules, sa dureté est due à la présence de grandes quantités de calcium et de magnésium. Sous cette écorce se trouvent des faisceaux vasculaires ou des tubes de xylène et de liber. Le xylène transporte l'eau et les minéraux depuis les racines vers les feuilles, tandis que le liber transporte les matériaux synthétisés vers les racines et les autres parties de la feuille ; ◆ La coupe transversale d'une feuille d'<i>Aloe vera</i> permet de distinguer, de l'extérieur vers l'intérieur: la cuticule, une couche épidermique, épaisse à structure consistante capable de retenir la quasi-totalité de l'humidité à l'intérieur, ce qui protège la plante de la chaleur et des rayons ultraviolets, au centre se trouve une pulpe épaisse : parenchyme mucilagineux incolore qui est le précieux gel, capable

	<p>de stocker l'eau filtré par les racines et les feuilles et les substances nutritives en vue des longues périodes de sécheresse.</p>  <p>Figure 2. Coupe transversale de la feuille d'<i>Aloe vera</i> (Sahu <i>et al.</i>, 2013). 1 : la cuticule; 2 : le derme cellulosique ; 3 : la pulpe</p>
La tige	<ul style="list-style-type: none"> ◆ ligneuse, courte sur laquelle se dressent des feuilles en rosettes spiralées.
Les racines	<ul style="list-style-type: none"> ◆ Elles sont de couleur jaunâtre, massives, courtes, et peu profondes.
Les fleurs	<ul style="list-style-type: none"> ◆ Apparaissent à maturité sur une ou plusieurs hampes, de couleurs jaunes ou rouges ; ◆ Disposées sous forme de grappes pendantes (trompettes).  <p>Figure 3. Fleur d'<i>Aloe vera</i> (Michawiya, 2013).</p>

1.4. Composition chimique de l'*Aleo vera* :

L'*Aloe vera* est riche molécules de valeur importante ; il contient des glucides (Femenia *et al.*, 1999), des lipides (Ahmed et Hussain, 2013), des protéines et des acides aminés :7 des acides aminés essentiel (Isoleucine, leucine, lysine, méthionine, phénylalanine, thréonine, valine) et 14 acides aminés secondaires (Acide aspartique, acide glutamique, alanine, arginine, cystine, glycine, histidine, hydrox proline, proline, sérine, tyrosine) (Bayati et

Moradikor, 2014) ,des anthraquinones/anthrone (aloïne, isobarbaloine, anthracène, emodine, ester d'acide cinnamique, aloe-amidon, barbaloine, anthranones, acide aloétique...etc) (Hamman, 2008) ,des vitamines (vitamine B1, B2, B3, PRO-B5, B6, B9, B12, A,C, D, E) (Michawiya, 2013) , des sels minéraux tels que calcium-potassium, magnésium, manganèse, zinc , fer ,phosphates , carotene et copper (Sanghi, 2015), les saccarides (cellulose, mannose, glucose ,aldopentose.....) , les enzymes (amylase, catalase, lipase, oxidase, cellulase) (Choi et Chung, 2003).

1.5. Activités biologiques d'*Aleo vera*:

A. vera était déjà en grande partie de la pharmacopée chinoise 4000 ans avant JC et surnommée «la plante de l'harmonie » grâce à ses effets (Lefsih *et al.*, 2018), par exemple : Laxatif, antioxydante, curatives, anti-inflammatoire, anti-microbienne, antitumorale, Immunomodulatoire, hydratant , anti-âge, antifongique , antidiabétique et hypolipidémique etc. (Kumar et Yadav, 2014).

1.6. Usages traditionnels et courants :

- Un produit de beauté : l'*Aloès* s'utilise depuis des siècles comme lotion pour la peau
- Premiers soins : l'*Aloès* est un excellent remède domestique qui soigne les brûlures, les écorchures et les coups de soleil. Le gel d'*Aloès*, appliqué sur la zone atteinte est apaisant peut dans une certaine mesure soulager les douleurs variqueuses.
 - Le gel, a un effet astringent et apaisant, traite tous les types de peau.
 - Le gel calme les ulcères d'estomac.
- Propriétés laxatives : le suc d'*Aloès*, de couleur jaunâtre, le liquide amer des feuilles, contient des anthraquinones, très laxatives. Ces substances provoquent les contractions du côlon, facilitant ensuite le transit intestinal. A petites doses, cette plante stimule la digestion par ses propriétés amères A doses plus importantes, le suc d'aloès est laxatif et purgatif. (Larousse, 2001).

Chapitre 2

Les agents antimicrobiens

2. Agents antimicrobiens

2.1. Définition

Un agent antimicrobien ou désinfectant est défini par son pouvoir de tuer des populations microbiennes. On attend d'un agent désinfectant généralement une action à large spectre et plus rarement une action ciblée sur un germe en particulier (désinfection sélective). Pour une action bactéricide globale sur les bactéries on doit s'assurer de l'activité bactéricide de l'agent antimicrobien aussi bien sur les espèces à Gram positif que négatif, sans exclure le groupe CNM (*Corynebacterium*, *Nocardia*, *Mycobacterium*). Ces trois groupes de bactéries se distinguent par la composition et la structure de leur paroi cellulaire dont dépend la perméabilité aux agents antimicrobiens. (Pibiri, 2006).

2.2. Mode d'action des agents antimicrobiens

Les mécanismes d'action des produits antimicrobiens autres que les antibiotiques restent encore généralement peu et mal connus. Les agents chimiques antimicrobiens se classent en deux catégories selon leur effet (Cloete, 2003).

2.2.1. Agents biocides

Sont létal, nommé par le suffixe - cide : virucide, bactéricide, fongicide, insecticide. Parmi les on distingue :

- ◆ Les composés chimiquement très réactifs qui se caractérisent par une action brutale, rapide et temporaire et souvent non spécifique, exemples : les oxydants et l'eau oxygénée, les halogénés (chlore et iode) et l'oxyde d'éthylène, les acides et les bases fortes, les aldéhydes et les phénols
- ◆ Les composés chimiquement stables à actions plus spécifique comme ammonium quaternaires, les dérivés phénoliques autres que le phénol, et la chlorhexidine. (Carip *et al.*, 2015).

2.2.2. Agents bio-statiques

Correspondent à une inhibition de croissance en présence du produit actif, nommé avec le suffixe –statique : bactériostatique, fongistatique. Les inhibiteurs de croissance comprennent essentiellement les métaux (mercuriels et dérivés du cuivre, du zinc, de l'argent, ...) et les colorants (Cole *et al.*, 2003).

Selon leur nature et la concentration utilisée, les antiseptiques et désinfectants ont une ou plusieurs cibles. Dans la majeure partie des cas, l'accès à la cible nécessite le

franchissement de la paroi cellulaire qui est un obstacle à la fois chimique et physique. Salton en 1968 a décrit cinq étapes dans l'action des agents antimicrobiens :

- Adsorption sur la cellule suivie de la pénétration dans la paroi.
- Réactions complexes avec la membrane cytoplasmique conduisant à sa désorganisation.
- Echappement des composants de faible poids moléculaire du cytoplasme.
- Dégradation des protéines et des acides nucléiques.
- Lyse de la paroi causée par les enzymes autolytiques (Das *et al.*, 1998).

2.3. Mode d'action des antibiotiques

En fonction de leur nature chimique, les antibiotiques peuvent agir à différents niveaux de la bactérie : la paroi, la membrane, le chromosome, ou les ribosomes. Selon l'élément atteint, la bactérie est soit tuée, soit devenue incapable de se multiplier (Davin-Regli *et al.*, 2008).

2.4. Agents antimicrobiens

Le traitement des maladies infectieuses, la conservation des aliments ou la destruction des micro-organismes dans l'environnement nécessitent des agents antimicrobiens.

On distingue 3 catégories d'agents antimicrobiens :

- Les agents chimiques : les désinfectants et les antiseptiques.
- Les agents physiques : la température et les radiations.
- Les agents biochimiques : les antibiotiques (Denyer et Maillard, 2002).

2.4.1. Agents chimiques

Les agents chimiques peuvent être utilisés pour la décontamination, l'antisepsie, la désinfection ou la stérilisation. Il peut s'agir de substances liquides ou de gaz.

Les principaux produits désinfectants : les alcools, les dérivés iodés, les peroxydes, les dérivés d'ammoniums quaternaires, les phénols, la chlorhexidine, les dérivés chlorés et les aldéhydes. (Carip, 2008).

2.4.2. Agents physiques

Les procédés physiques d'élimination des micro-organismes utilisent la chaleur, les radiations ou la filtration.

- **La chaleur:** habituellement utiliser pour la stérilisation. L'efficacité de cette méthode dépend de la température, du temps d'exposition et de la possibilité de la pénétration de la chaleur dans la masse de l'objet à stériliser.
- **Les radiations:** les radiations peuvent être utilisées pour la stérilisation du matériel médical ou dans l'alimentation. Les rayons traversant un milieu provoquent une ionisation de ses molécules ; ce qui les rend instables et altère leur structure. Les plus sensibles sont les molécules protéiques et les acides nucléiques.
- **La filtration:** c'est une méthode de traitement des fluides (liquides ou gaz) qui permet d'éliminer les impuretés, y compris les micro-organismes le principe consiste à faire passer le fluide à travers un filtre dont les pores sont plus petits que la taille des particules que l'on veut éloigner (Donlan et Costerton, 2002).

2.4.3. Agents biochimiques

Les antibiotiques sont des molécules chimiques naturelles ou de synthèse capable de détruire les micro-organismes ou du moins de limiter de manière significative leur multiplication. Ce terme est généralement est réservé aux molécules dont l'action est antibactérienne (bactéricides ou bactériostatique). (Carip *et al.*, 2015).

Les antibiotiques sont des biomolécules possédant une activité antimicrobienne ; ils sont capables d'inhiber et même de détruire des bactéries ou des champignons (bactériostatique ou bactéricide ou fongistatique ou fongicide) mais toutefois chaque antibiotique a une spécificité d'action. Ils n'agissent pas sur les virus (Figarella *et al.*, 2007).

2.4.3.1. Classification des antibiotiques :

Elle peut se faire selon plusieurs critères qui sont essentiellement:

- La composition chimique. Ex : famille des pénicillines, des macrolides, des aminosides sulfamides, cycline...
- Le mode d'action sur la bactérie. Ex : les pénicillines empêchent la synthèse de la paroi bactérienne.
- La zone de diffusion privilégiée dans l'organisme. Ex : les cyclines ont une bonne diffusion tissulaire. (Figarella *et al.*, 2007).

Tableau 2. Cibles d'action des principaux antibiotiques. (Carip, 2008).

Antibiotiques à activité principalement bactéricide		Antibiotiques à activité principalement bactériostatiques	
Classe	Cible bactérienne d'action	Classe	Cible bactérienne d'action
1. Bêtalactamines ex: pénicillines céphalosporines	Paroi (peptidoglycane)	1. Phénicolés ex. : chloramphénicol thiophénicol	Ribosome
2. Aminosides ex. : streptomycine gentamicine	ribosome	2. Cyclines ex. : tétracycline doxycycline	Ribosome
3. Polymyxines ex. : colymicine	Membrane	3. Macrolides et apparentés ex. : érythromycine pristinamycine	Synthèse des
4. Rifamycine ex. : rifampicine	cytoplasmique	4. Sulfamides et apparentés ex. : cotrimoxazole	acides nucléiques
5. Quinolones ex. : A. nalidixique ciprofloxacine	ARN polymérase ADN gyrase	5. Nitroimidazolés ex. : métronidazole	Acides nucléiques

Deuxième partie
Partie expérimentale

Chapitre 03

Matériel et Méthodes

3. Matériel et méthodes

Le travail suivant a été réalisé par Rubina Lawrence *et al.* Intitulé : Isolement, purification et évaluation des agents antibactériens de *Aloe vera* qui été publiée dans un journal Brésilien de microbiologie en 2009.

3.1. Préparation du gel d'*Aloe vera*

3.1.1. Matériel

3.1.1.1. Matériel végétal

La partie aérienne (feuilles) de la plante d'*Aloe vera* appartenant à la famille des *Liliacées* a été collectée auprès du département d'horticulture, université réputée de l'Institut agricole d'Allahabad, Allahabad.

3.1.1.2. Produit et réactif utilisés

- o Eau distillé
- o Alcool éthylique 70%
- o HgCl₂ 0,1%

3.1.1.3. Appareillages et outils utilisés

- o Pilon et mortier
- o Bicher

3.1.2. Méthode

Les feuilles complètement développées de *Aloe vera* ont été sélectionnés à partir des plantes, on les lave avec de l'eau distillée et ont été soumis à une stérilisation de surface avec 70% d'alcool éthylique, puis 0,1% HgCl₂. La couverture parenchymateuse des feuilles a été pelée et le gel égoutté. Le lisier a été formé à l'aide d'un pilon et d'un mortier.

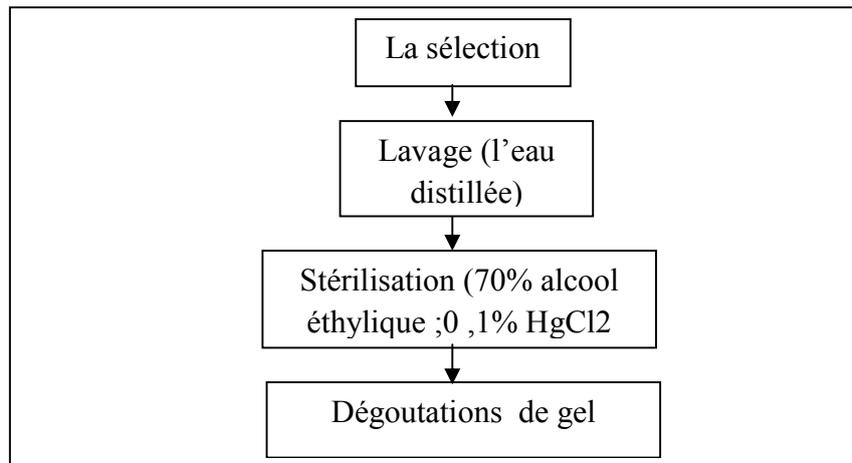


Figure 4: Préparation de gel *d'Aloe vera*

3.2. Préparation des extraits

3.2.1. Matériel

3.2.1.1 Matériel végétal

- o Le gel *d'Aloe vera* préparé

3.2.1.2. Produit et réactif utilisés

- o Ethanol et méthanol ;
- o NaOH 0,15 N ;
- o HCl 0,15 N ;

3.2.1.3. Appareillages et outils utilisé

- o Etuve ;
- o Papier filtre Whatman no. 1
- o Evaporateur rotatif
- o Boîtes de Pétri
- o Verreries de laboratoire

3.2.2. Méthodes

3.2.2.1. Principe

Extraction par les solvants organique ou macération est une technique d'extraction classique, a été mise en œuvre pour le matériel végétal fragile tel que les fleurs et les feuilles,

que ne tolèrent pas la chaleur de distillation à la vapeur. Son principe consiste à mélanger le solvant avec la matière végétale dans un Soxhlet, ensuite filtrer le mélange, par la suite, le filtrat est concentré par évaporation du solvant. (Tongnuanchan et Benjakul, 2014).

3.2.2.2. Mode opératoire

Pour la préparation d'extraits d'éthanol (EEthOH) et de méthanol (EMeOH) :

- ◆ Sécher le gel de feuilles fraîches à l'étuve à 80°C pendant 48 h pour l'obtenir sous forme de poudre.
- ◆ Tremper 20 grammes de cette poudre dans 200 ml de chacun des solvants à savoir l'éthanol et le méthanol pendant 24 h.
- ◆ Filtrer le contenu à travers le papier filtre Whatman no. 1.
- ◆ Evaporer le filtrat à sec.
- ◆ L'extrait séché a encore mis en poudre puis dissous dans de l'eau distillée.

Un autre extrait d'acétone (EAcon) a été préparé d'une manière similaire, sauf que la poudre extraite a été dissoute cette fois dans NaOH 0,15 N puis neutralisée avec HCl 0,15 N (Pawar *et al.*, 2005).

3.3. Activité antibactérienne des extraits de gel d'*Aloe vera*

3.3.1. Matériel

3.3.1.1. Matériel biologique

Des souches de référence : *Staphylococcus aureus* (MTCC 2943), *Streptococcus pyogenes* (MTCC 442), *Bacillus subtilis* (MTCC 441), *Bacillus cereus* (MTCC 1272), *Escherichia coli* (MTCC 1687), *Pseudomonas aeruginosa* (MTCC 1688), *Salmonella tuginosa* (MTCC 1688) MTCC 531 et *Klebsiella pneumoniae* (MTCC 530) ont été obtenus auprès de l'IMTECH, Chandigarh, Inde et ont été utilisés dans l'étude.

3.3.1.2. Appareillages et les outils utilisés

- Boîtes de Pétri
- Tubes à essai
- Tubes à vis
- Ecouvillons
- Embout jaune
- Pied à coulisse ou règle

3.3.2. Méthodes

3.3.2.1. Technique de diffusion de puits d'agar

a. Principe

Cette méthode est adaptée à l'étude de l'action de l'échantillon sur la croissance des bactéries. La méthode de diffusion très utilisée en microbiologie (antibiogramme et anti fongigramme), repose sur la diffusion du composé antimicrobien en milieu semi solide (gélose molle) (Broadasky *et al.*, 1976). L'activité biologique se manifeste par l'apparition d'un halo d'inhibition de la croissance microbienne autour du disque contenant l'extrait à tester. La lecture se fait par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition autour de chaque disque à l'aide d'un pied à coulisse ou une règle en (mm). Les résultats sont exprimés par le diamètre de la zone d'inhibition et dont (Dulger et Gonuz, 2004):

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

3.3.2.2 Mode opératoire

L'activité antibactérienne de l'extrait de gel d'*Aloe vera* testée en utilisant la technique de diffusion de puits d'agar comme décrit par Agarry *et al.* (2005).

- ◆ Couper des puits de 5 mm de diamètre sur des plaques d'agar nutritif stériles et tamponnés avec un bouillon de culture de l'organisme pendant une nuit
- ◆ Introduire environ 0,1 ml des extraits de gel d'*Aloe vera* dans chacun des puits et incubés à $37^{\circ}\text{C} \pm 0,2^{\circ}\text{C}$.
- ◆ L'activité antibactérienne en termes de zones d'inhibition (mm) est enregistrée après 24 h. d'incubation.
- ◆ L'action antagoniste d'extraits de gel d'*A. Vera* est testée contre des organismes d'essai en triple.

3.4. Fractionnement des extraits

3.4.1. Matériel

3.4.1.1. Matériel végétal

- Les EMeOH et EEthOH

3.4.1.2. Produits et réactifs utilisés :

- H₂SO₄
- Gel de silice
- MeOH

3.4.1.2. Appareillages et outils utilisé

- Plaque de gel de silice + cuve de chromatographie
- Colonne de chromatographie
- Etuve
- Crayon + règle
- Micropipettes
- Séchoir
- Pulvérisateur

3.4.2. Méthode

3.4.2.1 Chromatographie sur couche mince et chromatographie sur colonne (CCM)

a. Principe

C'est une méthode biochimique de séparation basée sur les différentes affinités d'un ou plusieurs composés à l'égard de deux phases (stationnaire et mobile). L'échantillon est entraîné par la phase mobile au travers de la phase stationnaire qui a tendance à retenir plus ou moins les composés de l'échantillon à l'aide de différentes interactions. L'échantillon est adsorbé puis désorbé sur la phase stationnaire (le plus utilisé est le gel de silice), ou est plus ou moins soluble dans la phase mobile (Broadasky *et al.*, 1976).

b. Méthode

Cette manipulation se fait comme suit :

- Introduire le système solvant choisi dans la cuve à chromatographie.
- Fermer la cuve (la cuve doit être saturée de vapeur de solvant).

- Tracer la ligne de dépôt à environ 2,5 cm du bord de la plaque.
- A l'aide d'une micropipette, déposer environ 0,5µl de chaque échantillon, le diamètre de la tâche environ 2mm. Effectuer plusieurs dépôts au même point, en séchant rapidement après chaque dépôt.
- Placer la plaque dans la cuve à chromatographie contenant le système solvant.
- Recouvrir la cuve et suivre le développement du chromatogramme.
- Arrêter la chromatographie, lorsque le front du solvant se trouve à environ de 1 cm de l'extrémité supérieur.
- Sécher le chromatogramme à l'air libre ;(Rihane et Benlahreche, 2013).

3.4.2.2. Mode opératoire

Les extraits ayant une activité antibactérienne maximale ont été fractionnés en utilisant la CCM sur gel de silice avec différentes concentrations de MeOH: EtOAc (tableau4). Les composés isolés sur les plaques de CCM ont été visualisés en utilisant H₂SO₄ / MeOH(1:9 v/v) suivie d'un chauffage à 80°C pendant 5 min. Après avoir décidé de la combinaison de solvants, les composés ont été isolés par élution à travers une colonne de gel de silice (60-120 mesh).

3.5. Évaluation de l'activité antibactérienne de différents composés

3.5.1. Matériel

3.5.1.1. Matériel végétal

- Les différentes fractions obtenues à partir de la Chromatographie sur colonne

3.5.1.2. Produits et réactifs utilisés

- Diméthylsulfoxyde (DMSO)
- Bouillon de culture

3.5.2. Méthodes

3.5.2.1 Technique de puits

a. Principe

Cette technique est un test chimique, une technique simple et efficace où les dosages analytiques sont exécutés dans une seule ou quelques gouttes d'une solution chimique, de préférence dans un grand morceau de papier filtre, sans utiliser toute instrumentation sophistiquée (Thomas *et al.*, 2015).

3.5.2.2 Mode opératoire

Les différentes fractions obtenues à partir de la Chromatographie sur colonne ont été laissées à température ambiante jusqu'à ce que le solvant s'évapore. Les fractions séchées ont été dissoutes dans du di-méthylsulfoxyde (DMSO) et utilisées pour tester l'activité antibactérienne contre les bactéries pathogènes sélectionnées à l'aide de la technique des puits telle que décrite par Jack *et al.* (1995). Pour cela, la culture des bactéries pathogènes sélectionnées de bouillon d'une nuit a été inoculée par écouvillonnage sur des boîtes et les fractions dissoutes dans du DMSO ont été mis dans des puits réalisés au sein des boîtes. Les boîtes ont été incubées à $37^{\circ}\text{C} \pm 0,2^{\circ}\text{C}$ pendant 24h. La présence de zones d'inhibition (montrant l'action antibactérienne des composés) a été enregistrée après 24 h. d'incubation.

3.6. Identification des composés antibactériens

3.6.1. Matériel

3.6.1.1. Matériel végétal

- Les fractions qui ont montré une activité antibactérienne contre la majorité des agents pathogènes sélectionnés

3.6.1.2. Appareillages

- Spectrométrie de masse couplée à la chromatographie en phase gazeuse(GCMS)

3.6.2. Méthode

3.6.2.1. Analyse par technique spectrométrie de masse couplée à la chromatographie en phase gazeuse (GCMS) (Shimadzu QP-2000)

a. Principe

C'est une technique d'analyse qui combine les performances de la chromatographie en phase gazeuse, pour la séparation des composés d'un échantillon, et de la spectrométrie de masse, pour la détection et l'identification des composés en fonction de leur rapport de masse sur charge. Cette technique permet d'identifier et/ou de quantifier précisément de nombreuses substances présentes en très petites quantités, voire en traces (Hwanhlem *et al.*, 2011).

3.6.2.2. Mode opération

Une colonne ULBON HR-1 équivalente à OV-1 fusionnée avec un capillaire de silice 0,25 mm X 30 M avec une épaisseur de film de 0,25 micron a été utilisée à cet effet. La température initiale maintenue était de 100 ° C pendant 6 minutes, puis chauffé à une vitesse de 10 ° C par minute jusqu'à 250 ° C à une énergie de bombardement de 70 eV. Gaz vecteur L'hélium a été utilisé à raison de 2 ml par minute.

3.7. Analyses statistiques

Les données enregistrées ont été analysées statistiquement en appliquant une analyse de variance (ANOVA), une classification bidirectionnelle et un test F à un niveau de signification de 5% pour calculer la différence significative entre les différents échantillons.

Chapitre 4

Résultats et discussion

4. Résultats et discussion

4.1. Activité antibactérienne de l'extrait du gel d'*Aloe vera*

La propriété antibactérienne des différents extraits du gel d'*Aloe vera* a montré des degrés variables de réponse contre les agents pathogènes sélectionnés (Tableau 3). En utilisant EEthOH, les zones d'inhibition variaient de 12,66 à 23,33 mm, étant maximales pour *B. cereus* et minimales pour *E. coli*. EMeOH a présenté une activité antibactérienne maximale contre *B. cereus* (22,33 mm) suivie de *S. pyogenes* (15 mm) et pour *S. typhi* (9,66 mm); les différences étant statistiquement significatives ($p < 0,05$). EAcon a donné des valeurs plus faibles de zones d'inhibition allant de 6,00 mm pour *E. coli* à 7,33 mm pour *S. pyogenes*, alors qu'aucune réponse n'a été observée pour *P. aeruginosa* et *S. typhi*.

Tableau 3: Activité antibactérienne des extraits de gel d'*Aloe vera* contre certaines bactéries pathogènes

Organisms	Zones d' Inhibition (en mm)			Résultats
	Extrait d'éthanol	Extrait de méthanol d' Acétone	Extrait	
Gram positive				
<i>B. cereus</i>	23.33	6.66	22.33	S, $p < 0.05$
<i>B. subtilis</i>	15.00	11.33	6.33	S, $p < 0.05$
<i>S. aureus</i>	15.66	14.00	6.66	S, $p < 0.05$
<i>S. pyogenes</i>	16.00	15.00	7.33	S, $p < 0.05$
Gram negative				
<i>E. coli</i>	12.66	14.00	6.00	S, $p < 0.05$
<i>P. aeruginosa</i>	23.00	10.66	0.00	S, $p < 0.05$
<i>K. pneumoniae</i>	22.66	14.00	6.33	S, $p < 0.05$
<i>S. typhi</i>	14.66	9.66	0.00	S, $p < 0.05$
Resultats	S, $p < 0.05$	S, $p < 0.05$	S, $p < 0.05$	

En général, les extraits ont montré une plus grande activité antibactérienne contre les bactéries Gram positives par rapport aux bactéries Gram négatives. EEthOH a montré une

plus grande inhibition que EMeOH tandis qu'une inhibition significativement plus faible a été observée avec EAcon($p < 0,05$).

Une étude a également été menée par Agarry et Osho (2005) dans laquelle ils ont utilisé des extraits de l'acétate d'éthyle (EEtOAc), de l'éther de pétrole, de l'hexane et EthOH du gel d'*A. vera*, pour déterminer l'activité antimicrobienne sur des bactéries Gram positives (*S. aureus*, *B. subtilis*) et des bactéries Gram négatives (*P. aeruginosa*, *E. coli*, *K. pneumoniae*). EEtOAc et EthOH ont montré les activités les plus importantes qui sont respectivement de (19mm) et (7-12 mm).

Les mêmes caractéristiques antibactériennes ont été rapportées dans d'autres études concernant l'effet des EthOH du gel d'*Aloe vera* vis-à-vis les mêmes agents pathogènes étudiés (Hurley, 1992 ; Pawar *et al.*, 2005). Selon Reynolds et Dweck, (1999), l'activité antimicrobienne a été non significative avec un extrait aqueux de feuilles d'*A. vera*.

Les plantes médicinales ont généralement des composants organiques aromatiques ou saturés et qui sont très efficace contre les bactéries. Ces composants sont généralement obtenus par extraction au méthanol ou à l'éthanol (Waller *et al.*, 1978), ce qui explique dans notre étude la haute activité antimicrobienne des EthOH et de EMeOH contre les agents pathogènes. Et elles pourraient être dues à la composition membranaire des bactéries Gram négatifs. En effet, ces dernières possèdent une membrane qui présente une perméabilité sélective ; la surface des lipopolysaccharides contient des charges négatives, qui empêchent la diffusion des molécules hydrophobes, et des porines qui bloquent le passage des molécules à haut poids moléculaire (Ben moussa *et al.*, 2019). Une couche supplémentaire de lipopolysaccharides peut influencer l'activité antimicrobienne, ce dernier est plus faible contre les bactéries Gram négatives par rapport aux organismes Gram positifs.

4.2. Composés majeurs et mineurs identifiés dans le gel extrait de l'*Aloe vera*

Parmi les diverses combinaisons de solvants utilisées (méthanol, éthanol, acétone, acétate d'éthyle, chloroforme, hexane et éther de pétrole) pour l'identification des composés majeurs et mineurs dans les extraits du gel d'*A. vera*, l'éthanol et l'acétate d'éthyle, le méthanol et l'acétate d'éthyle ont été plus efficace dans la séparation de différents composés.

Quatre composés majeurs et neuf composés mineurs ont été identifiés sur la base des taches et des valeurs du facteur de rétention (FR) à différentes combinaisons de méthanol : acétate d'éthyle pour EMeOH. De même, quatre composés majeurs et quatre composés

mineurs ont été identifiés avec différentes combinaisons d'éthanol : acétate d'éthyle pour EthOH (Tableau 4).

Tableau 4: Les composants majeurs et mineurs extrait de gel d'Aloe vera

Extrait	Composé majeurs	Phase mobile	Valeur Rf	Composé mineurs	Phase mobile	valeur Rf
Méthanol	1	MeOH:EtOAc (1:9)	0.30	1	MeOH:EtOAc (3.5:6.5)	0.68
	2	MeOH:EtOAc (1.5:8.5)	0.46	2	MeOH:EtOAc (4.5:5.5)	0.77
	3	MeOH:EtOAc (2.5:7.5)	0.72	3	MeOH: EtOAc (5:5)	0.78
				4	MeOH:EtOAc (5.5:4.5)	0.80
				5	MeOH:EtOAc (6:4)	0.82
	4	MeOH:EtOAc (8.5:1.5)	0.88	6	MeOH:EtOAc (6.5:3.5)	0.84
				7	MeOH:EtOAc (7:3)	0.85
				8	MeOH:EtOAc (7.5:2.5)	0.86
				9	MeOH:EtOAc (8:2)	0.87
Ethanol	1	EtOH:EtOAc (1:9)	0.25	1	EtOH:EtOAc (3.5:6.5)	0.72
	2	EtOH:EtOAc (1.5:8.5)	0.36	2	EtOH:EtOAc (3.5:6.5)	0.74
	3	EtOH:EtOAc (2:8)	0.42	3	EtOH:EtOAc (6:4)	0.78
	4	EtOH:EtOAc (2.5:7.5)	0.64	4	EtOH:EtOAc (8:2)	0.83

Les résultats obtenus dans cette étude corroborent les études de Venkatappa *et al.* (2005), où deux taches majeures (Alcaloïde et Phénole) avec deux valeurs de FR différentes (0.66 et 0.42) respectivement ont été obtenues par la CCM de l'extrait aqueux au méthanol de l'*Aloe sp.* La valeur FR se change probablement à cause de beaucoup de facteurs tel que la quantité d'échantillon appliquée, l'état de saturation de la chambre, l'humidité relative, la température et à la distance de déplacement du front de solvant.

4.3. Isolement de différents composés dans les extraits du gel d'*Aloe vera*

Les différents composés dans les EMeOH et EEthOH du gel d'*A. vera* ont été isolés sur des plaques CCM en les éluant dans des systèmes de solvants à gradient progressif déterminé dans le tableau 5.

Tableau 5: Activité antibactérienne de fractions obtenues de l'extrait de méthanol et éthanol de gel d'*Aloe vera*

Extrait	No. de fraction	Activité antibactérienne
Ethanol	C, D	+++
	E, F, G, H, I, J	++
	A, B, K, L, M, N, O, P	-
	73, 74	+++
Methanol	16, 40, 46, 48, 113, 114, 123, 125, 126, 128	++
	80, 83, 94, 95, 100, 103, 104, 105, 117, 127	-

* +++ = activité antibactérienne maximal, ++ = activité modéré, - = pas d'activité

Dans EMeOH, les systèmes de solvants MeOH:EtOAc avec une polarité croissante (10-85 % MeOH dans EtOAc, v/v), un total de 22 fractions ont été obtenu. De même, 16 fractions EEthOH ont été obtenues dans les systèmes EtOH:EtOAc (10-80%, v/v).

Dans une étude similaire menée par Lanjhiyana *et al.* (2011) un système de solvant méthanol et éthanol a été utilisé pour éluer les différentes fractions d'extrait aqueux d'*Aloe vera*. Les auteurs avaient rapporté avoir élué 34 fractions dans leur étude. De même, Beatriz *et al.* (1996), ont eu 22 fractions en étudiant l'effet anti-inflammatoire du gel de l'*A. vera*. De plus, le fractionnement de l'extrait au méthanol rapporté par Ojha et Kumar (2012) ont donné sept fractions en utilisant la technique de CCM à haute performance (HPCCM), ce qui est comparativement inférieur à celui de la présente étude. Les variations du nombre de fractions avec la présente étude pourraient être dues au type d'extrait, au système de solvant et à la technique adoptée.

4.4. Activité antibactérienne des différentes fractions obtenus par chromatographie sur colonne

Un degré variable d'activité antibactérienne de différents extraits du gel d'*Aloe vera* contre les bactéries pathogènes a été observé dans la présente étude. Deux fractions à savoir C et D obtenus à partir de EthOH du gel d'*A. vera* ont montré une activité antibactérienne

maximale contre les organismes d'essai (tableau 6). Une activité antibactérienne modérée de six fractions (E-J) a été observée dans l'extrait à l'éthanol et aucune activité n'a été observée avec les huit fractions restantes (A, B, K-P).

Tableau 6: Antibacterial activity of selected fractions obtained from column chromatography

Organismes	Zone d'inhibition(diamètre en mm)				Résultats
	C	D	73	74	
<i>Bacillus cereus</i>	10.8± 0.08	10.8+ 0.08	0	11.1+ 0.08	S, p< 0.05
<i>Bacillus subtilis</i>	10.8± 0.08	0	0	10.1+ 0.08	S, p< 0.05
<i>Staphylococcus aureus</i>	0	9.2+ 1. 5	0	10.25+ 0.25	S, p< 0.05
<i>Streptococcus pyogenes</i>	8.1± 0.08	8.1+ 0.08	0	0	S, p< 0.05
<i>Echirichia coli</i>	0	0	8+ 0.25	10.1+ 0.08	S, p< 0.05
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	7.5+± 0.25	0	7.8+ 0.08	9.1+ 0.08	S, p< 0.05
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	0	0	7.1+ 0.08	8.8 + 0.08	S, p< 0.05
<i>Salmonella typhi</i>	7.8± 0.58	7.5+ 0.25	9.1+ 0.08	10.1+ 0.08	S, p< 0.05
Résultats	S, p< 0.05	S, p< 0.05	S, p< 0.05	S, p< 0.05	S, p< 0.05

De même, deux fractions (73 et 74) de EMeOH ont montré une activité antibactérienne maximale suivie de dix fractions (16, 40, 46, 48, 113, 114, 123, 125, 126 et 128) avec une activité modérée et les dix fractions restantes (80, 83, 94, 95, 100, 103, 104, 105, 117 et 127) sans activité.

En outre, les fractions ayant une activité antibactérienne maximale, à savoir C, D, 73 et 74 ont montré des variations significatives des zones d'inhibition contre les bactéries Gram-positives et Gram-négatives testées (P<0,05). Les fractions C et D se sont avérées posséder une activité antibactérienne maximale contre les bactéries Gram-positives par rapport aux

bactéries Gram-négatives (tableau 4). L'effet de la fraction C s'est avéré maximal contre *Bacillus cereus* et *Bacillus subtilis* suivis de *Streptococcus pyogenes*. Parmi les Gram négatifs, on a observé que *Salmonella typhi* était inhibée par rapport à *Pseudomonas aeruginosa* et la fraction était inefficace contre les autres Gram négatifs testés.

La fraction D s'est avérée efficace contre tous les Gram positifs à l'exception de *B. subtilis*. Inversement, il s'est avéré efficace uniquement contre *S.typhi* parmi les Gram négatifs. La fraction 73 de l'extrait au méthanol s'est avérée posséder un effet inhibiteur uniquement contre les bactéries Gram-négatives testées avec une activité maximale contre *S.typhi* (9,1 mm) et minimale contre *K. pneumoniae* (7,1 mm). Cependant, la fraction 74 a montré une activité antibactérienne contre tous les agents pathogènes bactériens étudiés à l'exception de *S. pyogenes* (tableau 6).

Des quatre fractions EMeOH et d'EthOH, la fraction N° 74 s'est avérée posséder une activité antibactérienne à large spectre. Des études similaires ont été menées par Cooposamy et Magwa (2006) sur l'activité antibactérienne de différentes fractions d'extraits de gel d'*A. vera*. Cependant, les données n'ont pas pu être comparées car la méthode d'évaluation de l'activité antibactérienne était différente de celle de la présente étude.

4.5. Les composants antibactériens dans le gel extrait de l'*Aloe vera*

Les fractions (73, 74, C et D), présentant une activité antibactérienne maximale, ont été identifiées par chromatographie en phase gazeuse, comme étant le pyrocatechol (fig. 5), l'acide cinnamique (fig.6), l'acide p-coumarique (fig. 7) et l'acide ascorbique (fig. 8).

Dans les feuilles de l'*Aloe vera*, la présence du pyrocatechol (fig. 9) est déjà confirmée par plusieurs auteurs. Selon Miyague *et al.* (2015), cette plante contient du pyrocatechol, (phénolhydroxylé), connu pour avoir un effet toxique sur les micro-organismes. De plus, l'action antimicrobienne du pyrocatechol, connu aussi sous le nom de catéchol, a été démontrée par Liu *et al.* (2006). Pour cela, les molécules de pyrocatechol semblent très adaptées, du fait de leur multifonctionnalité. De plus, les catéchols peuvent agir comme antioxydants et agents chélateurs (Faure *et al.*, 2013). Plusieurs types de recherche ont proposé différentes formes d'interaction de pyrocatechol. Les mécanismes les plus fréquemment rapportés sont les liaisons chélatantes bidentées, protection contre la corrosion et l'activité antibactérien (Wu *et al.*, 2016).

La présence d'acide cinnamique (fig. 10) dans le gel d'*A. vera* est comparable aux bases de données phytochimiques de Duke (1992). De plus, nos résultats corroborent ceux

découverts par Miyague *et al.* (2015). Pendant le repos des bactéries, l'inhibition de l'absorption de glucose et la production d'ATP ont été dues à la présence de l'acide cinnamique (Selon Kouassi et Shelef, 1998).

L'activité antibactérienne d'acide *p*-coumarique (fig. 11) observée dans la présente étude est en accord avec les résultats obtenus par Miyague *et al.* (2015). Selon Lee *et al.* (2000), ce composé a un effet inhibiteur contre l'activité enzymatique des micro-organismes et augmente la phase de latence de ces organismes.

De même, la présence d'acide ascorbique (fig. 12) dans le gel d'*A. vera* est confirmée par les bases de données phytochimiques de Duke (1992). Selon Fite *et al.* (2003), cet acide améliore la synthèse du collagène dans les de l'*A. vera*. Nos résultats concernant l'activité antibactérienne de l'acide ascorbique sont en accord avec les études de ces derniers auteurs.

Les résultats non appariés de quelques fractions pourraient être dues aux effets des solvants utilisés lors de l'analyse de l'échantillon. Des variations non significatives dans les pics sont observées et se situent dans les limites acceptables. De plus, l'intervalle le plus élevée de non-concordance dans la fraction No. D pourrait être dû à la présence d'impuretés dans l'échantillon pendant la manipulation et le traitement.

La présence de saponine, tanins, alcaloïdes, lactine et anthraquinones dans l'extrait d'*Aloe vera* peut jouer un rôle important dans l'activité antimicrobienne, puisque l'action antibactérienne et antifongique de ces composés phytochimiques a été bien documentée (Deeni et Hussain, 1991 ; Shale *et al.*, 1999).

Alors que la résistance mondiale aux antibiotiques des bactéries devient un problème de santé publique intéressant et que la course à la découverte du nouvel agent antibactérien est lancée, le gel d'*Aloe vera* ainsi que ses composés identifiés avec une activité antibactérienne prometteuse pourraient être utilisés comme remède alternatif à base de plantes.

En outre, il a également été rapporté par plusieurs auteurs (Nagamune *et al.*, 2000 ; Deutsche *et al.*, 2006) que ces composés présentaient un certain nombre d'autres avantages sur la santé humaine ainsi que peu d'effets secondaires dans les surdoses. Par conséquent, on peut conclure que les composés isolés des extraits de gel d'*Aloe vera* pourraient être recommandés pour des essais humains (à dosage approprié) contre différents agents pathogènes bactériens.

De plus, en raison de la confirmation d'une utilisation populaire, le résultat obtenu de cette étude montre que l'extrait de cette plante pourrait représenter un bon, non toxique, moins cher que les médicaments allopathiques et une nouvelle source d'activité antibactérienne et

antifongique. Pour étudier et isoler ces composés et étudier leurs principes et leur mécanisme d'action, d'autres études sont toujours en cours.

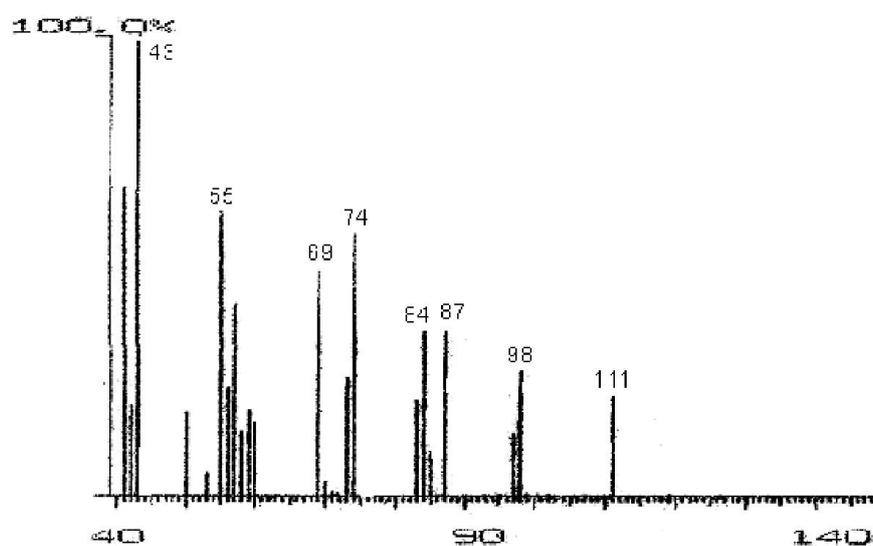


Figure 5. Mass Spectrum of Fraction NO. 73

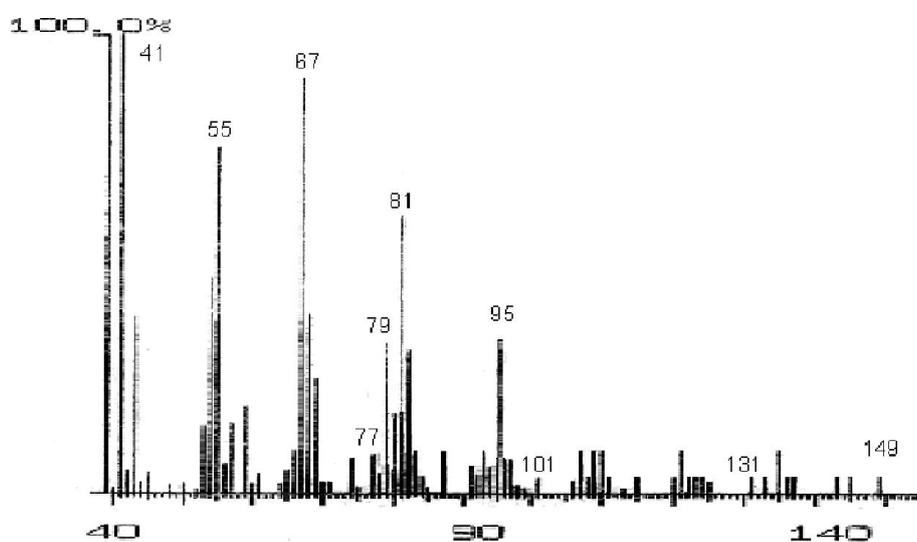


Figure 6. Mass Spectrum of Fraction No. 74

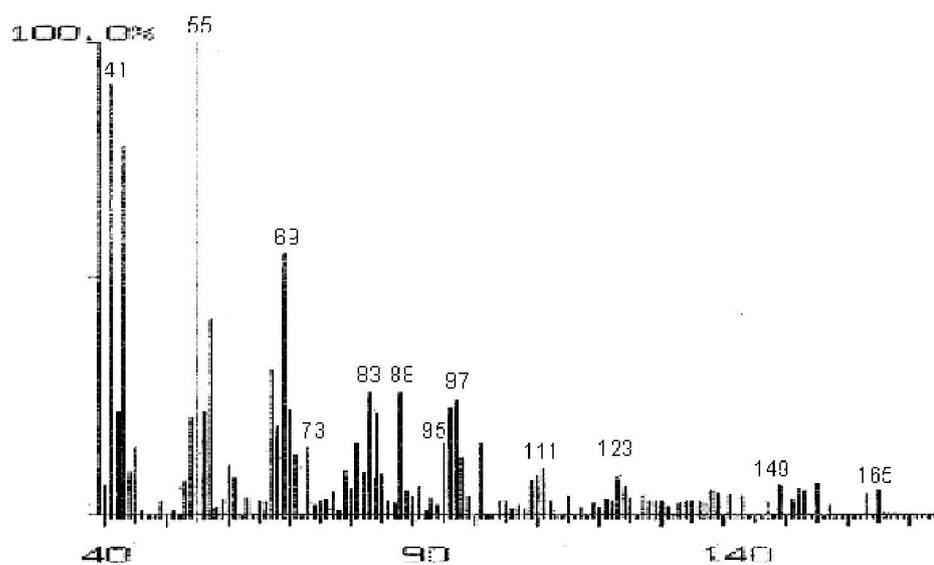


Figure 7. Mass Spectrum of Fraction No. C

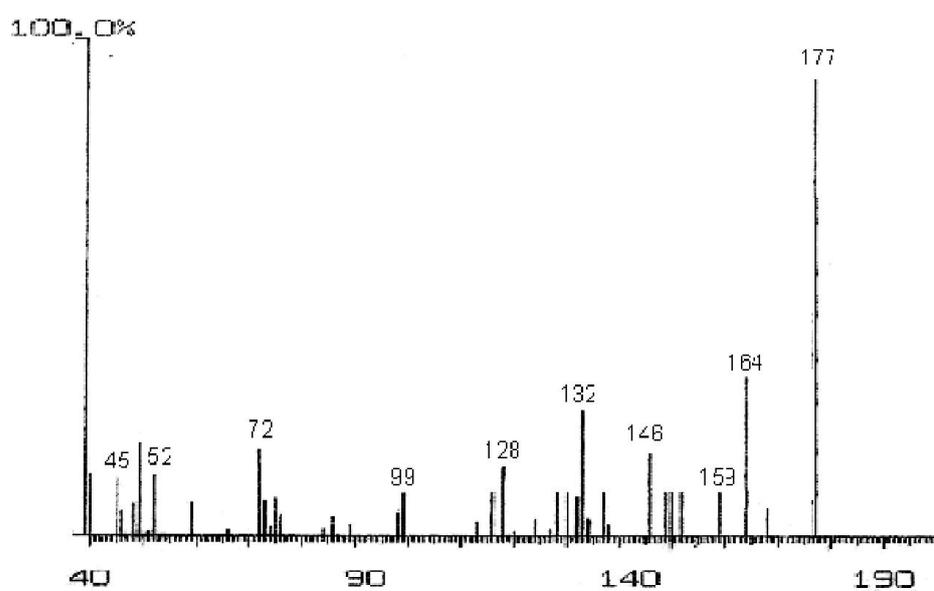


Figure 8. Mass Spectrum of Fraction No. D

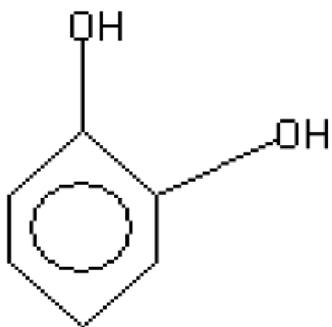


Figure 9. Structure of Pyrocatechol

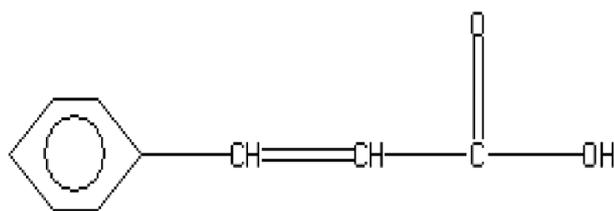


Figure 10. Structure of Cinnamic acid

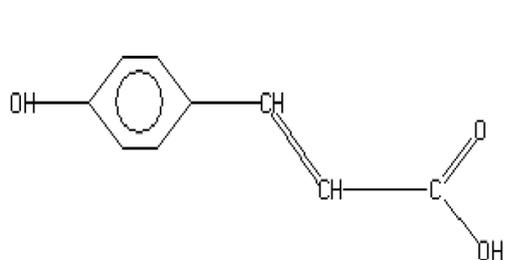


Figure 11. Structure of p-coumaric acid

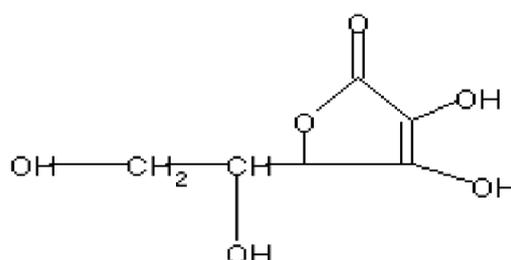


Figure 12. Structure of Ascorbic acid

Conclusion

Conclusion

Dans ce présent travail, on a englobé les résultats de recherches scientifiques publiées, pour un objectif d'analyser et discuter une publication scientifique sur l'activité antibactérienne de l'*Aloe vera*.

L'activité antibactérienne des extraits d'éthanol, méthanol et d'acétone d'*Aloe vera* contre les quatre bactéries à Gram positives (*B. cereus*, *B. subtilis*, *S. aureus*, *S. pyogenes*) et quatre bactéries Gram Négatives (*E. coli*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *S. typhi*) montre une activité plus élevée pour l'extrait d'éthanol et de méthanol et une activité plus faible pour l'extrait d'acétone.

Les fractionnements des extraits méthanolique et éthanolique se font par CCM étudiées pour leurs propriétés antagonistes en utilisant la technique des puits.

Les profils des différents chromatogrammes (chromatographie en phase gazeuse) ont révélé la présence de nombreux métabolites avec des temps de rétention très variables pour l'extrait méthanolique et éthanolique de la plante d'*Aloe vera*. Les métabolites majeurs (*p* – acide coumarique, acide ascorbique, pyrocatechol et acide cinnamique) possèdent une activité antibactérienne remarquable.

L'inhibition de la croissance varie en fonction de la fraction testée et l'espèce bactérienne ciblée. Le *p* – acide coumarique semble plus efficace que les autres composants vis à vis les bactéries. De toutes les souches bactériennes testées, trois d'entre elles (*Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis* et *Streptococcus pyogenes*) sont très sensibles.

D'autre part, les résultats obtenus de l'étude de l'activité antimicrobienne confirment que les extraits trouvés dans l'*Aloe vera* pourraient bien avoir un effet comparable ou mieux que les produits chimiques synthétiques. Néanmoins, la purification et l'identification des composants phénoliques ayant une activité antibactérienne restent fortement recommandées pour approfondir non seulement les connaissances sur les différentes molécules pourvues de cette activité mais aussi pour cerner d'une manière plus fine les différentes actions possibles de ces composés et leur synergie. Ceci permettra dans les années à venir la synthèse de molécules potentiellement actives et des applications *in vivo* dans le traitement des certaines pathologies pourraient être envisagées pour valider ces premiers résultats et même pour mieux comprendre le mécanisme d'action des molécules bioactives de cette plante, leur dose thérapeutique ainsi que leur site d'action au niveau de la cellule.

En perspectives, l'effet antibactérien observé pourrait être amélioré par l'utilisation d'une gamme de concentrations plus faibles et plus fortes que celles testées mais aussi l'investigation de mélanges de molécules.

Références bibliographiques

Références Bibliographiques

1. Agarry O. O., Osho B. I. 2005. *In-vitro* and *In-vivo* inhibition of *Aspergillus fumigatus* by *Pseudomonas fluorescens* used as a microbial antagonist. Pakistan Journal of Nutrition 4(6): 371-375.
2. Agarry O.O., Olaleye M.T., Bello Michael .O. 2005. Comparative antimicrobial activities of *Aloe vera* gel and Leaf. African Journal of Biotechnology.4(12):1413–1414.
3. Ahmed M., Hussain F .2013. Chemical composition activity of *Aloe vera* (*Aloe barbadensis* Miller) leaves. International Journal of Chemical and Biochemical Sciences 3: 29–33.
4. Baruah A., Bordoloi M., Prasanna H., Baruah D. 2016. *Aloe vera*: a multipurpose industrial crop. Industrial Crops and Products 94: 951-963.
5. Bayati Zadeh J., Moradikor N. 2014. Component and application *Aleo Vera* plant in medicine. International Journal of Advanced Biological and Biomedical Research 2(5): 1876-1882.
6. Ben moussa O., Mahouachi I., Dammak I., boulares M., Mahmoudi I., Hassouna M. .2019. Activités antimicrobiennes des feuilles de l'*Aloe barbadensis* Miller et leurs effets sur le comportement des bactéries lactiques. Journal of New Sciences, Agriculture and Biotechnology 64(2) : 4008-4016.
7. Bhattacharya M., Malik S., Singh A. 2011. *Aloe Vera Barbedensis*: A review on its Ethano pharmacological value. Journal of Pharmacy Research 4(12): 4507-4510.
8. Broadasky T.F, Lewis C ,Ble T.E - Doumandji A, Hellal A ,Saidi N - Hwanhlem N, Buradaleng S, Wattanahant S, benjakul S, Tani A ,Maneerat S .1976. Bioautographic thin layer chromatophic analysis of antibiotics and their metabolites in the whole animal. I Clindamycin in the Rat, J Chromatogr (123): 33-44.
9. Carip C. 2008. Microbiologie - Hygiène : bases microbiologiques de la diététique. France. pp. 248-255.
10. Carip C., Mrie-Hélène S., Armand T. 2015. Microbiologie, hygiène et droit alimentaire : le manuel. 2^{ème} édition. Italie. p.246.
11. Choi, S., Chung M.H. 2003. A review on the relationship between *Aloe Vera* components and their biologic effects. Seminars in integrative medicine, Elsevier1(1):53-62

12. Christaki F-P.E.V., Panagiota .C 2010. *Aloe Vera*: A plant for many uses journal of Food, Agriculture & Environment8 (2): 245-249.
13. Cloete TE. 2003. Resistance mechanisms of bacteria to antimicrobial compounds. Int Biod et Biodegrad 51:277-82.
14. Cole E.C., Addison R.M., Rubino J.R., Leese K.E, Dulaney P.D, Newell M.S, Wilkins J, Gaber D.J, Wnger T, Criger T.A. 2003. Investigation of antibiotic and antibacterial agent cross-resistance in target bacteria from homes of antibacterial product users and non users. Journal Applicationo Microbiology 95:664-76
15. Coopoosamy . M.; Magw M.L. 2006. Antibacterial Activity of *Aloe* emodin and *aloina* isolated from *Aloe* excelsa. African Journal Biotechnol5(11) :1092-1094.
16. Dagne E., Bisrat D., Viljoen A., Van B.E. 2000. "Chemistry of *Aloe* species." Current Organic Chemistry 4(10): 1055-107 .
17. Das J.R., Bhakoo M., Jones M.V., Gilbert P. 1998.Changes in the biocide susceptibility of *Staphylococcus* epidermidis and *Escherichia coli* cells associated with rapid attachment to plastic surfaces. Journal Application Microbiology 84:852-8.
18. Davin-Regli A., Bolla J.M., James C.J., Lavigne J.P., Chevalier J., Garnotel E., Molitor A., Pagès J.M. .2008. Membrane permeability and regulation of drug influx and efflux in *entero bacterial* pathogens. Current Drug Targets 9: 750-9.
19. Deeni Y. Y., Hussain H. S. N. 1991. Screening for antimicrobial activity and for *alkaloids* of *Nauclea latifolia*. Journal of othnopharmacologie35(1) : 91-96.
20. Denyer S.P., Maillard J.Y. 2002 .Cellular impermeability and uptake of biocides and antibiotics in *Gram negative* bacteria. Journal Application Microbiology92:35S-45S.
21. Deutsche T., Porkert U., Reiter R., Keck T., Riechelmann H. 2006. *In vitro* genotoxicity and cytotoxicity of benzalkonium chloride. Toxicol *In Vitro* 20:1472-1477.
22. Donlan R.M., Costerton J.W. 2002.Biofilms: Survive almechanisms of clinically relevant microorganisms. Clinical Microbiology Reviews 15(2):167-93.
23. Duke J.A. 1992. Handbook of phytochemical constituents of grass,herbs and other economic plants. Boca Raton, FL. CRC Press,p. 320-340.
24. Dulger B., Gonuz A. .2004. Antimicrobial activity of certain plants used in Turkish traditional medicine. Journal of Plantes Sciences D'Asie3(1): 104-107.
25. Fatima B., Rachida H. 2011. activité antifongique *in-vitro* de la pulpe foliaire d'*Aloe Vera*. Bull. Soc. Pharm. Bordeaux 150(1-4) : 95-106.

26. Faure E., Falentin-Daudré C., Jérôme C., Lyskawa J., Fournier D., Woisel P. 2013 . *Catechols* as versatile platforms in polymer chemistry. *Progress in Polymer Science*.38 : 236–270.
27. Femenia A., Sánchez E.S., Simal S., Rossello C. 1998. Developmental and ripening-related effects on the cell wall of apricot (*Prunus armeniaca*) fruit. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 77(4): 487-493.
28. Fite A., Dykhuizen R., Litterick A., Golden M., Leifert C. 2003. Effects of ascorbic acid, glutathione, thiocyanate and iodide on antimicrobial activity of acidified nitrite. *Antimicrob. Agents Chemother* 48(2), 655-658.
29. Grindlay D., Reynolds T .1986. The *Aloe Vera* phenomenon: a review of the properties and modern uses of the Leaf *Parenchyma* gel. *Journal of ethno pharmacology* 16(2-3): 117-151.
30. Haller J.R., J. S. 1990. A drug for all seasons. Medical and pharmacological history of *Aloe*. *Bulletin of the New York Academy of Medicine* 66(6): 647
31. Hamman J. H. 2008. Composition and applications of *Aloe Vera* leaf gel. *Molecules* 13(8): 1599-1616
32. Hurley J.C. 1992. Antibiotic Induced Release of Endotoxin: a reappraisal. *Clin.Infect. Dis*15 :840-854.
33. Hwanhlem N., Buradaleng S., Wattanahant S., benjakul S., Tani A ,Maneerat S .2011. Isolation and screening of lactic acid bacteria from thai traditional fermented fish (plasom) and production of plasm from selected strains. *Food Control* (22) : 401-407.
34. Jack R.W., Tagg J., Ray B. 1995. Bacteriocins of Gram-positive bacteria. *Microbiol. Reveue*59:171–200.
35. Jean F., Guy L., Michèle T. 2007. *Microbiologie générales et appliquée*. Collection Sciences et Techniques Biologiques, Paris, pp. 104-105.
36. Kouadio B., Djeneb C., Bra Yvette F.G., Yao K., Basile Y.A., Cynthia Y.Y., Alain A. S., Noël Z.G. 2016. Étude ethnobotanique des plantes médicinales utilisées dans le Département de Transua, District du Zanzan (Côte d’Ivoire). *Journal of Animal & Plant Sciences* 27(2):4230-4250,ISSN2071-7024.
37. Kouassi Y., Shelef L.A. 1998. Inhibition of lysteria monocytogenes by cinnamic acid: possible interaction of the acid with cysteinylresidues. *Journal Food Safet* 18(3): 231-242.

38. Kumar Ojha N., Kumar A. 2012. HPTLC profile of aqueous extract of different chromatographic fractions of *Aloe barbadensis* Miller, Asian Pacific Journal of Tropical Disease 2(1):104-108
39. Kumar S., Yadav J.P. 2014. Ethnobotanical and pharmacological properties of *Aloe vera*: A review. Journal of Medicinal Plant Research 8(48): 1387-1398.
40. Lanjhiyana S., Garabadu D., Ahirwar D., Bigoniya P., Rana A.C., Patra K.C, Lanjhiyana S.K., Karupuraih M .2011. Antihyperglycemic potential of *Aloe vera* gel in experimental animal model. Ann Bio Res ; 2(1): 17- 31.
41. Larousse. 2001. Encyclopédie des plantes médicinales, p 60.
42. Lee KY, Weintraub ST, Yu BP. 2000. Isolation and identification of a *phenolic antioxidant* from *Aloe barbadensis*. Free Radic Biol Med.; 28:261e265.
43. Lefsih K., Iboukhoulé L., Petit E., Benouatas H., Pierre G., Delattre C. 2018. Anti-inflammatory and antioxidant effect of a extracted from *Aloe Vera* leaves. Adv Application Chem Biochem (1): 18-26.
44. Liu C., Leung MY.K., Koon JC.M., Zhu L.F., Hui YZ., Yu B., Fung K.P. 2006. Macrophage activation by polysaccharide biological response modifier isolated from *Aloe vera* L. var. *chinensis* (Haw.) Berg. Internationlle Immunopharmacol 18:1634-1641.
45. Michayewicz N .2013. *Aloe Vera*, medicinal plant traditionally and widely used for thousands of years, to the many pro therapeutic properties. Miracle plant? Pharmacy faculty. University of Lorraine, 151 page .
46. Miyague A., Renata E.F., Macedo A., Giuseppe Meca B., Richard A., Holley C., Fernando B., Luciano A. 2015. Phenolic Compound Combinations on *Escherichia coli*. LWT-Food Science and Technology 64: 333-336.
47. Mohamed G., Lahcen Z., Allal D. 2013. Usage des plantes médicinales dans le traitement du Diabète Au Sahara marocain (Tan Tan). Journal of Animal & Plant Sciences 17(1): 2388-2411.
48. Nagamune H., Maeda T, Ohkura k., Yamamoto k., Nakajima M., Kourai H. 2000. Evaluation of the cytotoxic effects of bis-quaternary ammonium antimicrobial reagents on human cells. *Toxicol In Vitro* 14:139-147.
49. Pandey A., Singh S. 2016. *Aloe Vera*: A systematic review of its industrial and ethno-medicinal efficacy .International Journal of Pharmaceutical Research and Allied Sciences 5(1): 21-33. ISSN: 2277-3657.

50. Pawar V.C., Bagatharia S.B., Thaker V.S. 2005. Antibacterial activity of *Aloe vera* leaf gel extracts against *Staphylococcus aureus*. Indian Journal Microbiol 45(3):227–229.
51. Pibiri M. C. 2006. Assainissement microbiologique de l'air et des Systèmes de ventilation au Moyen d'huiles essentielles, Thèse pour l'obtention du grade de docteur ès sciences. Lausanne, Ecole Polytechnique Fédérale de Lausanne, 150 page
52. Reynolds T., Dweck A.C. 1999. *Aloe vera* leaf gel: a review update. J. Ethnopharmacol 68:3-37.
53. Sahu P.K., Giri D.D., Singh R., Pandey P., Gupta S., Shrivastava A.K, Kumar A., Pandey K.D. 2013. Therapeutic and medicinal uses of *Aloe vera*: A Review. Pharmacology et pharmacie 4(08):599-610
54. Schmelzer G.H., Gurib-Fakim A. 2008. Ressources végétales de l'Afrique tropicale. plantes médicinales 1. Fondation PROTA 11(1) : 94-95.
55. Shale T. L., Stirk W. A., van Stade J. 1999. Screening of medicinal plants used in Lesotho for anti-bacterial and anti-inflammatory activity. Journal of Ethnopharmacology 67(3) : 347-354.
56. Shelton, R. M. 1991. "*Aloe vera*." International Journal of Dermatology 30(10): 679-683.
57. Sulayman A., Sema A. 2009. Investigation of *In-vitro* antimicrobial activity of *Aloe vera* juice. Journal of animal and Veterinary Advances 8(1): 99-102. ISSN: 1680-5593.
58. Thomas P., Shekhar A.C., Aparna C., Upreti R., Mujawar M.M., Pasha S. S. 2015. Optimization of single plate – serial dilution spotting (SP –SDS) with sample anchoring as an assured method for bacterial and yeast cfu enumeration and single colony isolation from diverse samples. Biotechnolog 8:45- 55.
59. Tongnuanchan P., Benjakul S.J. 2014. Food Sci. 2014.79(7), R 1231.
60. Vázquez B., Avila G., Segura D., Escalante B. 1996. Anti inflammatory activity of extracts from *Aloe vera* gel. Journal Ethnopharmacol 55(1): 69-75.
61. Venkatappa B., Harinatha Reddy A., SRI Lakshmi B., Nageswari G., Shobha R. 2015. Phytochemical screening, TLC fingerprinting and antimicrobial activity of methanolic leaf extract of *Aloe vera* against clinical isolates of methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. Mintage journal of Pharmaceutical & Medical Sciences 1(5):16-18.
62. Waller G.R., Magiastico S., Ritchey C.R. 1978. A Chemical Investigation of *Aloe barbadensis* miller. Proc. Okla. Acad. Sci 58: 69-79.

63. Wu J., Cai C., Zhou Z., Qian H., Zha F., Guo, J., Feng ,B., Il, T., Zhao, N. 2016. Low-cost mussel inspire dpoly (catechol/polyamine) coating with superior anti-corrosion capability on copper. *Journal of Colloid and Interface Science* 463:214–221.

Annexes

Annexes

1. Agarry O.O., Olaleye M.T., Bello Michael .O. 2005. Comparative antimicrobial activities of *Aloe vera* gel and Leaf. African Journal of Biotechnology.4(12):1413–1414.
2. Ben moussa O., Mahouachi I., Dammak I., boulares M., Mahmoudi I., Hassouna M. .2019. Activités antimicrobiennes des feuilles de l'*Aloe barbadensis* Miller et leurs effets sur le comportement des bactéries lactiques. Journal of New Sciences, Agriculture and Biotechnology 64(2) : 4008-4016.
3. Deeni Y. Y., Hussain H. S. N. 1991. Screening for antimicrobial activity and for *alkaloids* of *Nauclealatifolia*. Journal of othnopharmacologie35(1) : 91-96.
4. Deutschle T., Porkert U., Reiter R., Keck T., Riechelmann H. 2006. *In vitro* genotoxicity and cytotoxicity of benzalkonium chloride. Toxicol *In Vitro* 20:1472-1477.
5. Faure E., Falentin-Daudré C., Jérôme C., Lyskawa J., Fournier D., Woisel P.2013 . *Catechols* as versatile platforms in polymer chemistry. Progress in Polymer Science.38 : 236–270.
6. Fite A., Dykhuizen R., Litterick A., Golden M., Leifert C. 2003.Effects of ascorbic acid, glutathione, thiocyanate and iodide on antimicrobial activity of acidified nitrite. Antimicrob. Agents Chemother 48(2), 655-658.
7. Hurley J.C. 1992. Antibiotic Induced Release of Endotoxin: a reappraisal. Clin.Infect. Dis15 :840-854.
8. Kouassi Y., Shelef L.A. 1998. Inhibition of lysteria monocytogenesby cinnamic acid: possible interaction of the acid with cysteinylresidues. Journal Food Safet 18(3): 231-242.
9. Kumar Ojha N., Kumar A. 2012. HPTLC profile of aqueous extract of different chromatographic fractions of *Aloe barbadensis* Miller, Asian Pacific Journal of Tropical Disease 2(1):104-108
10. Lanjhiyana S., Garabadu D., Ahirwar D., Bigoniya P., Rana A.C., Patra K.C, Lanjhiyana S.K., Karupuraih M .2011. Antihyperglycemic potential of *Aloe vera* gel in experimental animal model. Ann Bio Res ; 2(1): 17- 31.
11. Lee KY, Weintraub ST, Yu BP. 2000. Isolation and identification of a *phenolic antioxidant* from *Aloe barbadensis*. Free Radic Biol Med.; 28:261e265.
12. Liu C., Leung MY.K., Koon JC.M., Zhu L.F., Hui YZ., Yu B., Fung K.P. 2006. Macrophage activation by polysaccharide biological response modifier isolated from

-
- Aloe vera* L. var. *chinensis* (Haw.) Berg. *Internationalle Immunopharmacol* 18:1634-1641.
13. Miyague A., Renata E.F., Macedo A., Giuseppe Meca B., Richard A., Holley C., Fernando B., Luciano A. 2015. Phenolic Compound Combinations on *Escherichia coli*. *LWT-Food Science and Technology* 64: 333-336.
 14. Nagamune H., Maeda T, Ohkura k., Yamamoto k., Nakajima M., Kourai H. 2000. Evaluation of the cytotoxic effects of bis-quaternary ammonium antimicrobial reagents on human cells. *Toxicol In Vitro* 14:139-147.
 15. Pawar V.C., Bagatharia S.B., Thaker V.S. 2005. Antibacterial activity of *Aloe vera* leaf gel extracts against *Staphylococcus aureus*. *Indian Journal Microbiol* 45(3):227–229.
 16. Reynolds T., Dweck A.C. 1999. *Aloe vera* leaf gel: a review update. *J. Ethnopharmacol* 68:3-37.
 17. Shale T. L., Stirk W. A., van Stade J. 1999. Screening of medicinal plants used in Lesotho for anti-bacterial and anti-inflammatory activity. *Journal of Ethnopharmacology* 67(3) : 347-354.
 18. Vázquez B., Avila G., Segura D., Escalante B. 1996. Anti inflammatory activity of extracts from *Aloe vera* gel. *Journal Ethnopharmacol* 55(1): 69-75.
 19. Venkatappa B., Harinatha Reddy A., SRI Lakshmi B., Nageswari G., Shobha R. 2015. Phytochemical screening, TLC fingerprinting and antimicrobial activity of methanolic leaf extract of *Aloe vera* against clinical isolates of methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. *Mintage journal of Pharmaceutical & Medical Sciences* 1(5),:16-18.
 20. Waller G.R., Magiafico S., Ritchey C.R. 1978. A Chemical Investigation of *Aloe barbadensis* miller. *Proc. Okla. Acad. Sci* 58: 69-79.
 21. Wu J., Cai C., Zhou Z., Qian H., Zha F., Guo, J., Feng ,B., Il, T., Zhao, N. 2016. Low-cost mussel inspire dpoly (catechol/polyamine) coating with superior anti-corrosion capability on copper. *Journal of Colloid and Interface Science* 463:214–221.

Résumés

Résumé

Dans la présente étude, l'activité antibactérienne des différents extraits préparés à partir des feuilles de l'*Aloe vera* a été étudiée par la méthode de diffusion en puits d'agar contre quatre bactéries Gram-positives et quatre Gram-négatives. Les extraits à l'éthanol, au méthanol et à l'acétone du gel d'*Aloe vera* ont montré des niveaux variés d'activité antibactérienne contre les bactéries testées, les extraits à l'éthanol et au méthanol ont la plus élevée tandis que l'extrait à l'acétone a montré une activité minimale ou nulle contre la plupart des agents testés. Les fractions obtenues à partir des extraits par chromatographie sur couche mince ont été étudiées pour leurs propriétés antagonistes en utilisant la technique des puits. Les trois métabolites ayant une activité antibactérienne maximale isolée des extraits à l'éthanol et au méthanol ont été identifiés comme étant l'acide p-coumarique, l'acide ascorbique, le pyrocatechol et l'acide cinnamique par la spectrométrie de masse couplé avec chromatographie en phase gazeuse. L'étude suggère que l'activité antimicrobienne de l'extrait de gel d'*A. vera* dépend de l'effet synergique de différents composés. Selon les résultats obtenus, le gel d'*A. vera* pourrait être recommandé dans le traitement de diverses maladies bactériennes.

Les mots clés : *Aloe vera*, extraits à l'éthanol et méthanol et l'acétone, activité antibactérienne, chromatographie sur couche mince, technique des puits, composés.

Abstract

In the present study, the antibacterial activity of different extracts prepared from the leaves of *Aloe vera* was investigated by the agar well diffusion method against four Gram-positive and four Gram-negative bacteria. The ethanol, methanol and acetone extracts of *Aloe vera* gel showed varying levels of antibacterial activity against the bacteria tested, the ethanol and methanol extracts had the highest while the The acetone extract showed minimal or no activity against most of the agents tested. The fractions obtained from the extracts by thin layer chromatography were studied for their antagonistic properties using the spot Assay technique. The three metabolites with maximum antibacterial activity isolated from ethanol and methanol extracts were identified as p-coumaric acid, ascorbic acid, pyrocatechol and cinnamic acid by mass spectrometry coupled with chromatography in the gas phase. The study suggests that the antimicrobial activity of the gel extract of *A. vera* depends on the synergistic effect of different compounds. According to the results obtained, the gel of *A. vera* could be recommended in the treatment of various bacterial diseases.

Key words: *Aloe vera*, ethanol, methanol and acetone extracts, antibacterial activity, thin layer chromatography, spot Assay technique, compounds.

ملخص

في هذه الدراسة ، تم فحص النشاط المضاد للبكتيريا لمستخلصات مختلفة محضرة من أوراق الصبار بطريقة انتشار آجار ضد أربعة بكتيريا موجبة الجرام وأربع بكتيريا سالبة الجرام. أظهرت مستخلصات الإيثانول والميثانول والأسيتون من هلام الصبار مستويات متفاوتة من النشاط المضاد للبكتيريا ضد البكتيريا المختبرة ، وكان لمستخلصات الإيثانول والميثانول أعلى مستوياتها بينما أظهر مستخلص الأسيتون نشاطاً ضئيلاً أو معدوماً ضد معظم العوامل التي تم اختبارها. تمت دراسة الأجزاء التي تم الحصول عليها من المستخلصات بواسطة كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة لخصائصها المضادة باستخدام تقنية البقعة. تم التعرف على المستقلبات الثلاثة ذات الفعالية القصوى المضادة للبكتيريا المعزولة من مستخلصات الإيثانول والميثانول على أنها حمض p-coumaric وحمض الأسكوربيك و pyrocatechol وحمض cinnamic عن طريق قياس الطيف الكتلي مقترناً بالكروماتوغرافيا في الطور الغازي. تشير الدراسة إلى أن النشاط المضاد للميكروبات لمستخلص الهلام من الصبار يعتمد على التأثير التآزري للمركبات المختلفة. وفقاً للنتائج التي تم الحصول عليها ، فإن هلام الصبار يمكن التوصية باستخدامه في علاج الأمراض البكتيرية المختلفة.

الكلمات المفتاحية: هلام الصبار، مستخلصات الإيثانول و الميثانول و الأسيتون، النشاط المضاد للبكتيريا، كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة، تقنية البقعة، المركبات.