

UNIVERSITE 7 NOVEMBRE A CARTHAGE
FACULTE DES SCIENCES DE BIZERTE
LABORATOIRE DE BIOCHIMIE ET DE BIOLOGIE MOLECULAIRE



MEMOIRE PRESENTE PAR :

Meddeb wiem

Pour l'obtention

**Mastère Substances Naturelles Thérapeutiquement
Actives**



ETUDE DES EFFETS DES RAYONNEMENTS IONISANTS
SUR LES PROPRIETES BIOCHIMIQUES
ET BIOLOGIQUES DE L'AIL
(*ALLIUM SATIVUM*)

Soutenu le : 28 Août 2008 devant le jury composé de :

Président : M^r MAHJOUB Ahmed
Examineur : M^r BENNASER Cherif
Co-encadreur : M^r JERBI Taieb
Encadreur : M^r BELGUITH Hatem

Année universitaire 2007/2008

Ce travail a été réalisé au Laboratoire de Biochimie et Biologie Moléculaire de la Faculté des Sciences de Bizerte, dirigé par Monsieur le Professeur Ahmed Landoulsi. Il a bénéficié du soutien financier du Ministère de l'Enseignement Supérieur, de la Recherche Scientifique et de la Technologie ainsi que celui de la Faculté des Sciences de Bizerte.

A ma chère famille ...

REMERCIEMENTS

Les travaux de recherche présentés dans ce mémoire ont été effectués au laboratoire de biochimie et biologie moléculaire de la Faculté des Sciences de Bizerte, dirigé par Mr Ahmed Landoulsi.

Je saisis cette occasion pour exprimer ma profonde reconnaissance à Monsieur Ahmed Landoulsi, Professeur à la Faculté des Sciences de Bizerte, qui m'a accueilli dans son laboratoire et qui a suivi mon travail avec bienveillance et intérêt. Qu'il trouve ici le témoignage de mon grand respect et ma sincère gratitude pour ses grandes qualités scientifiques ainsi qu'humaines.

J'adresse mes remerciements également à Monsieur Hatem Belguith, Maître Assistant à la Faculté des Sciences de Bizerte, pour le sujet qu'il m'a confié et de m'avoir dirigée tout au long de ce travail. Je tiens aussi à le remercier d'avoir éclairé mon chemin vers la recherche, m'avoir appris le travail d'équipe.

J'adresse mes vifs remerciements à Monsieur Ahmed Mahjoub, professeur à la Faculté des Sciences de Bizerte, pour l'honneur qu'il me fait en acceptant de présider le jury. Qu'il trouve ici l'expression de ma haute considération.

Mes sincères remerciements s'adressent également à Monsieur Cherif Ben nasr, professeur à la Faculté des Sciences de Bizerte, pour avoir accepté de juger ce travail.

J'adresse mes remerciements et ma profonde gratitude à Mme Alya El may, Maître Assistante à la Faculté des Sciences de Bizerte, pour son aide et ses conseils précieux, ainsi, pour les qualités humaines dont elle a fait preuve à mon égard.

Je tiens à remercier également Monsieur Imed Maatouk, Maître assistant à la Faculté des Sciences de Bizerte, pour son aide et ses encouragements.

J'adresse mes remerciements à Monsieur Taieb Jerbi, Ingénieur en agroalimentaire à CNSTN, pour sa gentillesse, sa disponibilité et ses précieux conseils dans le cadre du mémoire.

Je remercie aussi le Directeur Général du CNSTN de m'avoir autorisé à réaliser ce travail au centre.

Je tiens également à exprimer ma gratitude à l'équipe de l'unité de radiotraitement et surtout Nassreddine et Samia pour leur collaboration et leur aide qu'ils ont le plaisir de me donner.

Je remercie vivement aussi Mr. Sami Fattouch, Maître assistant à l'INSAT qui m'a accueilli dans son laboratoire pour l'élaboration de ce mémoire.

Je tiens à exprimer ma gratitude et ma reconnaissance à Abdelwaheb Chatti, qui m'a toujours aidé avec patience en m'éclairant de son expérience.

Je remercie aussi tous les autres membres du Laboratoire de Biochimie et de Biologie Moléculaire à la Faculté des Sciences de Bizerte : Mouadh, Fatoum, Jihen, Sarra, Maha, Amel et Amine.

Que l'occasion me soit offerte pour présenter mes vifs sentiments à mes ami(e)s : Maha, Donia, Imen, Mariem.....

Sommaire

Introduction

Synthèse bibliographique

I L'AIL : ALLIUM SATIVUM.....	3
1.Caractère.....	3
2.Historique.....	3
3.Composition chimique.....	3
4.Molécules biologiquement actives.....	5
5.Effets multiples de l'ail.....	7
5.1 Effets sur le système vasculaire.....	7
5.2 Effets anti- cancérigènes.....	7
5.3 Effets anti- oxydants.....	7
5.4 Effet hypoglycémiant.....	8
5.5 Effets hypolipémiants.....	8
5.6 Effets antifongiques.....	8
5.7 Effets antiparasitaires.....	9
5.8 Effets anti-viraux.....	10
5.9 Effets anti-bactérien.....	10
II L'irradiation.....	11
1 Définition.....	11
1.1 Différentes formes des rayonnements ionisants.....	11
1.2 Rayonnement de type gamma.....	12
1.3 Principe d'action des rayonnements ionisants.....	12
1.4 Unités de mesure.....	13
2. Application de l'irradiation.....	14
2.1 Application à faible dose : inférieur à 1kGy.....	14
2.1.1 Inhibition de la germination.....	14
2.1.2 Stérilisation d'insectes.....	14
2.1.3 Désinsectisation et décontamination.....	15
2.1.4 Retard de la maturation et de la sénescence.....	15
2.2 Application à dose moyenne de 1 à10 kGy.....	15
2.2.1 Pasteurisation à froid.....	15
2.2.2 Elimination des germes pathogènes et parasites pour l'homme.....	15
3. Effets sur les micro-organismes pathogènes.....	16
4. Effets sur les molécules chimiques.....	16
4.1 La radiolyse de l'eau.....	16
4.2 Effets sur les protéines.....	18
4.3 Effets sur les glucides.....	18
4.4 Effets sur les lipides.....	19
4.5 Effets sur les vitamines.....	19
4.6 Effets sur les enzymes.....	19

III Les salmonelles.....	19
1. Caractères généraux.....	19
2. Nomenclature et classification.....	20
3. Caractères bactériologiques.....	20.
3.1 Caractères biochimiques.....	20
3.2 Caractères antigéniques.....	21
4. Croissance bactérienne.....	22
4.1 Courbe de croissance bactérienne.....	22
4.1.1 La phase de latence.....	23
4.1.2 La phase d'accélération et la phase exponentielle.....	23
4.1.3 La phase stationnaire.....	23
4.1.4 La phase de déclin.....	23
4.1.5 La phase cryptique.....	23
4.2 Facteurs de croissance.....	23
5.Salmonellose.....	24
 <i>Objectif du travail.....</i>	 <i>26</i>
 <i>Matériel et méthodes</i>	
A-Matériels.....	27
1. Matériel végétal utilisé.....	27
2. Souches bactériennes.....	27
3. Source d'irradiation.....	27
4. SYSTEME API ZYM.....	29
B- Méthodes.....	29
I Radiotraitement du bulbe d'ail.....	29
1. Traitement des bulbes d' <i>Allium sativum</i>	29
2. Préparation de l'extrait à partir des bulbes irradiés.....	30
II Analyses physicochimiques de l'extrait des bulbes après radiotraitement.....	30
1. Dosage de l'allicine.....	30
2. Dosage des protéines.....	31
3. Méthode de dosage des sucres totaux.....	31
3.1 Protocole d'extraction des sucres totaux.....	32
3.2 Analyse des échantillons.....	32
4. Dosage des sucres réducteurs.....	32
5. Dosage des triglycérides.....	33
6. Dosage des polyphénols.....	33
7. Dosage de pouvoir anti-oxydant.....	34
7.1Principe de réduction du DPPH°.....	34
7.2Détermination du pourcentage d'inhibition des échantillons.....	35
7. 3Dosage de l'équivalent Trolox des échantillons.....	35

8 Analyse par RP-HPLC des polyphénols (la chromatographie liquide à haute performance en phase inverse).....	36
--	----

III Etude de l'effet de l'irradiation sur les activités biologique de l'ail.....	36
--	----

1. Etude sur l'activité anti-bactérienne.....	36
1.1 Culture en milieu liquide.....	36
1.2 Traitement de <i>salmonella</i> Hadar par l'extrait d'ail.....	37
1.3 Cinétique bactérienne.....	37
2 Détermination de CMI et de la CMB.....	37
3 Etude de l'effet des bulbes l'ail irradié sur les activités enzymatiques bactériennes.....	37

IV Test statistique.....	37
--------------------------	----

Résultats

I Effets de l'irradiation sur les caractères physico-chimiques des bulbes d'ail.....	39
--	----

1. Effets de l'irradiation sur la concentration en allicine.....	40
2. Effets de l'irradiation sur la concentration en protéines.....	40
3. Effets de l'irradiation sur la concentration en sucres.....	40
3.1 Effets sur les sucres totaux.....	40
3.2 Effets sur les sucres réducteurs.....	41
4. Effets de l'irradiation sur les triglycérides.....	42
5. Effets de l'irradiation sur la concentration en polyphénols.....	42
6. Effets sur le pouvoir antioxydant.....	43
6.1 La réduction DPPH°.....	43
6.2 Equivalent Trolox.....	44
7. Effet de l'irradiation sur la composition biochimique en polyphénols.....	44

II Effet de l'extrait du bulbe irradié sur l'activité anti-bactérienne.....	47
---	----

1-Effet de l'extrait aqueux sur la croissance de <i>Salmonella</i> Hadar.....	47
1-1Effet de l'extrait aqueux du bulbe d'ail non irradié (0Gy) sur la croissance.....	48
1-2Effet de l'extrait aqueux du bulbe d'ail irradié à 140Gy sur la croissance.....	48
1-3Effet de l'extrait aqueux du bulbe d'ail irradié à 180Gy sur la croissance.....	50
1-4Effet de l'extrait aqueux du bulbe d'ail irradié à 260Gy sur la croissance.....	51
2-Détermination de CMI et CMB.....	52

III Etude de l'effet de l'extrait aqueux du bulbe irradié sur les activités enzymatiques de <i>Salmonella</i> Hadar.....	52
--	----

<i>Discussion</i>	55
-------------------------	----

I Effets sur les caractères physicochimiques.....	55
---	----

1. Evaluation de la quantité d'allicine dans l'extrait aqueux des bulbes d'ail irradiés.....	55
2. Evaluation de la quantité des protéines.....	55
3. Evaluation de la quantité des sucres réducteurs et totaux.....	55

4. Evaluation de la quantité des triglycérides.....	56
5. Evaluation de la quantité des polyphénols.....	56
6. Evaluation de pouvoir antioxydant.....	56
7. Analyse chromatographique des composés phénoliques.....	57

II Effets de l'extrait sur les caractères biologique de l'ail.....57

1. Effets de l'extrait des bulbes irradiés sur la croissance de <i>Salmonella</i> Hadar.....	57
2. Evaluation de l'effet de l'extrait des bulbes d'ail irradiés sur l'activité enzymatique de <i>Salmonella</i> Hadar	59

Conclusion.....61

Perspectives.....63

Références bibliographiques

Annexe

Liste des abréviations

A : Absorbance

ADN : Acide désoxyribonucléique

AGE : Aged garlic extract

ARN : Acide ribonucléique

° C : Degré Celcius

CMI : concentration minimale inhibitrice

CMB : concentration minimale bactéricide

DADS : Diallyl disulfures

DAT : Diallyl trisulfures

DATS : Diallyl tetrasulfures

DAS : Diallyl sulfures

DO : Densité optique

EDTA : Acide Ethylène Diamino Tétra-acétique

f : fonction

g : gramme

HDL : Hight Density Lipoproteins

HPLC: Hight performance liquid chromatography

LDL : Low Density Lipoproteins

M : Molaire

Mg : milligramme

OMS :Organisation Mondiale de la Santé

µg : microgramme

ml : millilitre

µl : microlitre

mM : millimolaire

pH : potentiel d'hydrogène

rpm : rotation par minute

S. : *Salmonella*

SAC : S-allylcysteine

T : Témoin

TR : Temps de rétention

TAG : Triglycérides

t : temps

UV : Ultra Violet

INTRODUCTION

L'ail, *Allium sativum*, est une plante herbacée, bulbeuse, vivace qui est connue depuis des temps immémoriaux. Sa composition est très simple : les bulbes d'ail sont composés de gousses individuelles recouvertes d'une pelure blanche. Le bulbe d'ail est utilisé comme épice ou comme herbe médicinale. L'ail contient des composés sulfureux et des acides aminés.

De tous les composants de l'ail, l'allicine est la plus abondante qui est une molécule transitoire qui se forme à partir de l'alliine lorsque la gousse est broyée. L'allicine est formé est un antibiotique naturel (Abramovitz et al., 1999). D'autres composés semblent aussi avoir des propriétés médicinales tels que l'ajoéne, les polyphénols, les saponines

L'ail est utilisé depuis plusieurs centaines d'années pour traiter divers problèmes de santé. Un très grand nombre d'études ont été réalisées afin de mieux connaître les principes actifs de l'ail et leurs effets. En effet l'ail sert depuis longtemps pour réduire le cholestérol et les triglycérides (Ali et al., 1995). L'ail est indiqué aussi pour les personnes souffrant de diabète à cause de ses propriétés hypoglycémiques (Augusti et Sheela, 1996). De plus, il a été démontré que la consommation d'ail aurait un effet protecteur contre les cancers de l'estomac et de l'intestin (Bianchinie et al., 2001 ; You W et al., 2005).

L'ail est aussi utilisé traditionnellement pour ses propriétés antimicrobiennes et pour le traitement de certaines infections. Dans une étude réalisée chez une population d'une région de la Chine, une consommation élevée d'ail a été associée à une diminution des infections à la bactérie *Helicobacter pylori* (You et al., 1998). L'ail est considéré étant qu'un antibiotique très efficace, il inhibe la croissance de certaines mycobactéries (Naganawa et al., 1996).

Selon les variétés, l'ail frais se conserve de trois à six mois. Au-delà du quatrième mois après la récolte, le processus de germination peut être déclenché. L'irradiation s'est révélé prolonger la conservation de l'ail en inhibant la germination.

L'utilisation des techniques d'irradiation a permis de constater des effets bénéfiques ainsi que des effets néfastes sur les qualités des aliments. La conservation et l'inhibition de la germination de l'ail font l'objet de notre travail

A l'égard de ce qui précède, nous nous sommes intéressés, dans le présent travail à tester les effets de l'irradiation gamma sur les caractères biochimiques (allicine, flavonoïdes, protéines, sucres.....) et biologiques (activités antibactérienne traité sur *salmonella* Hadar)

de l'ail. Peu d'études sont consacrées à l'effet de l'irradiation sur l'action thérapeutique de l'ail.

Dans ce mémoire, nous adopterons le plan suivant ; nous débiterons par une revue bibliographique exhaustive relative à la présentation de l'ail et ses effets thérapeutiques, à la présentation de la technique d'ionisation et ses différents effets sur la matière et sur les microorganismes en particulier, et à la présentation de *salmonella*. Une description du matériel et des méthodes utilisés, précédera la présentation des résultats et de leur discussion. Enfin une conclusion et des perspectives achèveront notre travail.

Etude
Bibliographique

I- L'AIL : *ALLIUM SATIVUM*

1. Caractère

L'ail est une plante monocotylédone vivace herbacée, bulbeuse assez grande à nombreuse feuilles engainant le bas de la tige. Elle mesure 30 à 120 cm de hauteur avec un espacement de 10 cm, l'inflorescence est enveloppée d'une spathe en une seule pièce tombant assez rapidement, les fleurs sont groupées en ombrelles, assez peu nombreuses elles sont de couleur blanche ou rose et s'épanouissent en été. Le fruit est une capsule à trois loges mais celle-ci est rarement produite. La racine à bulbe est composée de 3 à 20 bulbes clous arqués (les caïeux), on les récolte en juillet et août.

2. Historique

L'ail est originaire d'Asie centrale. On pense qu'il dérive de l'espèce asiatique *Allium longicuspis*. On a retrouvé des gousses d'ail en argile datant de 3750 JC. Il était largement cultivé en égypte. Tous les médecins antiques lui ont reconnu des vertus contraceptives, bactéricide, diurétique, laxatives, vermifuges, anti-tassif.... En Sibérie, on en sert pour guérir les infirmes et rajeunir les vieux. En Égypte, dès l'époque pharaonique, on remarque ses propriétés nutritives (Edetraut, 2000).

L'extrait d'ail est utilisé comme antidote contre les morsures de vipère ou les piqûres de scorpion. Il présente aussi des effets protecteurs contre les maladies cardio-vasculaires, des effets anti-bactériens et anticancérigènes.

3. Composition chimique

La gousse d'ail contient des polysaccharides de réserves (Fructanes), des acides aminés, des enzymes (l'alliinase, la peroxydase et la catalase) ainsi que des composés soufrés responsables de la majorité de ses propriétés thérapeutiques.

L'ail est riche en éléments minéraux: P, K, S, Zn, Ca, Cu, Mg et en oligo-éléments comme le sélénium et le germanium. Cette plante renferme aussi des vitamines A, B1, B2, PP et C et des acides gras essentiels (Vitamine F). Le tableau 1 récapitule les principaux constituants de l'ail :

Tableau 1 : Composition générale d'*Allium sativum* (Lawson, 1996).

COMPOSANTS	QUANTITE (% POIDS FRAIS)
Eau	62-68
Carbohydrates	26-30
Protéines	1,5-2,1
Acides aminés	1-1,5
Acides aminés : cystéine sulfoxides	0,6-1,9
γ -glutamylcystéines	0,5-1,6
Lipides	0,1-0,2
Fibres	1,5
Composés soufrés totaux	1,1-3,5
Sulfures	0,23-0,37
Nitrogène	0,6-1,3
Minéraux	0,7
Vitamines	0,015
Totalité des composés solubles dans l'huile	0,15-0,7
Totalité des composés solubles dans l'eau	97

D'autres composants sont également identifiés, parmi lesquels : les saponines (β -chlorogénine) (Itakura et *al.*, 2000), les pigments phénoliques, les terpénoïdes, les antibiotiques et les antioxydants (Miean et *al.*, 2001; Gorinstein et *al.*, 2005; Leelarumgrayub et *al.*, 2006).

4. Molécules biologiquement actives

L'ail frais renferme des quantités importantes de γ -glutamylcystéines, composés de réserve, qui, par hydrolyse et oxydation peuvent former de l'alliine (Amagase et *al.*, 2001). Cette molécule qui est présente dans le bulbe d'ail intact peut s'accumuler naturellement durant la conservation des bulbes d'ail à température ambiante.

L'alliine s'est avérée être le précurseur stable qui est converti en allicine par l'action d'une enzyme nommée l'alliinase, également présente dans la gousse d'ail. L'allicine pure est une molécule volatile qui est miscible dans les solutés (Block, 1985). L'allicine, est rapidement oxydée pour donner naissance aux disulfures d'allyles qui sont les principaux constituants de "l'essence d'ail".

L'allicine peut se condenser pour former des composés secondaires nommés les Ajoènes, les Diallyl sulfures, les Diallyl disulfures et les Diallyl tetrasulfures (Agarwal, 1996) (Figure 1).

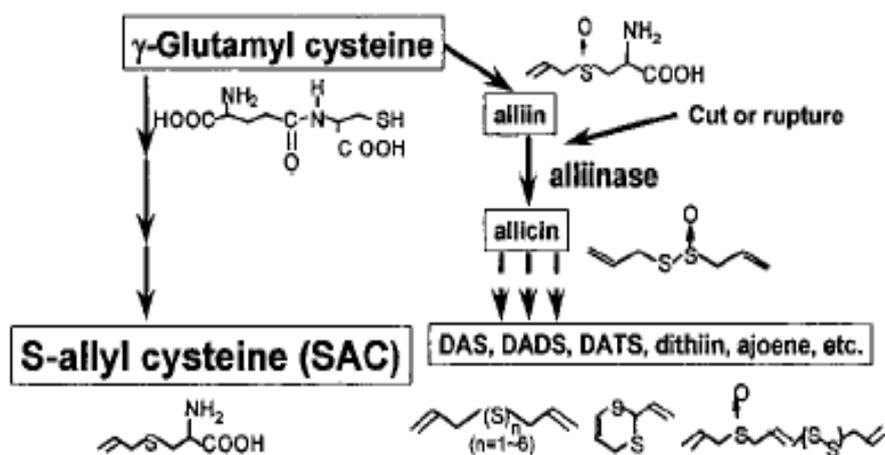
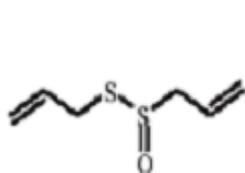
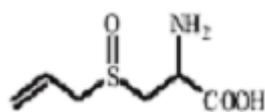


Figure 1 : Changement chimique dans la gousse d'*Allium sativum* (Amagase et *al.*, 2001)
(DAS : Diallyl sulfures, DADS : Diallyl disulfures, DATS : Diallyl tetrasulfures)

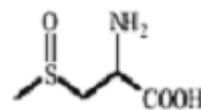
La figure 2 illustre les principaux composés soufrés identifiés dans la gousse d'ail (Agarwal, 1996)



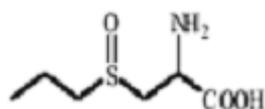
Diallyl Thiosulfinate (Allicine)



S-allylcysteine sulfoxide



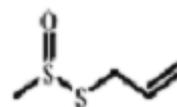
S-méthylcysteine sulfoxide



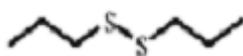
S-propylcysteine sulfoxide



Diallyltétrasilfures



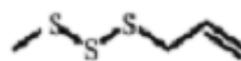
Allylméthane sulfinat



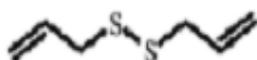
Dipropyldisulfures



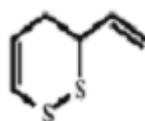
Diméthylsulfures



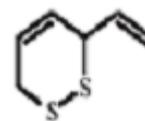
Méthylallyltrisulfures



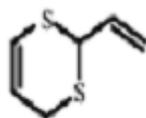
Dipropylsulfure



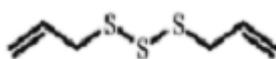
3-vinyl-4H-1,2-dithiin



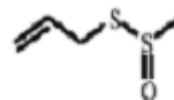
3-vinyl-6H-1,2-dithiin



3-vinyl-6H-1,3-dithiin



Diallyltrisulfures



Allylméthylthiosulfinate



Méthyl propyldisulfures

Figure 2: Les principaux composés soufrés identifiés dans *Allium sativum*

(Agarwal, 1996)

5. Effets multiples de l'ail

5.1 Effets sur le système vasculaire

Il a récemment été prouvé que l'ail contenait de l'ajoène qui tout comme l'aspirine augmente la fluidité et diminue la tension artérielle (Breighaupt-Grogler et *al.*, 1999).

Ainsi, Pantoja et *al.* (1996) ont observé chez le lapin, que l'injection systémique de fractions purifiées d'ail déclenche une diminution progressive de la fréquence cardiaque sans modification de la pression artérielle. Breighaupt-Grogler et *al.* (1999) et Slowing et *al.* (2001) considèrent que des extraits d'ail peuvent prévenir l'altération du système vasculaire, en particulier l'endothélium vasculaire.

Des études cliniques effectuées dans 15 pays ont démontré que l'ail pouvait freiner l'obstruction artérielle et même faire régresser ce processus (Krist et *al.*, 2002).

5.2 Effets anti- cancérigènes

On a même attribué à l'ail, depuis quelques années, une action anticancérogène. Des études ont montré qu'il y avait moins de personnes atteintes par des cancers dans les populations faisant une grande consommation du bulbe (Béliveau et Gingras, 2005).

L'extrait d'ail peut aussi augmenter le taux de combativité du système immunitaire pour le protéger notamment contre certains types de cancer comme celui de l'estomac, du colon et de la peau (Lu et *al.*, 2004). Le diallyl disulfide (DADS) peut inhiber la croissance des cellules du cancer du sein (Nakagawa et *al.*, 2001).

Le mécanisme de la suppression du cancer entraîne la mort cellulaire par apoptose et diminution du taux de la prolifération cellulaire (Nakagawa et *al.*, 2001). L'ajoène pourrait contribuer à l'apoptose (Hassan et *al.*, 2004). Le S-allylcysteine est un agent antitumoral par son effet régulateur sur la différenciation, l'invasion de la tumeur et la migration vers les métastases (Balasenthil et *al.*, 2003).

L'ail pourrait freiner le développement de certain cancers tant par son action protectrice envers les dommages causés par les substances cancérogènes que par sa capacité à empêcher les cellules cancéreuses de croître (Béliveau et *al.*, 2005).

5.3 Effets anti- oxydants

L'ail contient différents composés antioxydants tels que des flavonoïdes et des tocophérols, en plus des composées sulfurés qui contribuent aussi à son action anti-oxydante (Miean et *al.*, 2001; Gorinstein et *al.*, 2005 ; Leelarumgrayub et *al.*, 2006).

La consommation d'ail frais augmenterait l'activité anti-oxydante dans le plasma chez les rats (Gorinstein *et al.*, 2006).

Des recherches ont démontré que l'allicine possédait un pouvoir anti-oxydant puisqu'elle augmente les taux sanguins de la catalase et du glutathion peroxydase, deux enzymes anti- oxydantes très puissantes (Borek *et al.*, 2001).

D'autres molécules soufrées inhibent la peroxydation hépatique des lipides au niveau du foie qui est un des signes les plus évident du vieillissement et de l'altération de la balance oxydo-réductrice (Wang *et al.*, 1991 ; Helen *et al.*, 1999). Ces molécules inhibent aussi l'oxydation des LDL et sont impliqués dans la réduction du danger d'ischémie.

Le S-allylcysteine (SAC) autre principe actif doué d'activité anti-oxydante, inhibe rigoureusement la production des radicaux libres (Kim *et al.*, 2001).

5.4 Effets hypoglycémiant

L'ail aide à diminuer le taux d'insuline et assure un meilleur stockage du glycogène hépatique et ce en raison de l'un de ses composants soufrés, le S-allyl cystéine. (Sheela *et al.*, 1992).

En effet, son administration diminue significativement la lipidémie, la glycémie ainsi que certaines activités enzymatiques du sang telles que la Phosphatase acide, la Lactate déshydrogénase et la Glucose-6-phosphatase (Sheela *et al.*, 1992).

5.5 Effets hypolipémiant

L'ail a des effets sur le taux de cholestérol sérique grâce aux propriétés de l'allicine. Il est capable d'abaisser le taux du LDL cholestérol (mauvais cholestérol) néfaste et d'augmenter le HDL cholestérol (bon cholestérol) (Steiner *et al.*, 1996 ; Stevinson *et al.*, 2000 ; Alder *et al.*, 2003). Une prise d'extrait d'ail durant un mois stabilise le taux de cholestérol à 0.03-0.45 mmol/l (1.2-17.3 mg/l) (Ackermann *et al.*, 2001).

L'ajoéne pourrait empêcher la synthèse du cholestérol *in vitro* et jouer ainsi un rôle dans l'effet hypocholestérolémiant attribué à l'ail (Jakubawskih *et al.*, 2003).

5.6 Effets antifongiques

L'extrait d'ail possède un effet fongicide et il peut aussi empêcher la formation des mycotoxines comme l'aflatoxine pour *Aspergillus parasiticus*. Cette inhibition est essentiellement due à l'allicine. Un extrait concentré d'ail, contenant 34% d'allicine, 44% de thiosulfinate totaux et 20% de vinyldithiins, semble posséder une activité fongicide contre

trois isolats différents de *Cryptococcus neoformans*, *in vitro*. La concentration minimale inhibitrice de l'extrait concentré d'ail contre 10 organismes de *C. neoformans* est de l'ordre de 6 à 12 µg/ml (Lawson et al., 1996). L'allicine pur s'est révélée très efficace contre les espèces de *Candida*, *Cryptococcus*, *Trichophyton*, *Epidermophyton* et *Microsporium* à une faible concentration et avec une CMI qui varie de 1,57 à 6,25 µg/ml (Yamada et al., 1997).

De même, l'allicine est capable d'empêcher la germination des spores et la croissance des hyphes (Yoshida et al., 1987). Diverses souches fongiques sont très sensibles à une préparation pure d'allicine (Tableau 2) (Ankri et Mirelman, 1999).

Par ailleurs, l'ajoéne possède une activité anti-fongique contre: *Scedosporium prolificans* (Davis et al., 2003), *Aspergillus niger* et *Candida albicans* (Yoshida et al., 1987 ; Nagnawa et al., 1996).

Tableau 2 : Effet d' allicine sur divers champignons pathogènes (Ankri et Mirelman, 1999)

Souches fongiques	Concentration d' Allicine (CMI µg /ml)
<i>Candida albicans</i>	0,3
<i>Candida albicans</i>	0,8
<i>Candida neoformans</i>	0,3
<i>Candida parapsilosis</i>	0,15
<i>Candida tropicalis</i>	0,3
<i>Candida krusei</i>	0,3
<i>Torulopsis glabrata</i>	0,3
<i>Torulopsis glabrata</i>	1,9

5.7 Effets anti-parasitaires

Entamoeba histolytica, protozoaire parasite de l'intestin de l'homme s'est révélé être très sensible à l'allicine. Seulement 30 µg/ml d'allicine inhibe totalement la croissance de la culture d'amibe (Mirelman et al., 1987). Cet effet est dû à son action inhibitrice des enzymes thioliques présentes chez ce micro-organisme comme la cysteine-protéase et l'alcool-déshydrogénase (Shadkchan et al., 2004).

En outre, il a été démontré qu'une faible concentration d'allicine inhibe la virulence (90%) d'*Entamoeba histolytica*. Ceci est déterminé par leur incapacité de détruire les monocouches des cellules cultivées d'un tissu de mammifère (Ankri et al. 1997). L'allicine (30 µg/ml) a empêché très efficacement la croissance d'autres protozoaires parasites tels que *Giardia lamblia*, *Leishmania major*, *Leptomonas colosoma*, et *Crithidia fasciculata* (Ankri et Mirelman, 1999).

5.8 Effets anti-viraux

L'allicine et ses produits de transformation semblent être efficaces contre l'Herpes simplex virus type 1 et type 2, le Parainfluenza virus type 3, le virus de la variole, le virus de la stomatite vésiculaire et le rhinovirus humain type 2 (Tatartintsev et al., 1992).

Le produit de condensation de l'allicine, l'ajoène, semble avoir en général une activité anti-virale plus importante que celle de l'allicine. En effet, il s'est avéré capable de bloquer le processus intégrin-dépendant des cellules infectées chez l'Homme immunodéficient (Tatartintsev et al., 1992). Il semble protéger les cellules CD4⁺ contre l'infection par le VIH lors des stades précoces du cycle viral.

L'ajoène réduirait aussi la production virale dans les cellules déjà infectées. En plus, une supplémentation d'ail a permis de réduire l'incidence du virus du rhume (Josling, 2001). Cependant, certains virus comme le virus X sont résistants aux effets antiviraux des extraits d'ail (Tatartintsev et al., 1992).

5.9 Effets anti-bactérien

Les effets de l'ail sur les bactéries sont connus depuis longtemps. Des préparations d'ail se sont avérées avoir une activité antibactérienne contre les bactéries à Gram positif et à Gram négatif : *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Escherchia coli*, *Salmonella*. Les bactéries acido-résistantes comme *Mycobacterium tuberculosis* sont aussi sensibles à l'ail (Uchida et al., 1975).

Dans une étude réalisée sur une population d'une région de Chine, une consommation élevée d'ail (plus de 5 kg par année par personne, soit l'équivalent d'environ quatre à cinq gousses d'ail par jour) a été associée à une diminution des infections à *Helicobacter pylori* (You WC et al., 1998). En effet l'extrait d'ail a un effet contre *Helicobacter pylori*, mise en cause dans des ulcères gastriques (Celini et al., 1996 ; O Gara et al., 2000).

Les extraits d'ail ont aussi un effet préventif contre la fermentation des enterotoxines A, B C1 et la thermonucléase chez *Staphylococcus* (Gonzalez-Faudos et al., 1994).

La sensibilité de diverses bactéries aux préparations pures d'allicine est très significative (Rabinkov et al., 1998). Mirelman et al., 1987 ont montré que l'allicine présentait un large spectre d'action. En effet, diverses préparations d'ail ont montré une gamme étendue d'activité antibactérienne contre les bactéries Gram (-) et Gram (+).

D'autres souches bactériennes résistantes aux antibiotiques tel que *Staphylococcus aureus* méthicilline^r résistant aussi bien que d'autres souches multirésistantes d'*Escherichia*

coli, *Enterococcus*, *Shigella dysenteriae*, *S. flexneri* et *S. sonnei* sont avérées sensibles à l'allicine.

L'allicine possède aussi une activité antimicrobienne *in vivo*, contre *S. flexneri* dans le modèle de shigellose expérimentale chez le lapin (Chowdhury et al., 1991). D'autre part d'autres bactéries telles que les souches mucoïdes de *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus* et *Enterococcus faecium* sont résistantes à l'allicine.

II- L'irradiation

Selon les variétés, l'ail frais se conserve de trois à six mois. Au-delà du quatrième mois, le processus germinatif peut être déclenché.

L'irradiation est utilisée comme méthode de conservation de l'ail et ceci en inhibant la germination.

1. Définition

L'irradiation des denrées alimentaires est un procédé physique de traitement qui consiste à exposer les aliments à l'action directe de certains rayonnements électromagnétiques ou particuliers. L'irradiation permet d'accroître la durée de conservation de certains produits alimentaires ou d'améliorer leur qualité hygiénique ou encore de modifier certaines propriétés technologiques (Le Corre et al., 1989).

1.1 Différentes formes des rayonnements ionisants

Selon leur nature, on classe les rayonnements en deux catégories :

- Les rayonnements électromagnétiques sont constitués par un flux de photons. Ce sont des rayonnements immatériels constitués de champs vibratoires électriques et magnétiques caractérisés par leur fréquence. Leur origine peut être le cœur du noyau ou les orbites du cortège électronique. Quand les changements d'orbites des électrons ont lieu dans des couches plus profondes, on est en présence des rayonnements X. Quand le noyau lui-même est la source du rayonnement, il s'agit d'un rayonnement gamma (Kirsch et al., 1991).
- Les rayonnements particuliers sont formés d'un flux de particules matérielles douées de masse au repos.

1.2 Rayonnement de type gamma

Les rayons gamma consistent en un flux de photons, il s'agit donc de radiations électromagnétiques de même nature que la lumière, mais de fréquence plus grande donc d'énergie plus élevée (Le Corre et *al.*, 1989).

Ils sont émis par les noyaux des atomes lorsque ceux-ci reviennent à un état plus stable, plus fondamental, à la suite d'une excitation. Cela se produit dans les noyaux dits radioactifs (naturels ou artificiels). Dès lors, une source de rayon gamma n'est pas une machine électrique complexe, mais simplement une quantité appropriée d'un élément simple émettant des rayons gamma en permanence et de façon égale dans toutes les directions (de façon isotropique) une quantité bien définie (Kirsch et *al.*, 1991).

L'énergie élevée des rayonnements gamma leur confère, du fait de l'absence de charge des photons, un excellent pouvoir pénétrant (Le Corre et *al.*, 1989 ; Roux et *al.*, 1994).

On emploie souvent comme source d'irradiation le Cobalt 60.

Le cobalt 60 est un isotope du Cobalt 59 naturel auquel a été ajouté un neutron thermique ; cette opération a lieu dans un réacteur nucléaire. Les grains de Cobalt ainsi formés sont enfermés dans une double enveloppe scellée en acier inoxydable pour être utilisée en industrie.

Le cobalt 60 se désintègre en plusieurs étapes pour donner lieu au Nickel stable, et en restituant au milieu extérieur de l'énergie sous forme de deux rayonnements gamma (1.17 et 1.332 MeV), d'énergie totale de 2,5 MeV, sans éjection d'aucun corpuscule nucléaire. Sa demi vie est de 5,27 ans.

Le choix d'une source radioactive repose sur l'exploitation de ces caractéristiques. Le Cobalt 60 est choisi pour les applications dans le domaine agroalimentaire vu la facilité de son stockage (La croix et *al.*, 1991).

1.3 Principe d'action des rayonnements ionisants

La matière est composée de molécules qui sont elles-mêmes composées d'atomes. Ainsi, l'atome comporte un noyau constitué de protons et de neutrons autour duquel gravite un nuage d'électrons qui assure les liaisons entre atomes. Qu'il s'agisse d'électrons accélérés ou de photons gamma, le phénomène important qui se manifeste dans leurs interactions avec la matière est une ionisation du milieu, d'où leur nom de rayonnements ionisants.

Un électron accéléré est une particule chargée qui se trouve déviée en passant au voisinage des atomes et cède à ces derniers une partie de son énergie en chassant de leur orbite des électrons périphériques.

Un photon gamma provoque lui aussi dans le milieu qu'il traverse la formation d'électrons à la suite d'un processus dont le mécanisme dépend de l'énergie du rayonnement incident. Dans le cas des énergies moyennes, qui est en particulier celui des rayons gamma émis par le cobalt 60, l'effet prépondérant est l'effet Compton.

Le photon cède une partie de son énergie à un électron et repart dans une direction différente. Il y a donc finalement apparition d'un électron dit « primaire ». Son énergie comme celle des électrons d'un faisceau accéléré est beaucoup trop grande pour être absorbée directement. L'électron peut par contre éjecter à son tour d'autres, dit « secondaires » et ainsi de suite. A chaque fois, l'énergie du dernier électron est diminuée, et il arrive un moment où l'énergie résiduelle est du même ordre de grandeur que celle des énergies de ruptures des liaisons covalentes. C'est à ce stade qu'apparaissent les radicaux libres responsables de la formation des produits de radiolyse (Le Corre et Venaille, 1989 ; Roux, 1994) (Figure 3).

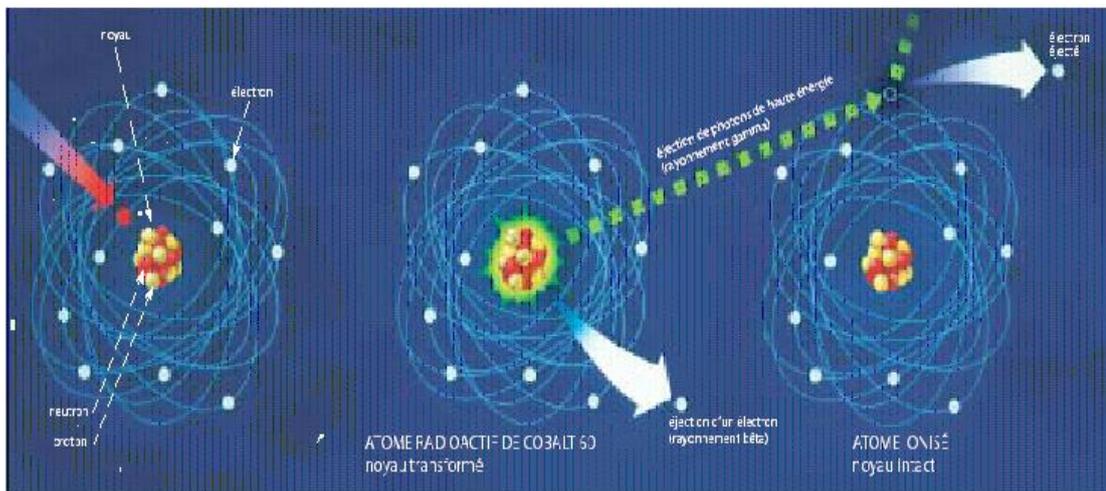


Figure 3 : Action de l'ionisation sur l'atome (Hydro-Québec, 1997)

1.4 Unités de mesure

☛ L'énergie absorbée par les aliments est tout à fait contrôlable, grâce à des méthodes dosimétriques précises et répétables.

On appelle dose la quantité d'énergie absorbée par le substrat par unité de masse. En unités S.I., la dose s'exprime en Gray (Gy), 1 Gy correspondant à la quantité d'énergie absorbée de 1 Joule par kilogramme d'aliment.

L'ancienne unité, le rad, représente l'énergie absorbée par la matière avec libération, par ionisation, d'une quantité d'énergie.

$1 \text{ rad} = 10^{-2} \text{ Gy} = 10^{-2} \text{ J/Kg}$ (Mafart et *al.*, 1996).

☛ Le débit de dose est défini comme étant la dose absorbée par l'aliment, par unité de

temps d'exposition. Il s'agit donc en fait tout simplement, de la puissance absorbée (que l'on pourrait tout aussi bien exprimer en kW par kg d'aliment qu'en kGy par heure pour les rayons γ ou en kGy par seconde pour les électrons accélérés). Les rayons γ engendrent un débit de dose de l'ordre de $1 \text{ Gy}\cdot\text{s}^{-1}$ tandis que les électrons accélérés donnent un débit de dose environ mille fois supérieur (Mafart et *al.*, 1996).

2. Application de l'irradiation

On peut classer les applications des traitements ionisants par doses croissantes. Il est intéressant de remarquer que les doses les plus couramment utilisées en industrie agroalimentaire varient de 0,10 kGy à 10 kGy.

2.1 Application à faibles doses : inférieures à 1kGy

2.1.1 Inhibition de la germination

De très faibles doses (50 à 150 Gy) permettent un contrôle efficace de la germination des bulbes et tubercules tels que : pomme de terre, oignon et ail. Les doses employées ne provoquent pas d'effet indésirable sur le produit, elles dépendent de la variété, de la maturité, et de l'origine des produits ainsi que des conditions environnementales.

L'ionisation est remarquablement efficace si le traitement est effectué pendant la période de dormance, généralement le mois suivant la récolte.

Les résultats des travaux faits sur les effets des rayons gamma sur la germination suggèrent que les auxines sont impliquées dans le mécanisme de l'inhibition.

En effet l'auxine est une substance inhibitrice de la croissance, l'irradiation stimule cette substance et de ce fait la germination est inhibée (Clara et *al.*, 1989).

2.1.2 Stérilisation d'insectes

La technique du mâle stérile découverte en 1937 consiste à lâcher dans une zone, des populations de mâles stérilisés. Des lâchés répétés de mâles stériles entraînent l'élimination de cette population (dose pour la stérilisation des mâles : 0,08 à 0,3 kGy) (Vasseur et *al.*, 1980).

2.1.3 Désinsectisation et décontamination

L'ionisation à faible dose (0,15 à 1kGy), est utilisée pour la désinsectisation de denrées stockées tels que : les céréales et les poissons séchés.

2.1.4 Retard de la maturation et de la sénescence

Quelques fruits subissent une phase de maturation et de sénescence au cours de l'évolution physiologique. L'ionisation est utilisée pour une action sur ces deux stades. Toutefois, chaque végétal répond d'une manière spécifique à l'ionisation en fonction de nombreux paramètres tels que la variété, le stade physiologique..... (Tableau 3) (Akamine et Moy, 1983).

Tableau 3 : Réponse de quelques fruits à l'ionisation (Akamine et al., 1983)

Effet	Réponse du fruit	fruit
Positif	-Maturation retardée -Sénescence retardée -Contrôle de maladies pendant le stockage	-Mangue -Cerise, abricot, papaye -Tomate, fraise, figue
Négatif	-Dégradation après traitement -Maturation accélérée -Faible sensibilité à l'ionisation	-Poire, avocat, citron, orange, concombre, olive, prune, raisin -Pêche nectarine, ananas,

2.2 Application à doses moyennes de 1 à 10 kGy

2.2.1 Pasteurisation à froid

L'une des principales applications de l'ionisation des aliments, concerne la destruction des micro-organismes responsables de l'altération ou de la détérioration du produit. Cependant, nombreux micro-organismes radiosensibles sont présents dans des denrées alimentaires fraîches tels que les produits carnés, les produits de la mer ou les fruits et légumes.

2.2.2 Elimination des germes pathogènes et parasites pour l'homme

La dose relativement faible nécessaire pour détruire les bactéries pathogènes non sporulées présentes dans les aliments par exemple : *Salmonella spp*, *Campylobacter*, et *Listéria*, fait de cette technique un moyen de lutte et prévention contre ces microorganismes.

L'ionisation à faibles doses est comparable à la pasteurisation, détruisant les microorganismes pathogènes mais incapables d'inactiver les spores bactériennes de *Clostridium* et *Bacillus* (Farkas et Stegman., 1987).

3. Effets sur les micro-organismes pathogènes

Les effets biologiques des rayonnements ionisants sont recherchés dans les traitements appliqués aux produits agroalimentaires. Il s'agit d'empêcher le développement des êtres vivants indésirables qui accompagnent ces produits, ou encore de modifier diverses activités biologiques au sein des aliments eux-mêmes.

Conséquence biologique

Les rayonnements ionisants entraînent surtout des modifications chimiques de l'ADN et de l'ARN : il s'agit entre autres de ruptures des chaînes ou liaisons hydrogène, et de pontage intrabrin (Mafart *et al.*, 1996).

Les modifications peuvent avoir les conséquences suivantes (Le Corre et Venaille *et al.*, 1989) :

- Un blocage de la réplication de l'ADN lorsqu'il n'existe pas de système de réparation pour le type de liaison créée.
- Un arrêt de la synthèse de protéines lorsque l'ARN messager rencontre un codon radiomodifié pour lequel il n'existe pas d'ARN de transfert correspondant. A cela s'ajoute une oxydation détruisant la structure lipoprotéine de la membrane. Ces perturbations entraînent une inhibition de la croissance, voire la mort des cellules. Les micro-organismes en phase de multiplication sont d'ailleurs les plus vulnérables car la croissance entraîne un effet fortement amplificateur des altérations de l'ADN.

En dehors de ces effets directs des rayonnements ionisants, viennent s'ajouter les effets indirects liés à la présence des produits de radiolyse tels que des électrons secondaires ou de l'eau oxygénée (Mafart, 1996).

4. Effets sur les molécules chimiques

Le rayonnement gamma est un rayonnement ionisant, on parle d'effet direct si les photons incidents provoquent la rupture des liaisons intermoléculaires, conduisant à la formation des ions et d'effet indirect si l'ionisation est faite par l'intermédiaire des radicaux formés suite à la radiolyse de l'eau.

4.1 La radiolyse de l'eau

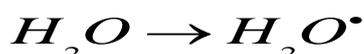
Un photon (gamma) ou un électron d'énergie relativiste parcourt une distance de l'ordre d'un diamètre moléculaire en $10^{-17} - 10^{-18}$ secondes. L'interaction entre une particule chargée (électron, par exemple) ou une radiation électromagnétique (rayons X, ou rayonnements gamma) et une molécule d'eau, se traduit par des réactions radiochimiques qui aboutissent à la formation de radicaux libres.

Un radical libre est un ensemble (atome, molécules ...) porteur sur sa couche électrique périphérique d'un ou plusieurs électrons dits célibataires, cette configuration lui confère une très haute réactivité chimique et une durée de vie extrêmement courte. Les radicaux libres les plus nombreux proviennent de l'interaction des particules ionisantes avec les électrons des molécules d'eau selon deux chemins : L'ionisation et l'excitation

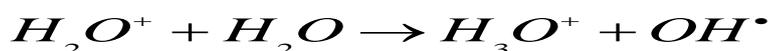
- L'ionisation directe de cette molécule est provoquée par l'arrachement d'un électron orbital selon la réaction:



L'électron éjecté peut avoir suffisamment d'énergie pour ioniser à son tour d'autres molécules d'eau, et si cette énergie est trop faible elle ne va permettre que l'excitation.



L'ionisation aboutit en 10^{-14} secondes à la formation du radical hydroxyl OH^\bullet :



-L'excitation débouche, quand à elle, sur une séparation homolytique de la molécule d'eau en deux radicaux libres H^\bullet et OH^\bullet :



Les radicaux libres formés se combinent, soit pour reconstituer la molécule initiale selon la réaction suivante par effet cage : $A^\bullet + B^\bullet \rightarrow A - B$

-soit pour donner naissance à ce que l'on appelle les produits de radiolyse

Ces réactions sont extrêmement rapides et conduisent finalement à la formation de produits.

A la fin, il y aura formation des molécules stables H_2 , H_2O , H_2O_2 et des radicaux libres ou d'ions radicaux : H^\bullet , $^\bullet OH$, HO_2 , et l'électron hydraté (très réactif).

Le radical H^\bullet et l'électron hydraté sont des réducteurs très puissants comparés à H_2 .

Le radical OH^\bullet est beaucoup plus oxydant que l'eau oxygénée. Sur le plan biologique,

ce radical est le plus actif, il attaque les molécules organiques selon trois mécanismes :

- Soit il arrache un électron ce qui conduit à une ionisation de la molécule cette oxydation est relativement rare.
- Soit il arrache un hydrogène ce qui mène à la rupture d'une liaison C-H.
- Soit il se fixe sur une C=C ou sur un cycle aromatique comme le benzène et ses dérivés

4.2 Effets sur les protéines

Les protéines peuvent subir des coupures au niveau de la liaison peptidique, ce qui conduit à la formation d'une terminaison amide et d'une terminaison carbonyle. Le changement de conformation peut être également observé (Delincée et *al.*, 1983).

Ces dénaturations se traduisent par une accessibilité des protéines pour les enzymes et par une perte de capacité de rétention d'eau et un éventuel durcissement. L'apparition des composés telles que les peroxydes, l'ammonium et l'hydrogène sulfuré sont à l'origine d'odeurs désagréables (Myoungsu et *al.*, 2005).

4.3 Effets sur les glucides

La radiolyse des glucides peut se résumer par une radiolyse des oses (monosaccharides) constitutifs et rupture de liaisons osidiques (polysaccharidique). La réaction principale est due à un groupement hydroxyle au niveau du glucose qui va attaquer la liaison CH en éliminant un atome d'hydrogène et former une molécule H_2O (Alcarde et *al.*, 2003).

Les polysaccharides peuvent être hydrolysés au niveau de la liaison osidique ce qui conduit à une solubilisation partielle des pectines et des celluloses avec l'apparition des sucres réducteurs. En rompant les molécules d'amidon, les rayonnements favorisent l'apparition des molécules de glucoses (sucrose des pommes de terre) (Diehl, 1990).

Ces dégradations sont responsables du ramollissement excessif des fruits, notamment le cas de la fraise.

4.4 Effets sur les lipides

Le rayonnement gamma contribue à l'apparition des odeurs et du goût de rance : ceci est dû à la formation de peroxydes et des hydroperoxydes qui déclenchent des réactions d'oxydation radicalaires, aboutissant ainsi à la formation des composés volatils aldéhydiques et cétoniques. Un aliment riche en lipides polyinsaturés se caractérise par le dégagement d'odeurs désagréables de rance qui apparaissent juste après l'irradiation. (Le Tellier et *al.*, 1972).

4.5 Effets sur les vitamines

La radiosensibilité des vitamines est très variable, elle dépend de la nature de la vitamine mais aussi de la composition chimique du milieu, notamment la présence de l'eau, de l'oxygène et des acides gras insaturés. Il a été démontré que la destruction des vitamines par radio stérilisation était comparable à celle donnée par l'appertisation. L'acide ascorbique, la thiamine et la vitamine K sont les plus sensibles alors que la vitamine B12 est plus radiorésistante (Diehl, 1990).

4.6 Effets sur les enzymes

Les enzymes ne sont inactivées par irradiation qu'à des doses élevées supérieures à 60 kGy, rarement utilisées dans le traitement des denrées alimentaires. C'est pourquoi on associe souvent à l'irradiation un traitement par la chaleur afin d'inactiver les enzymes susceptibles d'altérer le produit au cours du stockage (Rhod et *al.*, 1962).

III -Les salmonelles

1. Caractères généraux

Le genre *Salmonella* qui appartient à la famille des enterobacteriaceae, doit son nom au docteur vétérinaire Salmon, bactériologiste américain du XIX^{ème} siècle. Ce genre, se caractérise par des bacilles à coloration Gram négative non sporulants, la plupart du temps doués d'une mobilité propre grâce à des flagelles péritriches. Ils sont aéro-anaérobie, réduisent les nitrates en nitrites, peuvent utiliser le citrate comme source de carbone fermentant le glucose, mais pas le lactose ni le sucrose et produisent du gaz à partir du glucose.

Comme toutes les bactéries à coloration Gram négative, l'enveloppe des salmonelles est constituée de 3 éléments : La membrane plasmique et la paroi séparées par un espace périplasmique. Cette structure confère aux bactéries sa forme et sa rigidité et lui permet de résister à une pression osmotique relativement élevée dans l'environnement.

2. Nomenclature et classification

Après une analyse comparative des gènes codant pour les ARN ribosomiaux et grâce à des techniques d'hybridation ADN-ADN, il fut proposé que le genre *Salmonella* soit divisé en 2 espèces distinctes : *S. enterica* et *S. bongori*.

En effet *S. enterica* est elle-même subdivisée en 6 sous espèces : *Enterica*, *Salamae*, *Arizona*, *Diarizonae*, *Houtenae* et *Indica* (Grimont et al., 2000). En plus de cette subdivision en espèces et en sous-espèces, actuellement 2541 sérotypes sont reconnus officiellement. Ces différents sérotypes résultent des multiples combinaisons des antigènes somatique O, de nature polysaccharidique, des antigènes flagellaire, de nature protéique et enfin capsulaire. En effet chaque sérotype a été considéré comme une espèce séparée. Ainsi les noms sérovars indiquent soit un syndrome, soit une maladie (typhi, abortus-equi, abortus-ovis, bovismortificans...), soit un hôte de prédilection (gallinarum-pollurum...), soit l'origine géographique de la première souche isolée (london, panama...).

En fait il faut mentionner que 99.8% des souches de *Salmonella* isolées chez l'Homme et les animaux à sang chaud appartiennent à la sous espèce (I). Les sous espèces (II), (III b) sont fréquemment isolées chez les animaux à sang froid et les sous espèces (IV), (V) et (VI), qui sont rares paraissent cantonnées à l'environnement (Le Minor, 1992).

3. Caractères bactériologiques

Les salmonelles sont des entérobactéries, à coloration Gram négative, mobiles, à ciliature péritriche. Elle se distingue essentiellement des autres entérobactéries par leurs caractères biochimiques ainsi que ses caractères antigénique.

3.1 Caractères biochimiques

L'identification des bactéries, est basée en premier lieu sur les caractères biochimiques (Brenner et al., 2000). Les caractéristiques biochimiques de la plupart des sérotypes isolés chez l'Homme et les animaux à sang chaud (type I) sont les suivants (Le Minor, 1992) :

Uréase⁻, TDA⁻, Indole⁻, glucose⁺, Gaz⁺
 H₂S⁺, Lactose⁻, ONPG⁻, Adonitol⁻, LDC⁺
 ODC⁺, Citrate simmons⁺, Gélatinase⁻
 RM⁺, VP⁻

3.2 Caractères antigéniques

On peut distinguer chez les salmonelles, des sous espèces qui sont subdivisés en sérovars. Chaque sérovar est caractérisé par une association de facteurs antigéniques comme les antigènes somatiques (O), les antigènes flagellaires (H) et les antigènes de surfaces (Vi) (Grimonet, 1992).

Antigènes O :

-Ce sont des antigènes de la paroi bactérienne, thermostables, leur spécificité est liée à la structure des lipopolysaccharides de la paroi bactérienne qui peut subir des modifications. Soixante sept facteurs O ont été individualisés et servent pour le diagnostic. Les premiers facteurs furent désignés par les lettres de l'alphabet puis il fut nécessaire de poursuivre les chiffres de 51 à 67 (Popoff, 1992)

Parmi ces facteurs O on distingue :

- ❖ Les facteurs O majeurs : ce sont des facteurs stables et toujours présents.

Les souches qui ont en commun un facteur O majeur, sont classées dans un même groupe .

- ❖ Les facteurs O accessoires : Ils sont soit toujours liés à un facteur O caractéristique du groupe pour plusieurs sérovars en même temps. Ils résultent soit de la modification du polysaccharide lié à la spécificité du facteur O majeur par une enzyme à déterminisme chromosomique. On peut noter que les gènes qui codent pour les différentes parties du lipopolysaccharide sont connus et répertoriés (Pilet et *al.*, 1984).

Antigène H :

-Ce sont des antigènes flagellaires, thermolabiles détruits par l'alcool et insensibles à l'action de formol.

-Pour un même sérotype le facteur H est sous formes différentes.

-Dans une même souche certains bacilles peuvent avoir des antigènes H en phase 1 et d'autre en phase 2 ou bien des antigènes en phase 1 ou en phase 2.

-Ces antigènes sont très spécifiques pour les salmonelles alors que l'antigène O est spécifique aux entérobactéries (Silliker et Gabis et *al.*, 1988)

Antigène d'enveloppe Vi :

-Ces antigènes sont des antigènes de surface de virulence qui n'existent que chez trois sérovars (*S. typhi*, *S. paratyphi C* et *S. dublin*)

-Ces antigènes d'enveloppe peuvent masquer l'antigène O rendant les bactéries « o-inagglutinables », mais le chauffage à 100° de la suspension bactérienne pendant une dizaine de minutes suffit en général à solubiliser l'antigène d'enveloppe.

4 Croissance bactérienne

4.1 Courbe de croissance bactérienne :

Une bactérie déposée sur un milieu nutritif convenable formera une colonie, visible à l'œil nu, mais après 16 à 24 heures, cette croissance s'interrompt. La courbe théorique d'une croissance en milieu non renouvelé représente l'évolution du logarithme du nombre de bactéries par unité de volume en fonction du temps et fait apparaître différentes phases caractéristiques : une phase de latence, une phase d'accélération, une phase de développement exponentielle, une phase stationnaire, une phase de déclin (Figure 4).

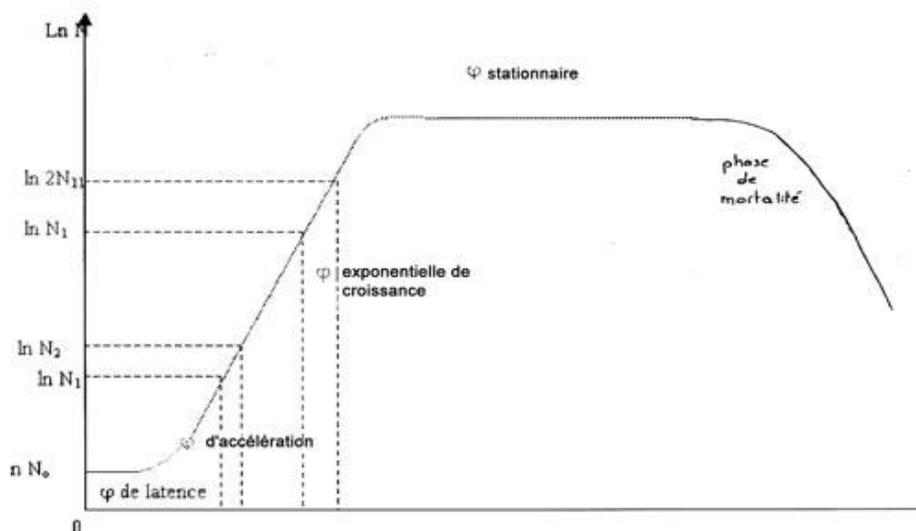


Figure 4: Courbe de croissance bactérienne

4.1.1 La phase de latence

C'est une phase facultative, mais lorsqu'elle existe c'est une période d'adaptation de la bactérie au milieu nutritif proposé et essentiellement à la synthèse des enzymes nécessaires pour métaboliser les nutriments.

Cette phase dépend de l'espèce bactérienne, de la quantité d'inoculum introduit sur le milieu, de l'âge des bactéries et de la composition du milieu.

4.1.2 La phase d'accélération et la phase exponentielle

Durant cette période, le taux de croissance est maximum et constant. Les bactéries se multiplient sans entrave. Le temps de dédoublement des bactéries est le plus court.

La masse cellulaire est représentée par des cellules viables. La mortalité est faible, voire nulle.

4.1.3 La phase stationnaire

La vitesse spécifique de croissance est constante et nulle. Il y a un épuisement du milieu de culture et une accumulation des déchets. La capacité limite du milieu est atteinte.

Les bactéries qui se multiplient compensent celles qui meurent. La vitesse de croissance régresse. Le taux de mortalité annule le taux de croissance.

4.1.4 La phase de déclin

Elle correspond à une période où les bactéries ne se divisent plus, meurent et sont lysées par les enzymes qu'elles libèrent. Le taux de croissance est négatif. Toutes les ressources nutritives sont épuisées, il y a accumulation de métabolites toxiques, il se produit une diminution d'organismes viables et une lyse cellulaire sous l'action des enzymes protéolytiques endogènes. Cependant, il persiste une croissance par libération de substances libérées lors de la lyse (croissance cryptique).

4.1.5 La phase cryptique

Quelques bactéries survivantes entament une nouvelle phase de croissance au dépend des substances nutritives libérées par les cadavres des bactéries dans la colonie. Quand un milieu contient plusieurs substrats alimentaires, on peut observer des phases de croissance décalées. Tout se passe comme si les bactéries utilisaient d'abord un premier substrat, probablement celui qui demande le moins de dépenses (énergie, synthèses enzymatiques, déchets, etc.), puis, une fois ce premier substrat épuisé, entamaient la consommation d'un autre substrat alimentaire. Ce phénomène est appelé diauxie.

4.2 Facteurs de croissance

Salmonella, est une bactérie mésophile : son optimum de croissance est proche de la température corporelle des animaux à sang chaud (35-43°C). La limite de croissance inférieure se situe aux environs de 5° C , il est toutefois généralement admis que la plupart des sérovars ne croissent qu'à partir de 7°C (I.C.M.S.F, 1996 ; Hanes, 2003 ; S.C.V.M.H , 2003)

La thermo- résistance des microorganismes dépend de deux facteurs essentiels. La valeur D indique le temps nécessaire en minute pour obtenir la réduction de 90% du nombre de microorganismes viables. Le deuxième facteur est une valeur exprimée en Celsius et permet de connaître a priori l'effet de l'augmentation de la destruction des bactéries par la chaleur.

Pour *salmonella*, cette valeur est proche de 5°C (Varnam et Evans, 1996) : elle correspond à l'augmentation de la température appliquée afin de diminuer la valeur D (temps) d'un facteur 10.

En dehors de la température, le pH et le degré d'acidité peuvent substantiellement influencer la multiplication de *Salmonella*.

5. Salmonellose

Ce sont des maladies provoquées par des entérobactéries du genre *Salmonella*. Les salmonelles sont toutes potentiellement pathogènes pour l'homme ou les animaux. Certains ne sont pathogènes que pour une espèce.

- *Salmonella paratyphi A* : responsable de la fièvre paratyphoïde rare en France, fréquente en Extrême-Orient, en Asie et en Afrique

- *Salmonella paratyphi B* : responsable de fièvres paratyphoïdes et d'entérites, en Europe et en Asie, maladies moins sévères que la fièvre typhoïde.

- *Salmonella sendai* (Homme) *Salmonella abortus equi* (équidés), *Salmonella abortus ovis* (mouton), *Salmonella Pullorum* et *Salmonella gallinarum* (volaille), *Salmonella typhisuis* (porc).

D'autres s'attaquent à de nombreuses espèces animales. *S. typhimurium* atteint des espèces à sang chaud, notamment les souris. *Salmonella salamae* et *Salmonella arizonae* sont isolés dans l'intestin des animaux à sang froid (serpents, tortues, lézards), chez lesquels elles peuvent provoquer des infections. *Salmonella houtenae* et *Salmonella bongor* sont rarement rencontrées chez les animaux; elles sont exceptionnellement pathogènes pour l'homme.

Elles ne sont pas graves, que dans des conditions très particulières tels que les infections d'origine alimentaire qui se manifestent sous forme de toxi-infection alimentaire collective. La transmission est liée à la consommation d'aliments contaminés d'origine animale et consommée cuits ou peu cuit :

*œufs

*viande (volaille)

*préparation à base d'œufs (mousse au chocolat, pâtisseries, mayonnaise)

Ce type de salmonellose est très rarement causé par fruits ou des légumes frais, du lait ou des produits laitiers. Après incubation de 12 à 72 heure, la maladie se manifeste par gastro-entérite aigue fébrile, apparition brutale de douleur abdominale, de diarrhées, de nausées et de fièvre le plus souvent élevée. La durée des symptômes est de 1 à 7 jours, et la guérison est sans complication.

Objectif du travail

L'irradiation est une méthode largement testée et étudiée depuis les années cinquante (Vasseur, 1991). Son application à des doses bien étudiées préserve les qualités organoleptiques et nutritionnelles, réduit les charges microbiennes, inhibe la germination de certaines plantes et augmente la durée de conservation de plusieurs denrées alimentaires.

Le présent travail est une contribution à l'étude des effets des rayonnements de type gamma sur les caractéristiques physicochimiques et biologiques de l'ail.

Dans ce cadre nous nous sommes intéressés à l'étude de l'effet de l'application de doses allant de 140Gy, 180Gy, 220Gy, et 260Gy, décrites inhibitrice de la germination des bulbes d'ail (*Allium sativum*) sur les propriétés physicochimiques et biologiques de l'ail.

Dans une première partie, nous avons étudié l'effet des rayonnements de type gamma sur les caractéristiques physicochimiques, à savoir la concentration en allicine, polyphénols, protéines, sucres totaux et les sucres réducteurs.

Dans une deuxième partie, nous avons cherché à déterminer l'effet de ces rayonnements gamma sur l'activité biologique de l'ail, en particulier l'activité anti-bactérienne (anti-salmonella), activités enzymatiques et l'activité anti-oxydante.

Matériel
Et
Méthodes

Matériel et méthodes

A- Matériels

1-Matériel végétal utilisé

Au cours de nos manipulations, on a utilisé les bulbes d'*Allium sativum* cultivé à la région de Mateur (Bizerte).

2-Souches bactériennes

Des souches de *salmonella* Hadar isolées et identifiées au laboratoire de surveillance des eaux et des denrées alimentaires de l'institut Pasteur de Tunis ont été utilisées au cours de notre étude.

3-Source d'irradiation

L'unité d'irradiation est constituée d'une cellule d'irradiation abritant la source (Figure 5), d'un labyrinthe, d'une salle de commande, d'un laboratoire de dosimétrie, d'un hall de stockage des produits ionisés et non ionisés et de deux chambres froides.



Figure 5 : La source radioactive Cobalt 60 du CNSTN

La source radioactive télescopique est constituée de deux cylindres coaxiaux contenant chacun 4 crayons de cobalt 60 de 45.2 cm de long. Ces derniers sont disposés et

encapsulés suivant une symétrie axiale (figure 6). Le stockage de cette source se fait à sec dans un container cylindrique constitué d'acier et de plomb permettant aussi son transport.

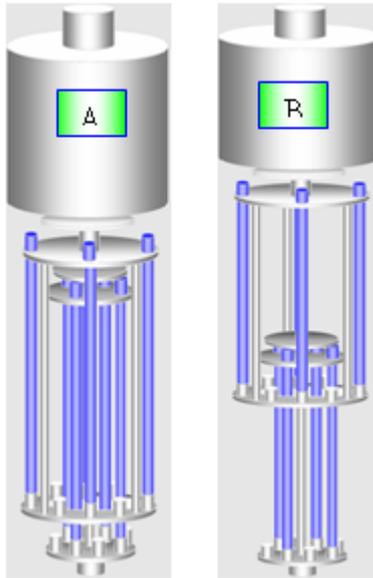


Figure 6: Les différentes positions de la source.

A- La source est active (émettrice de rayonnement dans la cellule)

B- La source est encapsulée dans le container

Pour mesurer la distribution de dose, on a utilisé des dosimètres optiques de Poly Méthyle de Méthacrylate (PMMA), de type Amber Perspex 3042M dont le domaine de dose est compris entre 1 et 30 kGy et la longueur d'onde pour la lecture est de 603 nm ou 651 nm.

La méthode de dépouillement est basée sur le changement d'absorbance du dosimètre mesuré à l'aide d'un spectrophotomètre à une longueur d'onde spécifique.

On a utilisé une chaîne d'analyse et de gestion dosimétrique permettant la lecture des dosimètres à absorption optique. La chaîne est constituée d'un logiciel ADMC, d'un spectrophotomètre Genesys 5 (UV –VIS) et d'une jauge d'épaisseur Käfer MFT 30 couplés à un compatible PC (figure 7). Les interfaces parallèles ou sérielles réalisent l'acquisition directe des paramètres de lecture des dosimètres (Absorbance, Epaisseur).



Figure 7- Chaîne d'analyse et de gestion dosimétrique

4-SYSTEME API ZYM

Le système API ZYM (bioMérieux, France), est une micro-méthode semi-quantitative de recherche d'activités enzymatiques applicable aux bactéries. Il permet d'étudier simultanément 19 systèmes enzymatiques. Il se présente sous la forme d'une galerie de 20 cupules dont le fond est constitué d'un support contenant le substrat enzymatique avec son tampon. Cette méthode ne vise pas à se substituer aux techniques de dosages spectrophotométriques ou de séparations électrophorétiques mais peut les orienter en donnant le spectre d'activités enzymatiques de l'échantillon à analyser.

B- Méthodes

I- Radiotraitement du bulbe d'ail

1. Traitement des bulbes d'*Allium sativum*

Les échantillons sont sous forme des bulbes d'ail à raison de 4 unités (bulbes) pour chaque échantillon et traités à différentes doses d'irradiation (140 Gy, 180 Gy, 220 Gy, 260 Gy) .

Un essai préliminaire de détermination de débit de dose a été effectué.

Débit de dose calculé = **28,3 Gy/minute.**

Temps d'exposition = dose/débit de dose

Ainsi le temps nécessaire pour chaque dose est représenté dans le tableau 4

Tableau 4 - Temps d'exposition des échantillons à différentes doses

Dose (Gy)	Temps (sec)
140	334
180	396
220	497
260	558

2. Préparation de l'extrait à partir des bulbes irradiés

Les bulbes d'ail irradiés sont décortiqués puis pesés et broyés avec de l'eau distillé stérile par un broyeur électrique. L'extrait obtenu est ensuite centrifugé à froid à 5000 rpm pendant 10 minutes. Le surnageant récupéré est filtré (filtre de 0,45 µm) puis conservé à -20°C.

II- Analyses physicochimiques de l'extrait des bulbes après radiotraitement

1- Dosage de l'alicine

Pour le dosage de l'alicine dans l'extrait aqueux d'ail irradié, on a utilisé la méthode développée par Miron *et al.* (2002) et Bakri *et al.* (2005). En effet un volume de 10 µL de l'extrait de l'ail est incubé dans une solution de 1 ml de 4-Mercatopyridine (10M) en présence du tampon phosphate (50mM) et d'EDTA (2mM, pH à 7,2) pendant 30 minutes. Il se forme ainsi le 4-Allylmercaptopyridine (Figure 8) (Miron *et al.*, 2001 ; Bakri *et al.*, 2005).

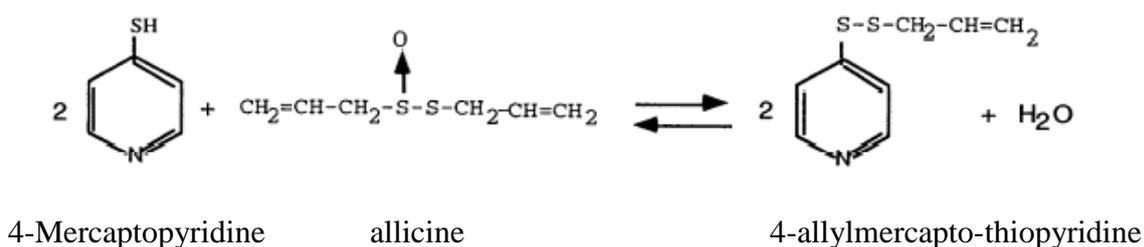


Figure 8 : formation de 4-allylmercapto-thiopyridine (Miron *et al.*, 2002)

Le calcul de la concentration d'extrait aqueux d'ail en alicine se fait selon l'équation suivante (Miron *et al.*, 2001):

$$[\text{Allicine}] = A_{324} * \text{dilution} / \epsilon_M$$

$$A_{324} = [A_{324} (\text{4-Mercaptopyridine sans allicine}) \\ - A_{324} (\text{4-Mercaptopyridine avec allicine})]$$

avec: A_{324} =Absorbance à DO_{324}

ϵ_M = coefficient d'absorption moléculaire= $36.600 \text{ mol}^{-1} \text{ L}^{-1} \text{ cm}^{-1}$.

2. Dosage des protéines

La méthode de Lowry est utilisée pour doser les protéines, cette méthode repose sur une combinaison d'une réaction au biuret à une réaction au réactif de Folin-Ciocalteu. Ce dernier à base de phosphomolybdate et de phosphotungstate, réagit avec les tyrosines et les tryptophanes pour donner une coloration bleue qui s'ajoute à celle du biuret.

Pour cela, on prépare une série de tubes gamme étalon comme l'indique le tableau représenté en annexe. On agite et on attend 10min, puis on rajoute dans chaque tube 0,5 ml de réactif de folin dilué, ensuite on agite et on laisse les tubes à l'obscurité pendant 30min.

Simultanément les échantillons ont été préparés par agitation d'une solution de 10 μ l d'échantillon et 990 μ l d'eau distillée, auquel on ajoute 0,5 ml de réactif de folin dilué et on mesure, à l'aide du spectrophotomètre, la DO de chaque tube à 700 nm (le zéro de l'appareil est réglé à l'aide du tube blanc (B)).

La gamme étalon ainsi réalisée montre que le coefficient de régression de la courbe R^2 est proche de 1 ($R^2 = 0,995$) ; cette courbe (représenté en annexe) est donc utilisée pour déterminer la teneur en protéines des échantillons.

D'après cette courbe nous avons :

$$DO (700\text{nm}) = 0,01 * \text{teneur en protéines } (\mu\text{g } \mu\text{L}^{-1}).$$

3. Méthode de dosage des sucres totaux

Pour déterminer la quantité en sucre totaux, au niveau de nos échantillons, irradiés et non irradiés, on a eu affaire à un protocole, qui consiste à extraire tout d'abord les sucres totaux à partir de l'échantillon selon la méthode illustré par le tableau 5, en se référant à une gamme étalon. (représenté en annexe)

En effet, l'attaque des glucides par l'acide sulfurique 1,5 M et leur neutralisation en présence d'hydroxyde de sodium 10 %, permet de libérer des monosides (sucres simples réducteurs).

L'acide 3,5 dinitrosalicylique, est réduit à chaud par les oses simples pour donner une coloration rouge brune. Cette coloration présente un maximum d'absorption à 540 nm.

3.1 Protocole d'extraction des sucres totaux

Tableau 5 : Préparation de l'échantillon

Masse d'échantillon (g)	0,1
Volume de H₂SO₄ (mL)	10
Chauffage 15 min à 100° avec agitation	
Refroidissement pendant 10 minute	
Addition d'un volume NaOH 10% 5 (mL)	
Homogénéisation, centrifugation à 3500 rpm /min puis filtration	
Récupération de l'échantillon à doser	

3.2 Analyse des échantillons

On récupère les échantillons et on ajoute 0,4 mL eau distillée avant de lire la densité optique à 540 nm.

La gamme étalon ainsi réalisée montre que le coefficient de régression de la courbe R² est proche de 1 (R² = 0,995) ; Cette courbe (représenté en annexe) est donc utilisée pour déterminer la teneur en sucre totaux des échantillons.

D'après cette courbe nous avons : DO (540 nm) = 2 ,572 * teneur sucre totaux (µg µL⁻¹)

4. Dosage des sucres réducteurs

La méthode à la DNS est utilisée pour le dosage des sucres réducteurs dans l'extrait aqueux d'ail.

En effet en présence de sucres réducteurs et à chaud l'acide 3,5 dinitrosalicylique (DNS) est réduit en acide 3-amino-5 nitrosalicylique (forme réduite).

Le dosage des sucres réducteurs est effectué à une longueur d'onde de 540nm en se référant à une gamme étalon préparée à partir d'une solution mère de glucose de concentration 1mg /ml (Tableau représenté en annexe).

Dans un tube à essai nous avons mis 0.1mL d'hydrolysate à analyser puis on a ajouté 0.5 ml du réactif DNS. Ensuite tous les tubes sont chauffés dans un bain marie bouillant pendant 15mn, pour favoriser la réaction entre sucres réducteurs et le DNS, et avant de lire la DO à 540nm on complète à 10 mL avec de l'eau distillée

La gamme ainsi réalisée montre un coefficient R^2 proche de 1, d'où elle est fiable pour un usage ultérieur. En se référant à cette gamme (courbe d'étalonnage en annexe) nous avons déterminé la teneur en sucres réducteurs selon l'équation suivant :

$$[\text{Sucres réducteurs}] = \text{DO}_{540} / 1,38$$

5. Dosage des triglycérides

Les triglycérides (TG) sont des lipides complexes; une molécule de TG est composée d'une molécule de glycérol et de trois molécules d'acides gras (AG).

Toutes les matières grasses d'origine alimentaires sont composées majoritairement de TG.

La quantité en triglycéride qui existe dans les échantillons d'ail irradiés et non irradiés, a été déterminée d'après la méthode illustrée dans le tableau représenté en annexe.

Après préparation des mélanges réactionnels, on lit la DO à 505 nm, après avoir laissé reposer pendant 10 min à température ambiante (20-25°C), la coloration est stable pendant 30 min.

La gamme ainsi réalisée montre un coefficient R^2 proche de 1 d'où elle est fiable pour un usage ultérieur.

D'après cette courbe nous avons : $\text{DO} (505 \text{ nm}) = 0,046 * \text{teneur en triglycérides} (\mu\text{g } \mu\text{L}^{-1})$. En se référant à cette gamme nous avons déterminé la teneur en triglycérides en utilisant l'équation suivant :

$$[\text{Triglycérides}] = \text{DO}_{505} / 0,046$$

6. Dosage des polyphénols

Afin de doser la quantité en polyphénols présente au niveau de l'extrait irradié de l'ail, on a utilisé la méthode développée par Feldman *et al.* (1968).

En effet, l'ensemble des composés phénoliques est oxydé par le réactif de Folin-Ciocalteu.

Ce dernier est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($\text{H}_3\text{PMo}_{12}\text{O}_{40}$) qui est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en mélange d'oxydes bleus de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (Mo_8O_{23}).

La coloration bleue produite possède une absorption maximale aux environs de 725 nm. Elle est proportionnelle au taux de composés phénoliques.

La méthode de Folin permet d'estimer les quantités des polyphénols (dans l'échantillon) par rapport à une gamme étalon utilisant un polyphénol standard de référence (catéchol).

On prépare en premier lieu la solution de catéchol standard de concentration 0,1µg/ml, une solution de Folin 10% et une solution de sel ($\text{Na}_2\text{CO}_3=7,5\%$) et on prépare une gamme étalon selon le protocole indiqué dans le tableau représenté en annexe, ensuite on prépare nos échantillons à doser et finalement on lit la DO à 725nm.

La courbe d'étalonnage (mise en annexe) est utilisée pour déterminer la teneur en polyphénols des échantillons analysés.

$$\text{Teneur en polyphénols (g / 100g)} = \text{DO (725 nm)} / 126,65$$

7. Dosage de pouvoir anti-oxydant

7.1 Principe de réduction du DPPH°

Le radical DPPH° (2,2-diphényl-1-picryl-hydrazyl) est stable à température ordinaire et présente une couleur rose-violacée bien caractéristique (Figure 9). Les antioxydants présents dans l'échantillon le réduisent, ce qui entraîne une décoloration facilement mesurable par spectrophotométrie à 517 nm. La méthode est généralement standardisée par rapport à un antioxydant standard : le TROLOX. (Hyong-PaSong *et al.*, 2006).

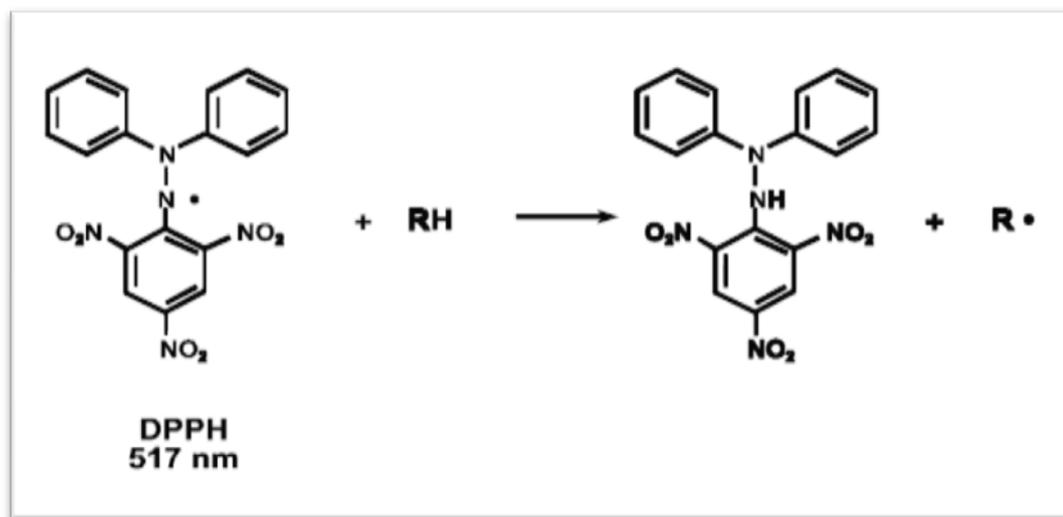


Figure 9 : Principe de la réduction du radical DPPH°

7.2 Détermination du pourcentage d'inhibition des échantillons

Pour le dosage du pourcentage d'inhibition des échantillons (extraits phénoliques), on suit le protocole décrit par le tableau 6.

Tableau 6 : Détermination du pourcentage d'inhibition du DPPH

Tube	Témoin	140Gy	180Gy	220Gy	260Gy
Echantillon (µL)	25	25	25	25	25
DPPH 0,04 mM (µL)				1000	
Laisser 1 heure à l'obscurité à température ambiante					
Lire la DO à 517 nm					

On a utilisé comme blanc, pour régler le zéro de spectrophotomètre, un tube contenant 1mL de méthanol.

7.3 Dosage de l'équivalent Trolox des échantillons

Afin de déterminer l'équivalent Trolox, on a adopté le protocole décrit dans le tableau 7.

Tableau 7: Equivalent Trolox ; méthode au DPPH

Tubes	1	2	3	4	5	Bianco	Blanc
Trolox : 25 µL	0.05 mM	0.1 mM	0.2 mM	0.4 mM	0.8 mM	0	-
Méthanol (µL)	-	-	-	-	-	25	1000
DPPH 0.04 mM (µL)				1000			-
Laisser 1 heure à l'obscurité à température ambiante							
Lire la DO à 517 nm							

La gamme ainsi réalisé montre R^2 est proche de 1 d'où elle est fiable pour un usage ultérieur.

Cette courbe (représentée en annexe) est donc utilisée pour déterminer l'équivalent Trolox des échantillons.

$$\text{Pourcentage d'inhibition (\%)} = 217,78 * [\text{Trolox}] \text{ (mM)}.$$

8. Analyse par RP-HPLC des polyphénols (la chromatographie liquide à haute performance en phase inverse) :

La chromatographie liquide à haute performance, est une technique de séparation et d'analyse quantitative et qualitative des molécules, elle fait intervenir les différentes caractéristiques des molécules telles que la polarité, l'hydrophobicité, affinité...

La séparation se fait selon un gradient adapté pour chaque type d'analyse. La séparation des molécules phénoliques est basée sur leurs caractères hydrophobes/hydrophile. Pour cette raison on a utilisé une colonne C18 (SUPELCO).

La phase mobile est constituée par deux solutions A et B, respectivement un mélange eau-acide formique (19v-1v) et le méthanol.

Le gradient utilisé est optimisé pour permettre une meilleure séparation des pics.

Après plusieurs tentatives, nous avons retenu le gradient suivant : un RUN commence par une phase à 50% B pour une durée de 5 min, puis atteint 60% pendant 5 min, demeure à 60 % pendant 5 min et atteint 100% B pendant 10 min. Pour boucler le cycle, on passe à 5% B pendant 5 min.

-HPLC : (BECKMAN) système gold.

-La détection est réalisée par un détecteur (UV) à 280 nm.

-Le débit de la phase mobile est 1ml /min.

-Le volume d'injection est 20µl.

III Etude de l'effet de l'irradiation sur les activités biologique de l'ail

1. Etude sur l'activité anti-bactérienne

Culture en milieu liquide

Les bactéries ont été cultivés sur bouillon nutritif liquide (Pronadisa, Hispanlab) composé de peptone de gélatine (5g/l) et d'extrait de viande (3g/l).

Des précultures sont réalisées par ensemencement, dans un tube contenant 10ml de milieu stérile, de quelque paillette de bactéries congelées (15% glycérol). L'incubation est effectuée pendant une nuit à 37°C sous agitation.

1.2 Traitement de *salmonella* Hadar par l'extrait d'ail

La suspension bactérienne (50ml) d'une DO initiale de 0,05 a été traitée par l'extrait d'ail à des concentrations de 12, 13 et 14 mg/ml puis placée dans un bain marie thermostaté à 37°C sous agitation.

1.3 Cinétique bactérienne

La cinétique bactérienne est estimée par la mesure de la turbidité à l'aide d'un spectrophotomètre à DO_{600nm}. Les échantillons sont prélevés stérilement chaque heure et la DO est mesurée extemporanément.

2. Détermination de CMI et de la CMB

La détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) a été réalisée sur des cultures denses de salmonelles. Les tubes de 50mL de bouillon nutritif sont ensemencés avec 50µL de la culture bactérienne. L'extrait aqueux d'ail est ajouté à des concentrations

allant de 8 à 15mg mL⁻¹ à un intervalle de 0,5mg mL⁻¹. Les tubes sont ensuite incubés à 37°C sous agitation. Un tube sans extrait d'ail est utilisé comme témoin.

Après une nuit d'incubation, la croissance dans les tubes est contrôlée visuellement par la présence d'un trouble.

La (CMI) est celle du premier tube dans lequel on a observé une inhibition de la croissance (Bakri *et al.*, 2005).

La concentration minimale bactéricide (CMB) est déterminé par la recherche de la CMI, la technique consiste à ensemencé sur milieu gélosé dépourvu d'extrait aqueux d'ail, 20µL de tous les tubes ne présentant pas une croissance visible et à dénombrer les bactéries survivantes (Bakri *et al.*, 2005).

Ce nombre est comparé au nombre de bactérie initialement présentes dans l'inoculum.

3. Etude de l'effet de l'extrait des bulbes d'ail irradiés sur les activités enzymatiques bactériennes

Deux gouttes de la suspension bactérienne, ont été prélevés à une DONm de 0,7 et ajoutées dans des cupules contenant les substrats déshydratés d'enzymes. Les galeries sont incubées pendant 3heures à 37°C. L'addition de l'inoculum réhydrate les substrats et initie les réactions. Une atmosphère humide est fournie pendant l'incubation en distribuant approximativement 5ml d'eau distillée dans le plateau d'incubation équipé de la galerie d'enzymes.

La révélation des réactions est effectué après incubation par addition d'une goutte de réactif ZYMA (25gTris hydroxyméthyl- aminométhane, 11 ml Acides chlorhydrique à 37%, 10g Laurylsulfate Na,10ml H₂O) et la couleur est développe par addition d'une goutte de réactif, ZYM B (0,35 g Fast Blue BB, 100 ml 2-méthoxy éthanol). Une exposition prolongée (une dizaine de minutes) à la lumière solaire est effectuée afin d'éliminer le fond jaune dû à l'excès de Fast Blue BB et de rendre ainsi les réactions négatives incolores.

L'activité est mesurée en comparant la couleur développée en 5 minutes au tableau de lecture fourni par le fabricant (tableau de lecture en annexe) et exprimée sur une échelle de 0 (réaction négative) à 5 (réaction d'activité maximum).

IV- Test statistique

Au cours de notre travail, on a utilisé deux méthodes d'études statistiques :

Le test Anova (en cas d'homogénéité des variances), a été utilisé pour mettre en évidence une différence significative globale entre les différentes séries.

Le test de (Wilcoxon-) **Mann-Whitney**, est un test non paramétrique d'identité portant sur deux échantillons indépendants issus de variables numériques ou ordinales.

Résultats

Résultats

I- Effets de l'irradiation sur les caractères physico-chimiques du bulbe d'ail

Afin de déterminer l'effet de l'irradiation sur les caractères physico-chimiques des bulbes d'ail irradié, des bulbes ont été exposés aux radiations gamma à des doses de 140 Gy, 180 Gy et 220 Gy et 260 Gy tel que décrit dans le chapitre matériel et méthodes. Des bulbes non irradié ont servi de témoin.

1. Effets de l'irradiation sur la concentration en allicine

Le dosage de l'allicine a été effectué par spectrophotométrie selon la méthode décrite par Miron *et al.* (2001). Les valeurs présentées sur les histogrammes sont les moyennes obtenues accompagnées de l'erreur moyenne standard (SEM).

La figure 10, montre une diminution de la concentration en allicine en fonction de la dose de radiation devenant significative ($p < 0,05$) pour une dose de 260 Gy. La concentration passant de $592 \mu\text{g mL}^{-1}$ pour le témoin à $521 \mu\text{g mL}^{-1}$ pour le bulbe irradié à 260Gy.

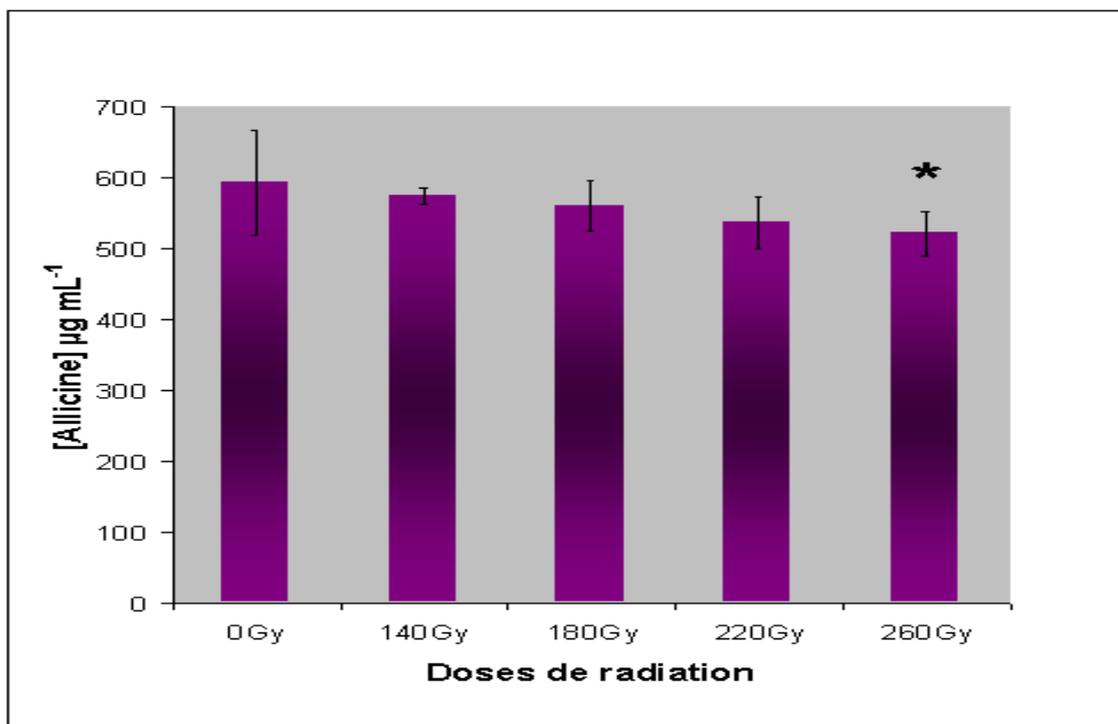


Figure 10 : Effet de l'irradiation sur la concentration du bulbe d'ail en allicine. Des bulbes d'ail ont été exposés aux radiations gamma à des doses de 140 Gy, 180 Gy, 220 et 260 Gy. Des bulbes non irradié (0 Gy) a servi de témoin.

2. Effets de l'irradiation sur la concentration en protéines

Le dosage des protéines a été effectué par spectrophotométrie selon la méthode de Lowry. Les valeurs obtenues sont présentées sur les histogrammes qui représentent les moyennes obtenues accompagnées de l'erreur moyenne standard (SEM).

La figure 11, montre une diminution non significative de la concentration en protéines en fonction de la dose d'irradiation.

La concentration passe de $2,61 \mu\text{g } \mu\text{L}^{-1}$ pour le bulbe non irradié à $1,77 \mu\text{g } \mu\text{L}^{-1}$ pour les bulbes irradié à une dose 260Gy.

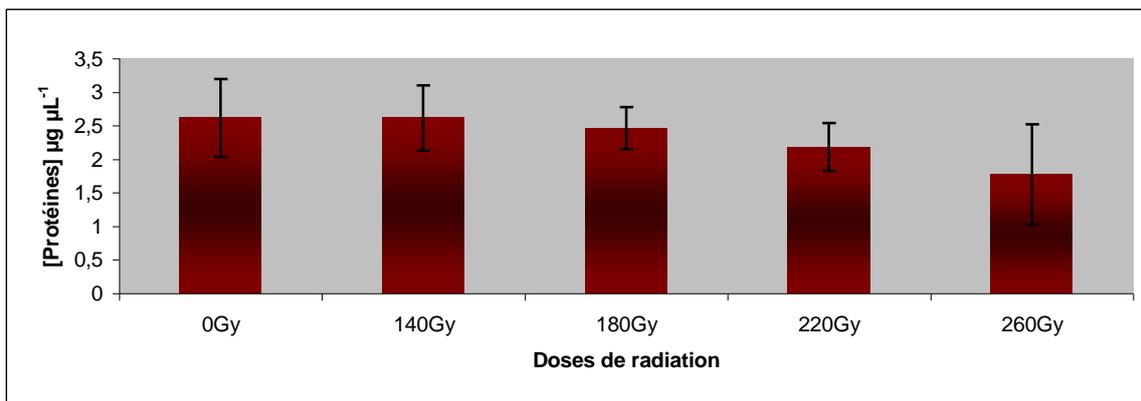


Figure 11 : Effets de l'irradiation sur la concentration du bulbe d'ail en protéines.

Des bulbes d'ail ont été exposés aux radiations gamma à des doses de 140 Gy, 180 Gy, 220 et 260 Gy. Des bulbes non irradié (0 Gy) a servi de témoin

3. Effets de l'irradiation sur la concentration en sucres

3.1 Effets sur les sucres totaux

Le dosage des sucres totaux a été effectué par spectrophotométrie selon la méthode décrite dans le chapitre matériel et méthodes. Les valeurs présentées sur les histogrammes sont les moyennes obtenues accompagnées de l'erreur moyenne standard (SEM).

La figure 12, montre une légère diminution de la concentration en sucres totaux en fonction de la dose d'irradiation.

La concentration passant de $0,0076 \mu\text{g } \mu\text{L}^{-1}$ pour le bulbe non irradié à $0,0073 \mu\text{g } \mu\text{L}^{-1}$ pour la dose 260Gy.

L'application du test non paramétrique U de Mann-Whitny a montré que ces variations n'étaient pas significatives.

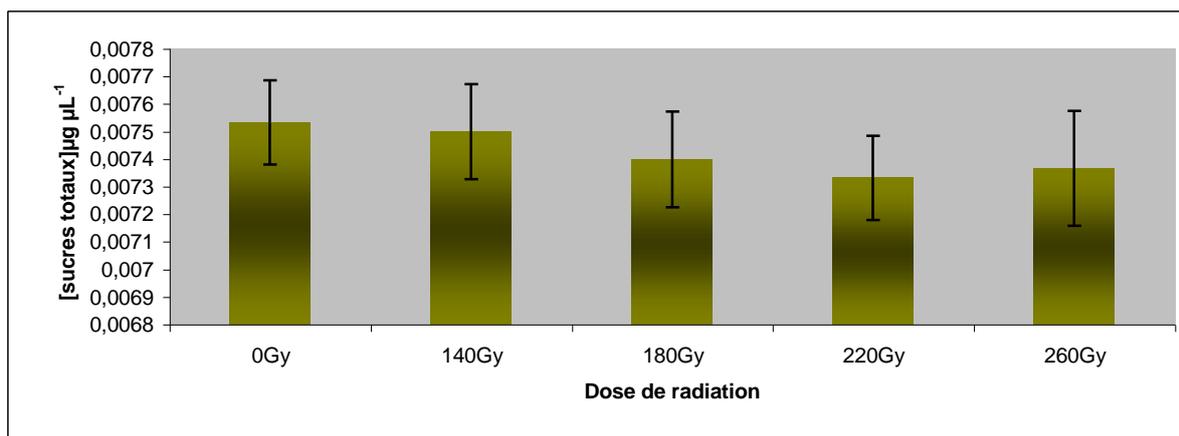


Figure 12 : Effet de l'irradiation sur la concentration du bulbe d'ail en sucres totaux

Des bulbes d'ail ont été exposés aux radiations gamma à des doses de 140 Gy, 180 Gy, 220Gy et 260 Gy. Des bulbes non irradiés (0 Gy) ont servi de témoin.

3. 2 Effets sur les sucres réducteurs

Le dosage des sucres réducteurs a été effectué par spectrophotométrie selon la méthode décrite dans le chapitre matériel et méthodes. Les valeurs présentées sur les histogrammes sont les moyennes obtenues accompagnées de l'erreur moyenne standard (SEM).

La figure 13, montre une diminution de la concentration en sucres réducteurs. En effet pour 140 Gy la concentration des sucres réducteurs est de $0,0306 \mu\text{g } \mu\text{L}^{-1}$, et on a marqué ensuite une augmentation de la concentration en fait la concentration est de $0,033 \mu\text{g } \mu\text{L}^{-1}$ pour la dose de 260 Gy.

L'application du test U non paramétrique de Mann-Whitny a montré que ces variations n'étaient pas significatives.

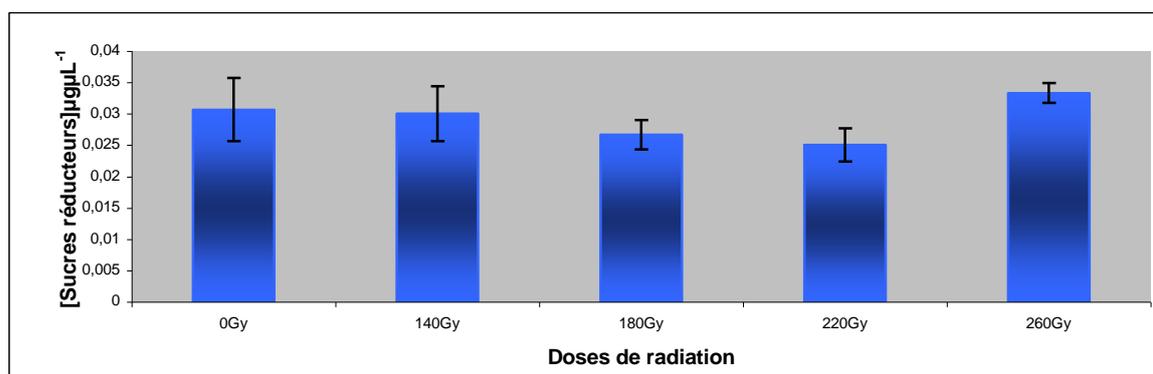


Figure 14 : Effet de l'irradiation sur la concentration du bulbe d'ail en sucres réducteurs. Des bulbes d'ail ont été exposés aux radiations gamma à des doses de 140 Gy, 180 Gy, 220 et 260 Gy. Des bulbes non irradié (0 Gy) a servi de témoin.

4. Effets de l'irradiation sur les triglycérides

Le dosage de triglycérides a été effectué par spectrophotométrie selon la méthode décrite dans le chapitre matériel et méthodes.

La figure 15, montre une légère diminution de la concentration en triglycérides en fonction de la dose de radiation et pour la dose de 260Gy on note une légère augmentation.

En effet, on note que la concentration de TAG passe de $0,00754 \mu\text{g}\mu\text{L}^{-1}$ pour le bulbe non irradié à $0,00736\mu\text{g}\mu\text{L}^{-1}$ pour le bulbe irradié à une dose de 260 Gy.

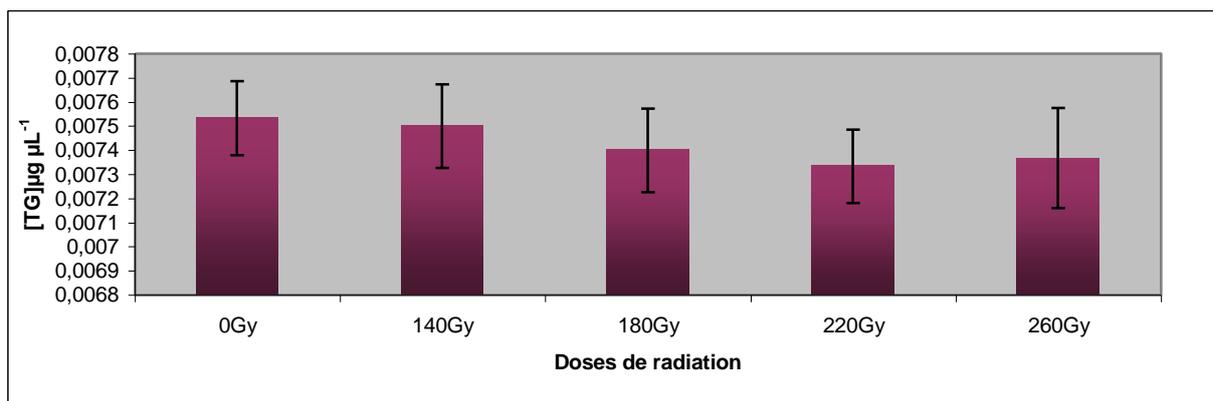


Figure15 : Effet de l'irradiation sur la concentration du bulbe d'ail en triglycérides.

Des bulbes d'ail ont été exposés aux radiations gamma à des doses de 140 Gy, 180 Gy, 220Gy et 260 Gy. Des bulbes non irradié (0 Gy) a servi de témoin.

5. Effets de l'irradiation sur la concentration en polyphénols

Le dosage des polyphénols a été effectué par spectrophotométrie selon la méthode de Folin Ciocalteu's, tel que décrit dans le chapitre matériel et méthodes.

Les valeurs présentées sur les histogrammes sont les moyennes obtenues accompagnées de l'erreur moyenne standard (SEM).

La figure 16, montre une diminution de la concentration en polyphénols en fonction de la dose de radiation devenant significative ($p < 0,05$) pour les doses de 220 et 260 Gy. La concentration passant de $0,5 \text{ mg mL}^{-1}$ pour le bulbe non irradié à $0,17 \text{ mg mL}^{-1}$ pour le bulbe irradié à une dose de 260Gy

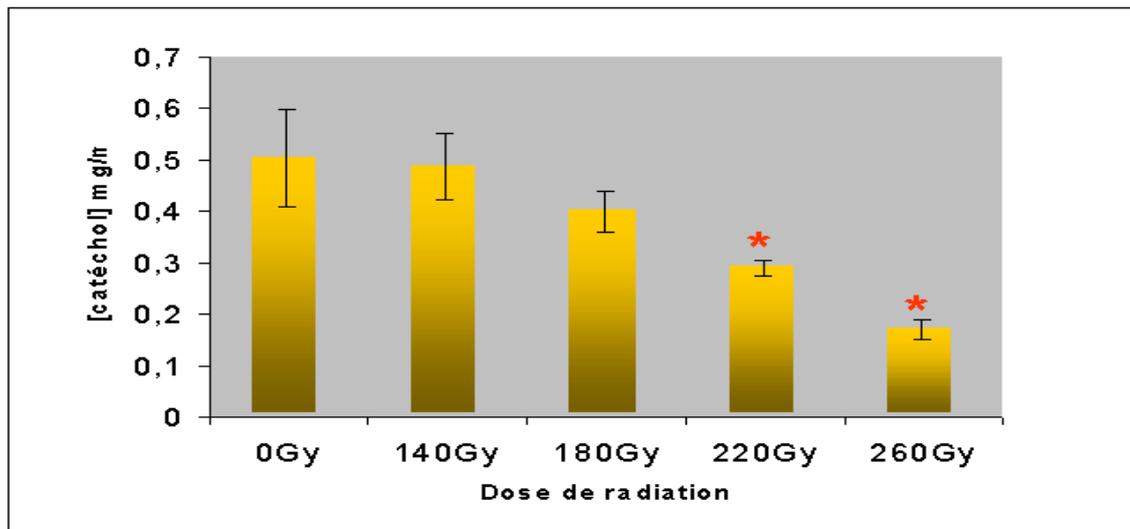


Figure16 : Effet de l'irradiation sur la concentration du bulbe en polyphénols.

Des bulbes d'ail ont été exposés aux radiations gamma à des doses de 140 Gy, 180 Gy, 220Gy et 260 Gy. Des bulbes non irradié (0 Gy) a servi de témoin.

6. Effet sur le pouvoir antioxydant

Afin de déterminer l'effet de l'irradiation sur le pouvoir antioxydant des bulbes d'ail, deux méthodes ont été utilisées :

6.1 La réduction du DPPH°

Afin d'évaluer le pouvoir antioxydant des extraits obtenus à partir des bulbes, le pourcentage d'inhibition de l'effet oxydatif du DPPH° a été déterminé.

Comme le montre la figure 17, on observe une diminution du pourcentage d'inhibition en fonction de la dose de radiation. Le pourcentage d'inhibition passant de 12,02% pour le bulbe non irradié à 2,94% pour le bulbe irradié à une dose de 260 Gy.

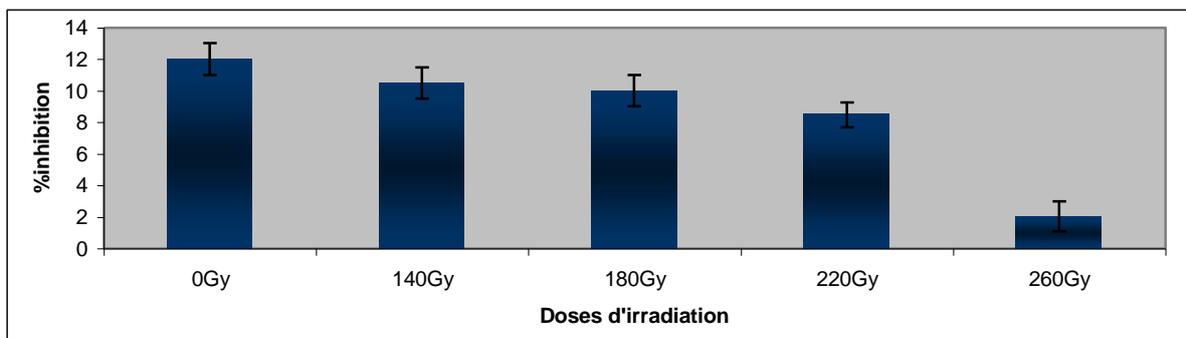


Figure 17 : Effets de l'irradiation sur le pourcentage d'inhibition des extraits de bulbes irradiés vis-à-vis du DPPH

6.2 Equivalent Trolox

Pour déterminer la concentration des bulbes d'ail en équivalent Trolox (Antioxydant de référence), nous avons effectué un dosage par spectrophotométrie selon la méthode décrite dans le chapitre matériel et méthodes.

Comme le montre la figure 18, on observe une diminution de la concentration en équivalent Trolox en fonction de la dose de radiation. La concentration en équivalent Trolox passant de $0,054 \mu\text{g } \mu\text{L}^{-1}$ pour le bulbe non irradié à $0,013 \mu\text{g } \mu\text{L}^{-1}$ pour le bulbe irradié à une dose de 260 Gy.

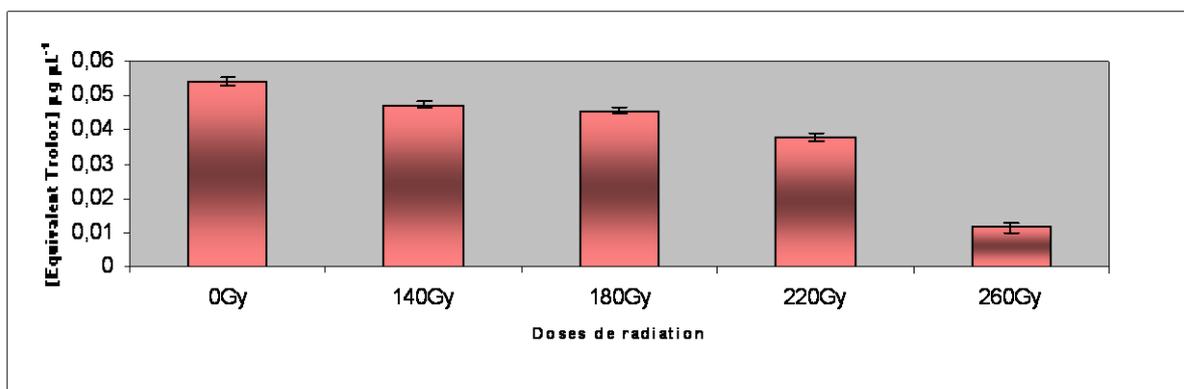


Figure 18: Effets de l'irradiation sur l'équivalent Trolox des extraits de bulbes irradiés

7. Effet de l'irradiation sur la composition biochimique en polyphénols

Après avoir mis en évidence les variations des teneurs en polyphénols totaux, du pouvoir antioxydant, nous nous sommes proposés d'analyser la composition biochimique de l'extrait d'ail en polyphénols.

Pour cela, les extraits phénoliques ont été analysés par la RP-HPLC ou HPLC en phase inverse. Les chromatogrammes sont portés en Annexe. Une illustration est apportée par les figures 19 et 20.

L'analyse des différents chromatogrammes, a permis d'enregistrer un seul pic correspondant à un seul flavonoïde. Les tableaux 8 et 9 résument les caractéristiques de ces pics en terme de présence/ absence, et aire relative (rapportée aux aires totales des différents pics d'un même chromatogramme). Les variations enregistrées sont étroitement corrélées à l'analyse des polyphénols totaux par la méthode au Folin-Ciocalteu avec de faibles différences dues aux sensibilités des deux techniques (Tableau 10).

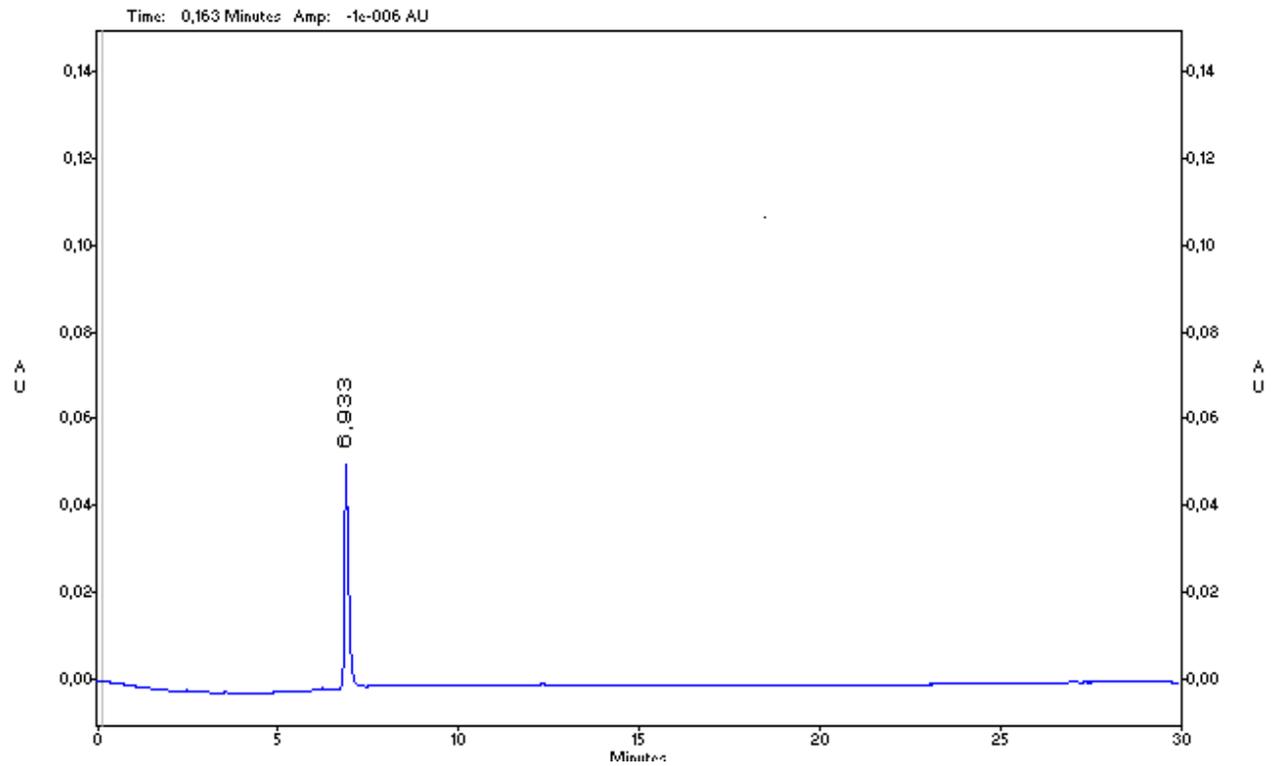


Figure 19: chromatogramme des polyphénols d'*Allium sativum* non irradié

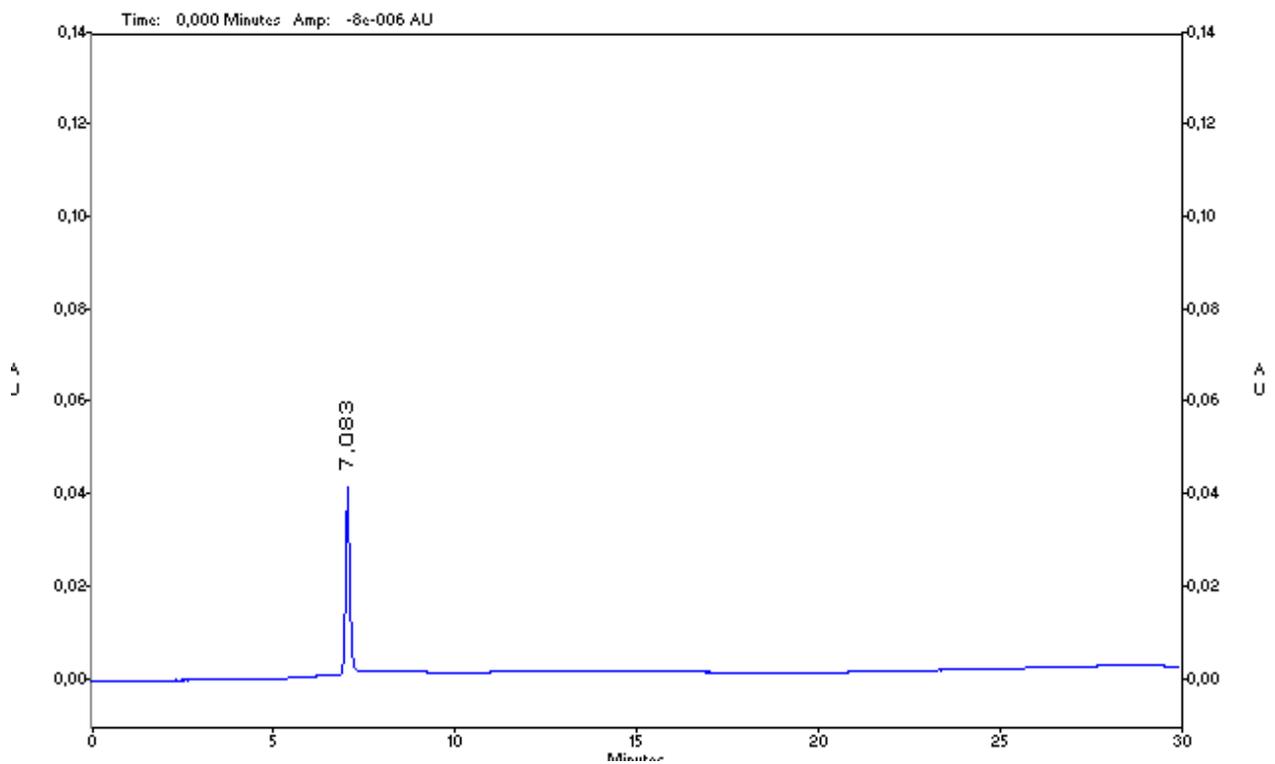


Figure 20: Chromatogramme des polyphénols d'*Allium sativum* irradié à 260Gy

Tableau 8: Temps de rétention (RT) des différents pics visés dans chaque dose d'irradiation (en minute).

Doses d'irradiation	0Gy	140Gy	180Gy	220Gy	260Gy
Temps de rétention	6,93	6,93	6,97	7,054	7,083

Tableau 9: Aire relative de chaque pic en pourcentage (%)

Doses D'irradiation	0Gy	140Gy	180Gy	220Gy	260Gy
Aire (%)	89,701	88,765	77,569	73,338	50,558

Le temps de rétention caractérise qualitativement les substances. L'amplitude de ces pics ou l'aire limitée par ces pics permet de mesurer la concentration de chaque soluté dans le mélange injecté.

Tableau 10: Equivalence entre la teneur en polyphénols totaux (selon la méthode de Folin-Ciocalteu) et l'aire absolue (totale) des pics HPLC

Dose (Gy)	% d'aire absolue totale des pics	Teneur en polyphénols g/100g (Folin-Ciocalteu)
0	89,70	0,5
140	88,76	0,49
180	77,56	0,40
220	73,33	0,28
260	50,55	0,17

La diminution de la quantité des polyphénols, est significative ($p < 0,05$) pour les doses 220 Gy et 260Gy.

Pour l'identification de flavonoïde présent dans l'extrait des bulbes d'ail traités et non traités, le spectre UV d'absorption de l'échantillon a été établi (Figure 21).

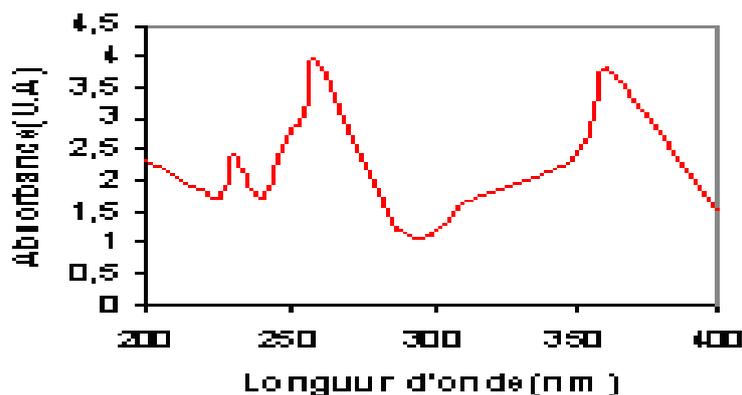


Figure 21 : Spectre UV d'absorption des molécules séparées par HPLC

II. Effet de l'extrait du bulbe irradié sur l'activité anti-bactérienne

1- Effet sur la croissance de *Salmonella* Hadar

Afin de déterminer l'effet de l'extrait aqueux d'ail irradié sur la croissance de *Salmonella* Hadar, des extraits ont été exposés aux radiations gamma à des doses de 140 Gy, 180 Gy et 260 Gy, tel que décrit dans le chapitre matériel et méthodes. Une analyse de l'effet de l'extrait d'ail non irradié sur la croissance a aussi été effectuée.

L'inoculum de *Salmonella* Hadar, a été préparé par ensemencement d'une pré culture dans 50 mL de milieu nutritif, de manière à obtenir une $DO_{600\text{ nm}}$ initiale voisine de 0,05.

A chaque suspension bactérienne un volume approprié d'extrait aqueux des bulbes d'ail irradiés est ajouté de façon à obtenir les concentrations adéquates. Pour le suivi de la biomasse, des mesures de la $DO_{600\text{ nm}}$ ont été effectuées sur des échantillons prélevés chaque heure durant 12 heures. Les mesures ont été portées sur des courbes exprimant la $DO_{600\text{ nm}}$ en fonction du temps.

Des tests préliminaires ont été effectués sur des concentrations d'extrait aqueux des bulbes d'ail irradiés inférieures à 12 mg mL^{-1} et aucun effet n'a été observé. De ce fait, nous avons utilisé des concentrations de 12, 13 et 14 mg mL^{-1} pour étudier l'effet d'extrait aqueux d'ail sur la croissance bactérienne de *Salmonella* Hadar. Un inoculum témoin a été traité de la même manière mais en absence d'extrait aqueux des bulbes d'ail irradiés. Il a servi à l'établissement de la courbe témoin de la croissance bactérienne. Les analyses ont été reproduites trois fois et la reproductibilité des résultats a été vérifiée.

Les valeurs utilisées pour établir les courbes sont les moyennes des trois mesures spectrophotométriques. Une analyse de l'effet de l'extrait des bulbes d'ail non irradiés sur la croissance a aussi été effectuée.

Les mesures ont été portées sur des courbes exprimant la $DO_{600\text{ nm}}$ en fonction du temps.

1-1-Effet de l'extrait aqueux du bulbe d'ail non irradié (0 Gy) sur la croissance

La figure 22, montre que l'addition d'extrait aqueux des bulbes d'ail à une concentration de 12 mg/ml ($177,6 \mu\text{g mL}^{-1}$ d'allicine) à une culture de *Salmonella* Hadar inhibe la croissance cellulaire. Cette inhibition est marquée par une phase de latence qui dure approximativement 3 heures. Les variations observées sont significatives ($p < 0,05$).

Après cette phase d'inhibition, la croissance logarithmique reprend mais à un taux de croissance inférieur à celle des bactéries témoins. A cette concentration, la culture bactérienne traitée par l'extrait aqueux des bulbes d'ail entre en phase stationnaire à une densité de cellules sensiblement inférieure à celle de la culture des bactéries témoins.

L'effet inhibiteur de l'extrait aqueux des bulbes d'ail est d'autant plus important que sa concentration augmente. Ainsi, la durée de la phase d'inhibition passe de 360mn en présence de 13 mg mL^{-1} à 420mn en présence de 14 mg mL^{-1} ($296,500 \mu\text{g mL}^{-1}$ d'allicine).

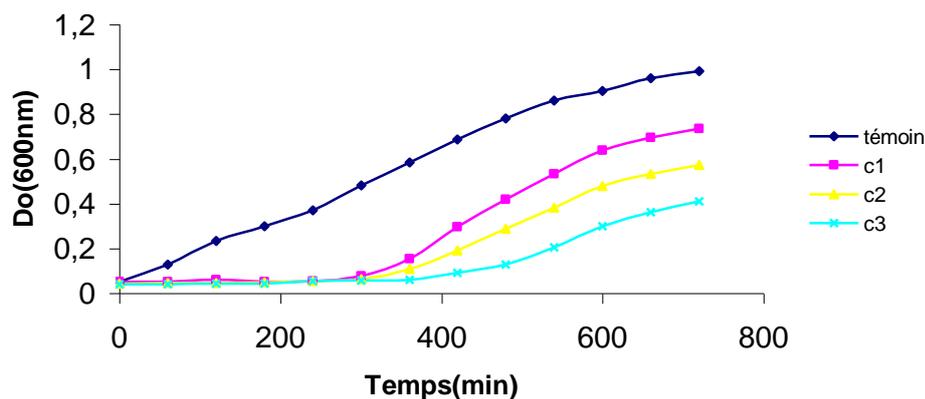


Figure 22: Effet de l'extrait aqueux du bulbe d'ail non irradié (0Gy) sur la croissance de *Salmonella* Hadar

La croissance cellulaire a été suivie au cours du traitement des cellules avec l'extrait aqueux d'ail (T : inoculum témoin, C1 = 12 mg mL^{-1} , C2 = 13 mg mL^{-1} , C3 = 14 mg mL^{-1}).

L'application du test statistique "Anova" a montré que les variations observées en présence des trois concentrations d'extrait d'ail sur la croissance bactérienne sont significatives.

1-2- Effet de l'extrait aqueux du bulbe d'ail irradié à 140 Gy sur la croissance

La figure 23, montre que l'addition d'extrait aqueux des bulbe d'ail irradié à une concentration de 12 mg mL^{-1} ($171,900 \mu\text{g mL}^{-1}$ d'allicine) à une culture de *Salmonella* Hadar

inhibe la croissance cellulaire. Cette inhibition est observée au cours de la phase de latence qui dure approximativement 3 heures. Les variations observées sont significatives ($p < 0,05$).

Après cette phase d'inhibition, la croissance logarithmique reprend mais à un taux de croissance inférieur à celle des bactéries témoins. A cette concentration, la culture bactérienne traitée par l'extrait aqueux d'ail entre en phase stationnaire à une densité de cellules sensiblement inférieure à celle de la culture des bactéries témoin.

L'effet inhibiteur de l'extrait aqueux d'ail traité est d'autant plus important que la concentration augmente. Ainsi, la durée de la phase d'inhibition passe de 180mn en présence de 13mg mL^{-1} à 240 mn en présence de 14mg mL^{-1} ($112\ \mu\text{g mL}^{-1}$ d'allicine).

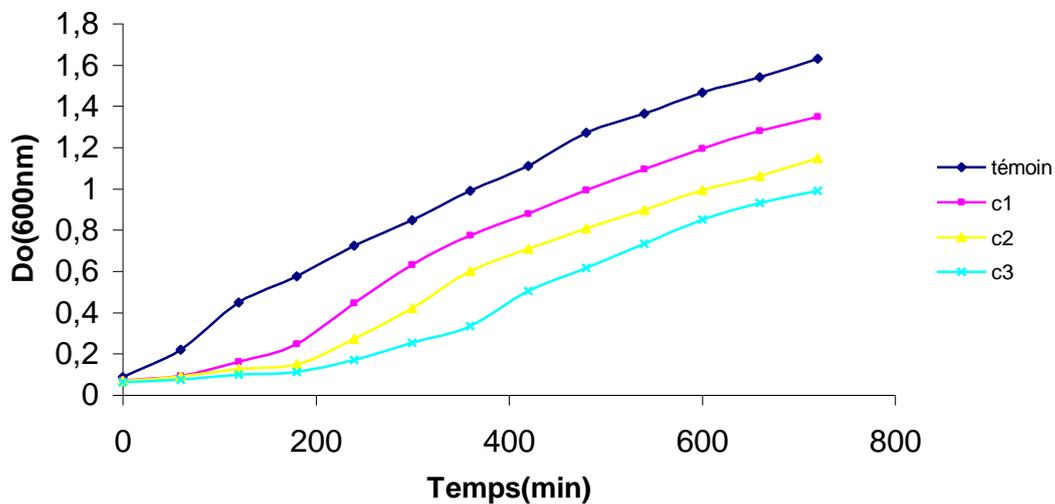


Figure 23 : Effet de l'extrait aqueux du bulbe d'ail irradié (140Gy) sur la croissance de *Salmonella Hadar*. (La croissance cellulaire a été suivie au cours du traitement des cellules avec l'extrait aqueux d'ail (T : inoculum témoin, C1 = 12mg mL^{-1} , C2 = 13mg mL^{-1} , C3 = 14mg mL^{-1})

L'application du test Anova a montré que les variations observées pour les trois concentrations par rapport au témoin sont significatives en tout point de la courbe ($p < 0,05$), sauf pour les deux premières heures qui correspondent au temps de latence de la culture témoin.

La comparaison des courbes de croissances (Figure 22 et 23) des bactéries traitées par un extrait du bulbe d'ail non irradié et irradié à 140Gy, montre une réduction du temps de latence. En effet en présence des extrait non irradié il est de 360 min par contre en présence d'extrait aqueux de bulbe irradié il est de 180 min.

Ces résultats suggèrent que cette dose d'irradiation atténue l'effet anti-bactérien, en induisant des modifications des molécules biologiquement actives.

1-3- Effet de l'extrait aqueux du bulbe d'ail irradié (180 Gy) sur la croissance

Comme le montre la figure 24, l'addition d'extrait aqueux des bulbes d'ail à une concentration de 12mg mL^{-1} ($168\ \mu\text{g mL}^{-1}$ d'allicine) à une culture de *Salmonella* Hadar inhibe la croissance cellulaire. Cette inhibition est observée au cours de la phase de latence qui dure approximativement 3 heures. Les variations observées sont significatives ($p < 0,05$).

Après cette phase d'inhibition, la croissance logarithmique reprend mais à un taux de croissance inférieur à celle des bactéries témoins. A cette concentration, la culture bactérienne traitée par l'extrait aqueux des bulbes d'ail irradiés entre en phase stationnaire à une densité de cellules sensiblement inférieure à celle de la culture des bactéries témoin.

L'effet inhibiteur de l'extrait aqueux des bulbes d'ail irradiés est d'autant plus important que sa concentration augmente. Ainsi, la durée de la phase d'inhibition passe de 120mn en présence de 13mg mL^{-1} à 180mn en présence de $14\ \text{mg mL}^{-1}$ ($180\mu\text{g mL}^{-1}$ d'allicine).

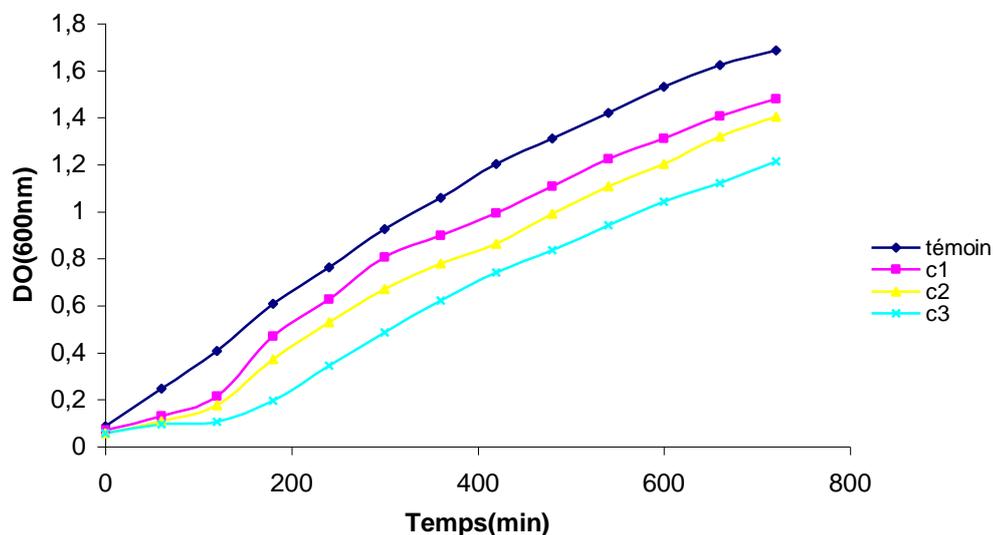


Figure 24: Effet de l'extrait aqueux du bulbe d'ail irradié (180 Gy) sur la croissance de *Salmonella* Hadar. La croissance cellulaire a été suivie au cours du traitement des cellules avec l'extrait aqueux d'ail (T : inoculum témoin, C1 = 12mg mL^{-1} , C2 = 13mg mL^{-1} , C3 = 14mg mL^{-1})

En comparant les courbes de croissances (Figure 22 et 24) des bactéries traitées par un extrait de bulbe d'ail non irradié et irradié à 180Gy, on note une réduction remarquable du temps de latence. En effet il passe de 360 min à 120 min en présence d'extrait aqueux du bulbe irradié.

1-4- Effet de l'extrait aqueux du bulbe d'ail irradié à 260 Gy sur la croissance

Comme le montre la figure 25, l'addition d'extrait aqueux d'ail à une concentration de 12mg mL^{-1} ($156\ \mu\text{g mL}^{-1}$ d'allicine) à une culture de *Salmonella* Hadar, inhibe la croissance cellulaire.

L'effet inhibiteur de l'extrait aqueux des bulbes d'ail irradiés n'est pas significative, la phase d'inhibition (phase de latence) est absente, mais il existe toujours un ralentissement de la croissance observé au cours de la phase exponentielle, ce ralentissement est d'autant plus important que la concentration de l'extrait est important .

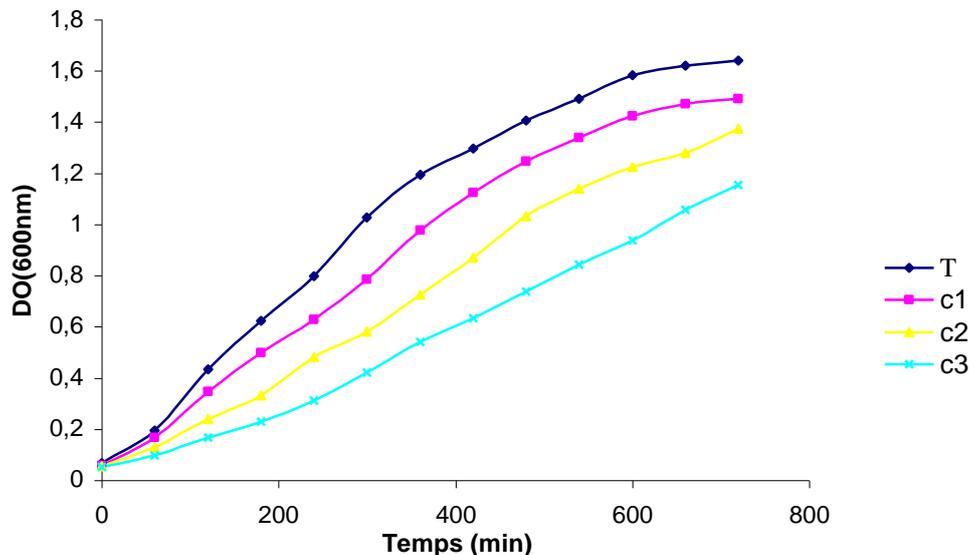


Figure 25 : Effet de l'extrait aqueux du bulbe d'ail irradié (260Gy) sur la croissance de *Salmonella* Hadar. La croissance cellulaire a été suivie au cours du traitement des cellules avec l'extrait aqueux d'ail (T : inoculum témoin, C1 = 12mg mL^{-1} , C2 = 13mg mL^{-1} , C3 = 14mg mL^{-1}).

Afin de comparer les variations observées pour les trois concentrations par rapport au témoin nous avons appliqué un test statistique montrant que ces variations sont significatives en tout point de la courbe ($p < 0.05$).

L'étude de l'effet de l'irradiation des doses croissantes allant de 140 à 260Gy, sur la croissance bactérienne montre un effet négatif sur la phase de latence. En effet elle est de plus en plus réduite et elle est absente en présence d'extrait des bulbes d'ail irradié à 260Gy.

Ces résultats sont en faveur d'un effet négatif de l'irradiation sur activité anti-bactérienne de plus en plus accentué en fonction de la dose appliquée.

2- Détermination de la CMI et CMB :

Pour la détermination de la CMI et de la CMB de l'extrait irradié, on a eu recours à la méthode de la macro-dilution en milieu liquide. Pour ce faire, l'inoculum bactérien est distribué dans une série de tube contenant des concentrations croissantes d'extrait aqueux des bulbes d'ail, tel qu'il est décrit dans le chapitre matériel et méthodes.

Nos résultats montrent que la CMI passe de 11mg/ml pour l'extrait des bulbes non irradié à 11,5mg mL⁻¹, 12mg mL⁻¹, 13mg mL⁻¹ et 14mg mL⁻¹ respectivement pour l'extrait des bulbes irradiés à 140Gy, 180Gy, 220 et 160Gy.

Pour la CMB, on a enregistré des valeurs de 14mg mL⁻¹ dans le cas de l'extrait des bulbes non irradiés et de 15mg mL⁻¹, 15,5mg mL⁻¹, 16mg mL⁻¹ et 16,5 mg mL⁻¹ pour l'extrait des bulbes irradiés à 140Gy, 180Gy, 220Gy et pour 260Gy.

Les valeurs obtenus de CMI et de CMB sont en accord avec les résultats des courbes de croissances bactériennes et elles sont en faveur d'un effet négatif dose dépendant de l'irradiation sur le pouvoir anti-bactérien.

III- Etude de l'effet de l'extrait aqueux des bulbes irradiés sur les activités enzymatiques de *Salmonella* Hadar

Afin d'étudier l'effet de l'extrait des bulbes irradié sur les caractères biochimiques de *Salmonella* Hadar, nous avons eu recours à une analyse par une méthode semi quantitative (système API ZYM), de l'activité enzymatique des bactéries traitées en particulier au cours de la phase d'inhibition.

Pour cela, nous avons procédé à une analyse de l'activité de 19 enzymes. Des bactéries, traitées par l'extrait aqueux des bulbes d'ail irradié à raison 12 mg mL⁻¹ et des bactéries témoins ont fait l'objet de cette étude.

L'étude de l'effet de l'extrait aqueux des bulbes d'ail non irradié (12mg mL⁻¹) sur l'activité enzymatique, en particulier pendant la phase d'inhibition (phase de latence) a montré que sur 19 enzymes testées, uniquement 5 enzymes dont l'activité a été affectée pour

les différentes doses appliquées. Ces enzymes sont : l'Estérase (C 4), l'Estérase lipase (C 8), la Leucine arylamidase, la Naphotol-AS-BI-phosphohydrolase et l' α -glucosidase.

L'intensité de cette inhibition varie d'une enzyme à une autre, en effet, dans le cas de l'Estérase lipase (C 8) et la Naphotol-AS-BI-phosphohydrolase, on note une inhibition partielle, par contre pour α -glucosidase et pour la leucine arylamidase on observe une inhibition totale.

L'étude de l'effet de l'extrait aqueux d'ail (12mg mL^{-1}) sur l'activité enzymatique au cours de phase de reprise de la croissance, montre des variations remarquables par rapport à ceux des témoins.

En effet, on a observé l'apparition d'un test positif pour l' α -mannosidase, N-acetyl- β -glucosaminidase. Ces résultats suggèrent que l'irradiation induit une activation de certaines enzymes.

En comparant les résultats des plaques API-ZYM des *Salmonella* Hadar traitée par un extrait aqueux des bulbes d'ail irradié par des doses allant de 140 à 260Gy et non irradié (12mg mL^{-1}), on a enregistré une modification de l'activité enzymatique de quelques enzymes comme la Naphotol-AS-BI- et la phosphohydrolase.



Figure 26 : Variation de l'activité enzymatique en présence d'extrait d'ail

A : Variation de l'activité enzymatique de *salmonella* Hadar non traité par extrait d'ail

B : Variation de l'activité enzymatique de *salmonella* Hadar traité par ail non irradié (12mg mL^{-1}) pendant la phase d'inhibition.

C : Variation de l'activité enzymatique de *salmonella* Hadar traité par extrait d'ail irradié (dose =140 Gy) pendant la phase d'inhibition.

D : Variation de l'activité enzymatique de *salmonella* Hadar traité par extrait d'ail irradié (dose = 260 Gy) pendant la phase d'inhibition.

Discussion

Discussions

I – Effets sur les caractères physicochimiques

1. Evaluation de la quantité d'allicine dans l'extrait aqueux des bulbes d'ail irradiés

L'allicine est la substance active, qui donne à l'ail ses propriétés thérapeutiques. Au cours de notre étude on a essayé de suivre l'évaluation de la quantité en allicine suite à un traitement des bulbes par des doses d'irradiation : 0Gy ; 140Gy; 180Gy; 220 Gy et 260Gy.

On peut remarquer d'après les résultats, que la quantité d'allicine diminue plus la dose d'irradiation est grande.

Cette diminution peut être expliquée par l'instabilité de l'allicine (Krest et Keusgen, 1999) ou par la transformation de diallylthiosulfides en forme aldéhyde suite à l'irradiation (Wei *et al.*, 1996).

L'enzyme allinase, qui est responsable de la transformation d'allicine pourrait être dégradée par action d'irradiation, mais cette hypothèse est à rejeter puisque d'après la littérature les enzymes ne sont affectées qu'à des fortes doses supérieures à 60KGy (Harben *et al.*, 1996).

2. Evaluation de la quantité des protéines

Après un traitement ionisant des bulbes, on constate que sa teneur en protéines subit une légère diminution non significative à partir de la dose de 140Gy à 260Gy. La quantité des protéines, demeure relativement stable.

Cette stabilité de la quantité des protéines peut être expliquée par deux hypothèses : il y a eu peut être une oxydation des protéine suite à l'irradiation mais les polyphénols réparent cette oxydation ou bien les protéines ne sont pas affectées vu que les doses appliquées ne sont pas fortes.

On est donc en accord avec la littérature. La croix *et al.*, (1987) affirment que les protéines restent stables lors d'un traitement ionisant et les modifications sont minimales ne portant que sur leurs propriétés physiques : solubilité, viscosité, constance de sédimentation.

3. Evaluation de la quantité des sucres réducteurs et totaux

On observe une légère diminution du taux des sucres totaux au dépit d'une légère augmentation des sucres réducteurs. Ce phénomène peut être expliqué par l'hydrolyse des polysaccharides au niveau de la liaison glucidique ce qui conduit à une solubilisation partielle

des polysaccharides (oligosaccharides) avec l'apparition de monomères de sucres (Alcarde *et al.*, 2003).

La réaction principale est due à un groupement hydroxyle, au niveau du glucose qui va attaquer la liaison CH du glucose en éliminant un atome d'hydrogène et former une molécule H₂O.

4. Evaluation de la quantité des triglycérides

Après l'irradiation, on a observé une réduction de la quantité de triglycéride, qui est due à une hydrolyse des glycérides sous l'action des lipases endogènes (Perez *et al.*, 1998).

Ceci peut être interprété par une activation des lipases par les rayons gamma ou bien par une libération des radicaux libres par hydrolyse, qui entrent en réaction avec les lipides de l'ail en engendrant leur oxydation et en conséquences une diminution de la quantité en triglycérides.

5. Evaluation de la quantité des polyphénols

Les polyphénols, existe en une petite quantité dans l'ail. Lanzotti (2006) a décrit que les majeurs composants sont des flavonoides, a savoir deux flavonols : quercitine (47 mg/Kg) et myrcétine (693 mg/Kg) et un flavone : apigénine (217 mg/Kg).

Nous avons trouvé que l'irradiation entraîne une légère diminution de la quantité de polyphénols. Cette diminution est significative uniquement pour les doses 220 et 260Gy.

Paula *et al.*,(2002) ont irradiée des variétés d'herbes qui ont des propriétés médicinales en utilisant des doses élevées de 10 à 30KGy, et ont montré une diminution de la quantité des polyphénols, en particulier après radiotraitement de 30kGy.

Nos résultats suggèrent que les faibles doses utilisées pour inhiber la germination, n'affecte la concentration en polyphénols.

6. Evaluation de pouvoir antioxydant

Le pouvoir antioxydant est mesuré par l'équivalent trolox. D'après les résultats, on a eu une diminution non significative du pouvoir antioxydant de l'ail irradié à ces différentes doses de faible intensité.

Ces résultats sont en accord avec les travaux de Harisson *et al.* (2006), qui n'ont pas trouvé un effet significatif sur le pouvoir antioxydant de l'amande radio- traitée à des doses élevée de 4 à 12KGy.

7. Analyse chromatographique des composés phénoliques

D'après l'analyse des profils chromatographiques obtenues par HPLC, on a observé un seul pic qui pourrait correspondre à l'un des trois flavonoides décrites dans les littératures.

Afin de d'identifier ce pic, on a réalisé une analyse par spectromètre UV (200 nm - 400 nm) et on s'est basé sur les données bibliographiques.

En effet, il est décrit que la plupart des flavones et flavonols possèdent 2 bandes d'absorption dans la région ultraviolet/visible : la bande I entre 230nm et 385 nm représentant la conjugaison entre les cycle B et C et la bande II allant de 240 jusqu'à 280nm représentant la conjugaison entre cycle A et C (Markham *et al.*, 1989).

Pour les flavonols, une augmentation dans le nombre de groupes hydroxyles sur le cycle B induit un déplacement de la bande I de 3nm à 10 nm.

Le spectre d'absorption enregistré dans notre cas est comparable à celui de la myrcétine et la quercitine (flavonols) décrit par (Marfak *et al.*, 2003).

Nos résultats suggèrent que l'irradiation affecte le taux des flavonoides et elle entraîne une diminution statistiquement significative du pourcentage d'aire du pic pour la dose d'irradiation correspondant à 260Gy. Ce résultat est en accord avec celui du dosage des polyphénols par la méthode de Folin.

Des études de Oufedjikh (2000) et ses collaborateurs, ont montré que les concentrations de flavonols présentes dans l'échantillon des climentines irradié (300Gy), sont deux fois inférieurs à celles présente dans le témoin, ceci nous en faveur d'une dégradation des polyphénols sous l'action des rayonnements gamma.

II- Effets de l'extrait sur l'activité antibactérienne de l'ail

1. Effets de l'extrait des bulbes irradiés sur la croissance de *Salmonella* Hadar

Dans le but de rechercher des effets potentiels de l'irradiation sur l'activité d'ail, nous avons commencé par l'étude de son effet sur la croissance de *salmonella* Hadar, ainsi que ses concentrations minimales inhibitrices et bactéricides.

Plusieurs études se sont intéressées aux effets des différentes préparations d'extrait d'ail sur la croissance bactérienne. Ainsi, Naganawa *et al.*, (1996) et O'Gara *et al.*, (2000) ont utilisé la spectrophotométrie (DO_{600 nm}) pour la mesure de la biomasse alors que d'autres ont utilisé une méthode indirecte, la numération des cellules viables (Ross *et al.*, 2001; Bakri *et al.*, 2004 ; Pranoto *et al.*, 2005). Il s'agit du dénombrement des colonies auxquelles ont

donné naissance les bactéries viables présentes dans le milieu étalé sur milieu solide, en partant du principe qu'une bactérie donne naissance à une colonie. Dans notre étude, nous avons choisi d'utiliser la spectrophotométrie ($DO_{600\text{ nm}}$) pour le suivi de la biomasse au cours d'une culture bactérienne. Cette méthode non informative quant à la viabilité cellulaire présente toute fois l'avantage d'être plus rapide.

Notre analyse de l'évolution de la biomasse des cultures bactériennes au cours du traitement des Salmonelles par des concentrations différentes d'extrait aqueux d'ail a montré une altération de la croissance cellulaire, qui se manifeste par un ralentissement de la croissance est significatif ($p < 0,05$).

Ce phénomène d'inhibition (Feldberg *et al.*, 1988) est caractérisé par : une phase d'inhibition qui est traduite par une phase de latence qui paraît plus longue que celle observée dans la croissance bactérienne témoin (Feldberg *et al.*, 1988; O'Gara *et al.*, 2000) et un taux de croissance des bactéries traitées inférieur à celui des bactéries témoins. Ces observations confirment celles décrites par Feldberg *et al.*, (1988).

Des hypothèses peuvent être avancées pour expliquer ces observations

- Les cellules bactériennes ont pu métaboliser ces principes actifs à des composés inactifs.
- Les cellules ont pu neutraliser ces principes en se fixant sur des cibles non impliquées dans la croissance cellulaire ce qui diminue l'interaction avec les cibles critiques (Feldberg *et al.*, 1988).

Bien que l'extrait aqueux des bulbes d'ail irradiés à ces concentrations soit bactériostatique (12, 13 et 14mg mL⁻¹) plutôt que bactéricide. Le taux de croissance des cellules bactériennes traitées demeure inférieur à celui des bactéries témoins. Ce taux faible de croissance semble être le résultat de l'épuisement des nutriments du milieu de culture (O'Gara *et al.*, 2000) ou de la présence de certaines lésions irréparables dans les cellules bactériennes traitées par l'allicine pure (Feldberg *et al.*, 1988).

Parmi les explications données, Feldberg *et al.*, (1988) ont montré que la reprise de la croissance chez *S. Typhimurium* est dû à la reprise de la synthèse d'ARN. Ces auteurs ont utilisé l'allicine pure. En 1985, Delaha *et al.* ont montré l'action inhibitrice de l'allicine sur la croissance de 30 souches mycobactériennes. Cette étude montre aussi que la croissance de six souches de *Mycobacterium tuberculosis* est inhibée par des concentrations allant de 1,34 mg mL⁻¹ à 2,28mg mL⁻¹ d'allicine.

Dans une étude récente, il a été démontré que l'huile d'ail (0,1% v/v) inhibe la croissance d'*Escherichia coli*, *S. Typhimurium*, *Bacillus cereus* et *Staphylococcus aureus* (Pranoto *et al.*, 2005). D'autres études utilisant l'huile d'ail, ont montré par microscopie en phase contraste des changements marqués du comportement et de la morphologie des cellules d'*Helicobacter pylori* suite à un traitement par l'huile d'ail.

La détermination de la concentration minimale inhibitrice et de la concentration minimale bactéricide, nous a permis de mettre en évidence l'action bactéricide de l'extrait aqueux d'ail.

Les *salmonella* Hadar, traitées par un extrait des bulbes d'ail irradiés ont un comportement différent à celui des *salmonella* Hadar traité par un extrait d'ail non irradiée. En effet, on a eu une inhibition de la croissance des bactéries traitées, caractérisée par une phase de latence. Cette dernière est suivie par une phase exponentielle qui correspond à une reprise de la croissance mais à un taux de croissance toujours inférieurs à celui du témoin.

L'étude de l'effet de l'irradiation par des doses croissantes allant de 140Gy à 260Gy, sur la croissance bactérienne montre un effet négatif sur la durée de la phase de latence. En effet elle est de plus en plus réduite et cette réduction est dose dépendante. Toute fois on note qu'elle est absente en présence d'extrait des bulbes d'ail irradié à 260Gy.

Ces résultats sont en faveur d'un effet négatif de l'irradiation sur l'activité anti-bactérienne de plus en plus accentué en fonction de la dose appliquée. On peut expliquer cette réduction de la phase de latence chez les bactéries traitées par l'extrait irradié à 260Gy, par la diminution du taux d'allicine et d'autre composé soufré responsable de l'effet bactériostatique de ce dernier, ou bien à une dégradation des polyphénols : quercitrine (responsable d'activités antibactérienne par irradiation).

Les valeurs obtenus de CMI et de CMB sont en accord avec les résultats des courbes de croissances bactériennes et elles sont en faveur d'un effet négatif dose dépendant de l'irradiation sur le pouvoir anti-bactérien.

2.Evaluation de l'effet de l'extrait des bulbes d'ail irradiés sur l'activité enzymatique de *Salmonella* Hadar

Les modifications des caractères biochimiques étudiés sur galerie API ZYM chez *Salmonella* Hadar, témoignent d'un changement physiologique subit par ces bactéries au cours de leur traitement par l'extrait aqueux d'ail 12mg mL⁻¹.

En effet, pendant la phase d'inhibition (phase de latence prolongée), on a observé une inhibition de certaines enzymes : la Leucine arylamine, l'Estérase (C 4) et de l' α -glucosides pour tous les extraits d'ail.

L'inhibition de la croissance cellulaire observée en présence d'extrait aqueux des bulbes d'ail irradiés pourrait être le résultat de l'inhibition des voies métaboliques catalysées par ces enzymes. Ces dernières semble être impliquées dans la synthèse des composés primaires (AA, lipides, oses, les bases azotées.....), nécessaires à la multiplication bactérienne (Ankri et Mirelman, 1999).

L'effet de l'allicine sur les enzymes à thiols et sa haute perméabilité à travers la membrane semblent être la base de son activité biologique sur ces derniers (Rabinkov *et al.*, 1998 ; Miron *et al.*, 2000).

Ainsi, chez *Helicobacter pylori*, l'action antibactérienne de l'ail est le résultat de l'interaction de l'allicine avec les groupement SH de l'uréase, enzyme présente en quantité importante au niveau de la membranaire cellulaire de cette bactérie (Jonkers *et al.*, 1999 ; Juskiewiz *et al.*, 2004).

En plus de l'action de l'allicine, le quercitine (polyphénol), à une action importante pour l'inhibition des enzymes, il peut faire un complexe avec les protéines, ce qui amène à bloquer le site d'action d'enzyme (Nakagawa *et al.*, 2000).

D'autres études ont montré que les flavonoides sont également inhibiteurs des enzymes tel que trypsine, lipase, oxydase (Harikrishna *et al.*, 2004).

En comparant les résultats des plaques API-ZYM des *Salmonella* Hadar traitée par un extrait aqueux des bulbes d'ail irradiés par des doses allant de 140 à 260Gy et non irradié (12 mg/ml), on a enregistré une modification de l'activité enzymatique de quelques enzymes comme la Naphotol-AS-BI- et la phosphohydrolase.

Conclusions
Et
Perspectives

Conclusions

Le travail que nous avons entrepris est une contribution à l'étude de l'effet de l'ionisation de type gamma sur les caractères physicochimiques et biologiques de l'ail.

Nous avons étudié tout d'abord l'effet de l'irradiation sur les caractères physicochimiques de l'ail. Pour cela, on a irradié les bulbes d' *allium sativum* par des doses de 140Gy, 180Gy et 220Gy et 260Gy.

Après traitement par irradiation des bulbes d'ail, on a suivi l'évaluation de la concentration en allicine, en sucres réducteurs, sucre totaux, triglycérides, polyphénols et le pouvoir antioxydant.

Ainsi, on a enregistré une légère diminution de la concentration en allicine devenant significative pour une dose de 260Gy.

Pour la teneur en sucres totaux et en sucres réducteurs, on a enregistré une diminution de la concentration des sucres totaux au dépit d'une augmentation de la concentration des sucres réducteurs.

En ce qui concerne l'effet de l'irradiation sur la concentration en protéines, on a enregistré une légère diminution non significative de cette concentration en fonction de la dose d'irradiation.

A propos des autres caractéristiques physicochimiques, les résultats ont montré que la concentration en polyphénols diminue de façon significative pour la dose de 260Gy, l'analyse chromatographiques des polyphénols par HPLC prouve ces résultats.

D'après nos résultats, certains caractères physicochimiques sont légèrement affectés par des faibles doses de rayonnement.

Après avoir étudié l'effet de l'irradiation sur les caractéristiques physicochimiques de l'ail, on s'est proposé d'étudier l'effet de l'irradiation sur les caractères biologiques de l'ail: effet d'extrait des bulbes d'ail irradiés sur la croissance et sur les activités enzymatique de *Salmonella* Hadar. Nous avons pu montrer que l'activité antibactérienne de l'extrait aqueux des bulbes d'ail irradiés diminue suite à un radiotraitement des bulbes par des doses allant de 180Gy à 260Gy. Au delà de cette dose on perd totalement cette activité. Ces résultats sont en faveur d'un effet négatif des rayonnements gamma sur l'activité antibactérienne et qui est dose dépendant.

L'étude de l'effet de l'extrait aqueux d'ail non irradié (12mg mL^{-1}) sur l'activité enzymatique, pendant la phase d'inhibition (phase de latence) a montré que uniquement 5 enzymes dont l'activité a été affectée pour les différentes doses appliquées.

Ces enzymes sont : l'Estérase (C 4), l'Estérase lipase (C 8), la Leucine arylamidase, la Naphotol-AS-BI-phosphohydrolase et l' α -glucosidase. L'intensité de cette inhibition varie d'une enzyme à une autre.

L'extrait aqueux d'ail non irradié (12mg mL^{-1}) affecte l'activité enzymatique de certaines enzymes aussi bien au cours de la phase de latence que la phase de reprise de la croissance.

Toute fois, en comparant les résultats des plaques API-ZYM des *Salmonella* Hadar traitée par un extrait aqueux des bulbes d'ail irradiés par des doses allant de 140 à 260Gy et non irradié (12mg mL^{-1}), on a enregistré une modification de l'activité enzymatique de quelques enzymes comme la Naphotol-AS-BI- et la phosphohydrolase.

D'après nos résultats, certains caractères physicochimiques sont légèrement affectés par des faibles doses de rayonnement.

Perspectives

En perspective, on peut dire que dans un proche avenir, il serait intéressant d' :

- Utiliser des doses d'irradiation plus grande, afin de préciser la dose inhibitrice de chaque biomolécules actives
- Identifier les polyphénols qui existent dans l'extrait aqueux d'ail en utilisant la spectroscopie de masse (MS).
- Entreprendre d'autres analyses telles que : analyse des radicaux libre, analyse quantitatif des composant soufré (allicine, ajoéne), des vitamines, des protéines par HPLC.
- Etudier l'effet de l'irradiation sur la structure d' ADN d'*Allium sativum*.
- Etudier la variation de la structure de certaines protéines de *salmonella* Hadar au cours de la phase d'inhibition suite au traitement de cette dernière par extrait irradié d'ail.
- Elucider les mécanismes moléculaires des effets de l'irradiation sur les propriétés anti-bactériennes

*Références
Bibliographiques*

Références bibliographiques

-A-

Abramovitz D., Gavri S., Harats D., Levkovitz H., Mirelman D., Miron T., Eilat-Adar S., Rabinkov A., Wilchek M., Eldar M. et Vered Z. (1999). Allicin-induced decrease in formation of fatty streaks (atherosclerosis) in mice fed a cholesterol-rich diet. *Coron Artery Dis.* 10 (7) 515-519.

Acar J.F., Bouchanch et Bun-Hai A. (1982). Résistance aux antibiotiques, bactériologie médicale. Editeur Leon le minor, Michel Veron Flammarion Médecine Science, Paris, 213-224.

Ackermann R.T., Mulrow C.D., Ramirez G., Gardner C.D., Morbidoni L. et Lawrence V.A. (2001). Garlic shows promise for improving some cardiovascular risk factors. *Arch Intern. Med.* 161 (6) : 813-824.

Adetumbi M., Javor G.T. et Lau B.H.S. (1986). *Allium sativum* (Garlic) inhibits lipid synthesis by *Candida albicans*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 30 : 499-501.

Agarwal K.C. (1996). Therapeutic actions of garlic constituents. *Med. Res. Rev.* 16 (1) : 111-124.

Akamine et Moy .(1983). Réponse de quelques fruit à l'ionisation extrait de ionizing Energy in food processing and pest control council for agricultural science and technologie n°115 ,1989

Alcarde, JM.M.walder et J Horii (2003) Influence of gamma radiation on microbiological parameters of the the etanolic fermentation of sugar-cane must. *J of radiation physics and chemistry*, V66, P411-413.

Alder R., Lookinland S., Berry J.A. et Williams M.A. (2003). Systematic review of the effectiveness of garlic as an anti-hyperlipidemic agent. *J. Am. Acad. Nurse Pract.* 15 (3) : 120-129.

Amagase H., Petesch B. L., Matsuura H., Kasuga S. et Itakura Y. (2001). Intake of garlic and its bioactive components. *J. Nutr.* 131 : 955S-962S.

Amagase H.(2006) Clarifying the real bioactive constituents of garlic. *J Nutr March;136(3 Suppl):716S-25S.*

Ankri S. et Mirelman D. (1999). Antimicrobial properties of allicin from garlic. *Microbes and Infection.* 1 : 125–9.

Augusti K.T. et Sheela C.G. (1996). Antiperoxide effect of S-allyl cysteine sulfoxide, an insulin secretagogue, in diabetic rats. *Experientia.* 52 (2) : 15-20.

-B-

Bakri I.M. et Douglas C.W. (2005). Inhibitory effect of garlic extract on oral bacteria. *Arch Oral. Biol.* 50 (7) : 645-651.

Balaseshthil S., Rao K.S. et Nagini S. (2003). Altered cytokeratin expression during chemoprevention of hamster buccal pouch carcinogenesis by S-allylcysteine. *Pol.J Pharmacol.* 55 (5) : 793-798.

Barrett B., Kiefer D. et Rabago D. (1999). Assessing the risks and benefits of herbal medicine: an overview of scientific evidence. *Altern Ther Health Med.* 5 (4) : 40-49.

Béliveau R, Gingras D.(2005) .. La prévention et le traitement du cancer par l'alimentation. *J Les aliments contre le cancer* Éd. du Trécarré, Canada, 2005.

Benkeblia Nouredine,Shuichi Onodera,Norio Shiomi. (2003). Effect of gamma irradiation and temperature on fructans (fructo-oligosaccharides) of stored onion bulbs *Allium cepa L.* *J Food Chemistry* 87 : 377-382

Benov L., Georgiev N. (1994). The Antioxydant Activity of Flavonoids Isolated from *Corylus colurna*. *Phytotherapy Research*, 8, 92-94

Bianchini F, Vainio H. (2001), Allium vegetables and organosulfur compounds: do they help prevent cancer. *Environ Health Perspect* September;109(9):893-902.

Birnboim H.C. et Doly J. (1979). A rapid alkaline extraction procedure for screening recombinant plasmid DNA. *Nucleic Acids Res.* 7 : 1513-1523.

Block E. (1985). The chemistry of garlic and onion. *Sci. Am.* 252 : 94-99.

Block E. (1992). The organosulfur chemistry of the genus *Allium*-implications for the organic chemistry of sulfur. *Angewandte Chemie. International Edition in English.* 31 : 1135-1178.

Boisseau P., 1991. Applications de l'ionisation en agroalimentaire. In : Vasseur J.P., Ionisation des produits alimentaires. Technique et Documentation, Lavoisier, Paris, 287-316.

Borek C. (2001). Antioxidant health effect of aged garlic extract. *J Nutr.* 131 : 1010S-1015S.

Breithaupt-Grogler K., Ling M., Boudoulas H. et Belz G.G. (1997). Protective effect of chronic garlic intake on elastic properties of aorta in the elderly. *Circulation.* 96 (8) : 2649-2655.

Brenner F.W., Villar R.G., Angulo F.J., Tauxe R. et Swaminahan B. (2000). *Salmonella* nomenclature. *Journal of clinical microbiology.* 2465-2467.

-C-

Cellini L., Di Campli E., Masulli M., Di Bartolomeo, S. et Allocati N. (1996). Inhibition of *Helicobacter pylori* by garlic extract (*Allium sativum*). *FEMS Immunology and Medical Microbiology* 13 : 273 -277.

Chowdhury A.K., Ahsan M., Islam S.N. et Ahmed Z.U. (1991). Efficacy of aqueous extract of garlic and allicin in experimental shigellosis in rabbits. *Indian J. Med. Res.* 93 : 33-36.

Cohen S.N., Breyet J., Cabello F., Chang A.C.Y., Chow J., Kolecho D.J., Kretochmer P.J., Nisen P. et Tournis K. (1978). Microbiology. D. Schelessinger, ed, Soc.For microbiol, Washington, D.C. 220-271.

Cutler R.R. et Wilson P. (2004). Antibacterial activity of a new, stable, aqueous extract of allicin against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Br. J. Biomed. Sci.* 61 (2) : 71-74.

Curtis H., Noll U., Stoërmann1 J. et Slusarenko Alan J. (2004). Broad-spectrum activity of the volatile phytoanticipin allicin in extracts of garlic (*Allium sativum* L.) against plant pathogenic bacteria, fungi and Oomycetes. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 65 : 79–89.

-D-

Davis LB., Shen 3. et Rover R.E. (1994). In vitro synergism of concentrated *Allium sativum* extract and amphotericin B against *Cryptococcus neoformans*. *Planta Med.* 60 : 546-549.

Davis S.R., Perrie R. et Apitz-Castro R. (2003). The in vitro susceptibility of *Scedosporium prolificans* to ajoene, allitridium and a raw extract of garlic (*Allium sativum*). *J. Antimicrob. Chemother.* 51 (3) : 593-597.

Delincée H (1998). *J of radiation physics and chemistry.*

Delincée et Elias (1983). *J of food Irradiation.*

Diehl J.F, E.S Josenphson (1983). Preservation of food by ionizing Radiation.
J of food Irradiation

-E-

Edetraut kroger. (2002). Quebec Pharmacie. Vol 49, n°10

Ellmore G.S. et Feldberg R.S. (1994). Alliin lyase localization in bundle sheaths of garlic clove (*Allium sativum*). *Am. J. Bot.* 81 : 89-94.

-F-

Farkas et Stegman. (1998)., Radiorésistance de quelques bactéries pathogènes dans la viande rouge et la volaille.

Feldberg R.S., Chang S.C., Kotik A.N., Nadler M., Neuwirth Z., Sundstrom D.C. et Thompson N.H. (1988). In vitro mechanism of inhibition of bacterial growth by allicin. *Antimicrob. Agents Chemother.* 32 : 1763-1768.

Ferron A. (1989). Bacteriologie medicale à l'usage des étudiants en médecine. 13^{ème} édition. Editions C et R, 79. Rue Faidherbe, 59110 La Medeline.

Fluit A.D., Maarten R.V. et Schmitz F.J. (2001). Molecular detection of antimicrobial resistance. *Clinical Microbiol. Rev.* 836-871.

Focke M., Feld A. et Lichtenthaler K. (1990). Allicin, a naturally occurring antibiotic from garlic, specifically inhibits acetyl-CoA synthetase. *FEBS Lett.* 261 (1) : 106-108.

Foos J., (1991). Interactions des rayonnements et de la matière. In : Vasseur J.P., Ionisation des produits alimentaires. Technique et Documentation, Lavoisier, Paris, 161-181.

Freiderick H., Portillo F. et Groisman E. (1999). A periplasmic D-Alanyl-D-Alanine dipeptidase in the gram negative bacterium *Salmonella enterica*. *J. of Bacteriology.* 2158-2165.

-G-

Gadkari J.V. et Joshi V.D. (1991). Effect of ingestion of raw garlic on serum cholesterol level, clotting time and fibrinolytic activity in normal subjects. *J. Postgrad. Med.* 37 (3) : 128-131.

Georgina G-R., Brown B.J. et Carlton B.C. (1982). Transfer of *Bacillus thurigiensis* plasmids coding for endotoxin among strains of *Bacillus thurigiensis* and *Bacillus aureus*. *Proc. Acad. Sci. USA.* 6951-6955

Girnenez MA., Solanes RE. et Girneriez D.F. (1988). Growth of *Clostridium botulinum* in media with garlic. *Rev. Argent. Microbiol.* 20 : 17-24.

Gonzalez-Fandos F., Garcia-Lopez Mi., Sierra Mi. et Otero A. (1994). Staphylococcal growth and enterotoxins (A-D) and thermonuclease synthesis in the presence of dehydrated garlic. *J. Appl. Bacteriol.* 77 : 549-552.

Gorinstein S., Drzeviecki (2005). Comparaison of the bioactive compounds and antioxidant potentials of fresh and cooked Polish ukrainian and israelien garlic. *J Agri Food chem* 53(7):2726-2732

Gorinstein S, Leontowicz H, et al (2006). Raw and boiled garlic enhances plasma antioxidant activity and improves plasma lipid metabolism in cholesterol-fed rats. *J Life Sci* ;78(6):655-663.

Groppo F.C., Ramacciato J.C., Simoes R.P., Florio F.M. et Sartoratto A. (2002). Antimicrobial activity of garlic, tea tree oil, and chlorhexidine against oral microorganisms. *IntDentJ.* 52 (6) : 433-437.

Gutmann L. (1986). Mécanisme de résistance non enzymatique aux bêta-lactamines et épidémiologie de la résistance. *Press. Med.* 11 bis : 665-660.

-H-

Hanes D(2003). Nontyphoid *Salmonella*. In: Miliotis N., Bier J.(Eds.) *International Handbook of Foodborne Pathogens*, Marcel Dekker : New York, 137-149.

Harris J.C., Cottrell S.L., Plummer S. et Lloyd D. (2001). Antimicrobial properties of *Allium sativum* (garlic). *Appl Microbiol Biotechnol.* 57 (3) : 282-286.

Harisson,L.M.Were.(2006) Effect of gamma irradiation on total phenolic content yield and antioxidant capacity of Almond skin extracts. *J Food and chemistry* (102):932-937.

HarikrishnaD.,Appa Rao.V. et Prabhakar M.C(2004) Pharmacological investigation of prunigen-6-O-P-coumarate: A flavonoid glycosides. *Indian.JPharmacol.*36(4):244-250

Hassan H.T. (2004). Ajoene (natural garlic compound): a new anti-leukaemia agent for AML therapy. *Leuk Res.* 28 (7) : 667-71.

Helen A., Rajasree C.R., Krishnakumar K., Augusti K.T. et Vijayammal P.L. (1999). Antioxidant role of oils isolated from garlic (*Allium sativum* Linn) and onion (*Allium cepa* Linn) on nicotine-induced lipid peroxidation. *Vet Hum Toxicol.* 41 (5) : 316-319.

Holzgartner H., Schmidt U. et Kuhn U. (1992) . Comparison of the efficacy and tolerance of a garlic preparation vs. bezafibrate. *Arzneimittelforschung.* 42 (12) :1473-1477.

Hughes E.G., Lawson L.D. (1991). Antimicrobial effects of *Allium sativum* L. I (garlic) *Allium amelopratrum* (elephant garlic) and *Allium cepa* L. (Onion) garlic compounds and commercial garlic supplement products. *Phytother. Res.* 5 : 154-158.

Hu X. et Singh S.V. (1997). Glutathione S-transferases of female A/J mouse lung and their induction by anticarcinogenic organosulfides from garlic. *Arch Biochem Biophys.* 340 (2) : 279-86.

-I-

Iberl B., Winkler G., Knobloch K. (1990a). Products of allicin transformation: ajoenes and dithiins, characterization and their determination by HPLC. *Planta Med.* 56 : 202-211.

International commission on microbiological specifications for foods *Salmonellae*. In: ICMSF (Ed.), *Microorganisms in Foods 5. Characteristics of Microbial Pathogens*. Blackie Academic & Professional: London, 1996, 217-264.

Itakura Y., Ichikawa M., Mori Y., Okino R., Udayama M. et Morita T. (2001). How to distinguish garlic from the other *Allium* vegetables. *J. Nutr.* 131 (3s) : 963S-7S.

-J-

Jonkers D., VandenBroek E., VanDooren I., Thijs C., Dorant E., Hageman G. et Stobberingh E. (1999). Antibacterial effect of garlic and omeprazole on *Helicobacter pylori*. *J. Antimicrob. Chemother.* 43 : 837-839.

Josling P. (2001). Preventing the common cold with a garlic supplement: a double-blind, placebo-controlled survey. *Adv. Ther.* 18 (4) : 189-193.

Juszkiewicz A., Zaborska A., Laptás A. et Olech Z. (2004). A study of the inhibition of jack bean urease by garlic extract. *J. Food Chem.* 85 : 553-558.

-K-

Khemiri F., Boojaafar N. et Aloui M. (1984). Antibiorésistance des *Salmonella* au cours des années 1982 et 1983. *Archs. Pasteur Tunis.* 107-121.

Kim K.M., Chun S.B., Koo M.S., Choi W.J., Kim T.W., Kwon Y.G., Chung H.T., Billiar T.R. et Kim Y.M. (2001). Differential regulation of NO availability from macrophages and endothelial cells by the garlic component S-allyl cysteine. *Free Radic Biol. Med.* 30 (7) : 747-756.

Kirsch P., (1991). Agents utilisés-Unités. In : Vasseur J.P., *Ionisation des produits alimentaires*. Technique et Documentation, Lavoisier, Paris, 85-97.

Köksel H., Sapirstein H.D., Celik S. et Bushuk W., (1998). Effects of gamma-irradiation of wheat on gluten proteins. *J. of Cereal Science*, 243-250

Krest I et Keugen (1999). Stabilisation and pharmaceutical use of allinase, Institut für pharmazeutische Biologie, Universität Bonn, Germany 54(4) : 289-93

-L-

Lamm D.L. et Riggs D.R. (2000). The potential application of *Allium sativum* (garlic) for the treatment of bladder cancer. *Urol Clin North Am.* 27 (1) : 157-162.

Lanzotti V (2006). Département des sciences et des technologies alimentaires .Italy *Journal of chromatography* 1112:3-22

Lacroix J.P.,(1991). Description et spécificité d'un centre d'ionisation au cobalt. In : Vasseur J.P., Ionisation des produits alimentaires. Technique et Documentation, Lavoisier, Paris, 25.

Le core F. et Venaille L.,(1989). Traitements ionisants. In : Microbiologie Alimentaire. Volume1, Technique et Documentation, Lavoisier, Paris, 345-3685-276.

Leelarungrayub N, Rattanapanone V, et al (2006). Quantitative evaluation of the antioxidant properties of garlic and shallot preparations. *J. Nutrition* ; 22(3):266-74.

Le Tellier P.R. et Nawar W.W.(1972), *Lipids*,7,75-76

Lawson L.D., (1996). The composition and chemistry of garlic cloves and processed garlic, in : Koch H.P., Lawson L.D. (Eds.), *Garlic: the science and therapeutic application of Allium sativum L.*, Williams and Wilkins, Baltimore, 1996, 37-108.

Le Minor L. (1992). Taxonomie et nomenclature des salmonelles. *Med. Infect.* 22 : 246-248.

Lu H.F., Sue C.C., Yu C.S., Chen S.C., Chen G.W. et Chung J.G. (2004). Diallyl disulfide (DADS) induced apoptosis undergo caspase-3 activity in human bladder cancer T24 cells. *Food.Chem.Toxicol.* 42 (10) : 1543-1552.

-M-

Mafart P.,(1995). Génie Industriel Alimentaire. Tome I, Technique et Documentation, Lavoisier, Apria, Paris, 137-144.

Markham.K.R.(1989). Flavones, flavonols and their glycosides. In methods in plant biochemistry; New York ,197-235.

Marfak.A. ;Trouillas.P . ;Allais,D.P. ;Champavier,Y. ;Calliste,C.A. ;Duroux,J .L. (2003) Radiolysis of kaempferol in water /méthanol mixture.evaluation of antioxydant activity of kaempferol and product formed .*J .Agric .food Chem,51 :1270-1277*

Miean KH, Mohamed S (2001) Flavoinoid (myricetin quercetin kaempferol) content of edible tropical plant *J Agri Food chem* 49(6) : 3106-3112.

Mirelman D., Monheit D. et Varon S. (1987). Inhibition of growth of *Entamoeba histolytica* by allicin, the active principle of garlic extract *Allium sativum.*, *J. Infect. Dis.* 156 : 243–244.

Miron T., Rabinikov A., Mirelman D., Wilchek M. et Weiner L. (2000). The mode of action of allicin: its ready permeability through phospholipid membranes may contribute to its biological activity. *Biochim Biophys Acta* : 20–30.

Miron T., Shin I., Feigenblat G., Weiner L., Mirelman D., Wilchek M. et Rabinkov A. (2002). A spectrophotometric assay for allicin, alliin, and alliinase (alliin lyase) with a chromogenic thiol: reaction of 4-mercaptopyridine with thiosulfinates. *Analytical Biochemistry* 307 : 76–83.

Meyer A., Deiana J. et Leclerc H. (1991). les agents antimicrobiens. Editeurs Doins, Paris. 234-236.

-N-

Nadal M., Mirambeau G., Forterre P., Reiter W.D. et Duguet M. (1986). Positively supercoiled DNA in a virus-like particle of an arhaebacterium. *Nature* 321 : 256-258.

Naganawa R., Iwata N., Ishikawa K., Fukuda H., Fujino T. et Suzuki A. (1996). Inhibition of microbial growth by ajoene, a sulfur-containing compound derived from garlic. *Applied Environmental Microbiology* 62 : 4238-4242.

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.

Ness J., Sherman F.T. et Pan C.X. (1999). Alternative medicine: what the data say about common herbal therapies. *Geriatrics*. 54 (10) : 33-43.

Nikaido H. (1989). Outer membran barrieras mechanism of antimicrobial membrane. *Antimicrob. Agents Chemother.* 49 : 1-32.

Nok A.J., Williams S. et Onyenekwe P.C. (1996). *Allium sativum*-induced death of African trypanosomes. *Parasitol Res.* 82 (7) : 634-637.

-O-

O'Gara E. A., Hill D. J. et Maslin D. J. (2000). Activities of garlic oil, garlic powder, and their diallyl constituents against *Helicobacter pylori*. *Applied Environmental Microbiology* 66 : 2269-2273.

-P-

Palli D., Russo A., Ottini L., Masala G., Saieva C., Amorosi A., Cama A., D'Amico C., Falchetti M., Palmirota R., Decarli A., Costantini R.M. et Fraumeni J.F.

(2001). Red meat, family history, and increased risk of gastric cancer with microsatellite instability.

Pantoja C.V., Norris B.C. et Contreas C.M. (1996). Diuretic and natriuretic and chromatographically purified fraction of garlic *Allium sativum*. *J. Ethnopharmacol.* 52 : 101-105.

Paula M.Koseki,Anna Lucia C.H.Villavicencio,MonicaS.Brito,LigiaC.Nahme, KatiaI.Sebastiano,PauloR.Rela,Jorge Mancinini-Filho et PauloC.D.freitas(2002). Effects of irradiation in medicinal and eatable herbs .*J Radiation physics and chemistry* 63 :681-684.

Perez M.B., CurzioO.A. , AveldanoM.I et Croci .C.A(1998). Effect of gamma irradiation on the lipid composition of inner sprout of garlic .*J. Food irradiation* 52 :113-117.

Pillet C., Bourdon J.L., Tome B., Balbasture C. et Person J.M. (1984). Bactériologie médicale et vétérinaire.

Pranoto Y., Salokhe V.M. et Rakshit S.K. (2005). Physical and antibacterial properties of alginate-based edible film incorporated with garlic oil. *JFood Research International.* 38 (3) : 267-272.

-R-

Rabinkov A., Miron T., Konsrantinovski L., Wilchek M., Mirelman D., Weiner L. (1998). The mode of action of allicin : trapping of radicals and interaction with thiol containing proteins. *Biochim. Biophys. Acts* 1379 : 233-244.

Rivlin R.S. (2001). Historical perspective on the use of garlic. *J Nutr.*131 (3s) : 951S-954S.

Reuter H. D., Koch H. P. et Lawson D. L. (1996). Therapeutic effects and applications of garlic and its preparations. In: *Garlic: The Science and Therapeutic Applications of Allium sativum L. and Related Species*, 2nd ed. (Koch, H. P. Et Lawson, D. L., eds.),. William et Wilkins, Baltimore, MD. 135–212.

Ross Z.M., O'Gara E.A., Hill D. J., Sleightholme H.V. et Maslin D. J. (2001). Antimicrobial Properties of Garlic Oil against Human Enteric Bacteria: Evaluation of Methodologies and Comparisons with Garlic Oil Sulfides and Garlic Powder. *Appl. Environ. Microbiol.* 67 : 475-480.

Roux J.L., 1994. Conservzr les aliments-Comparaison des méthodes et des technologies. Technique et Documentation, Lavoisier, Paris, 286-333.

-S-

Saint-Lèbe L., 1991. Introduction. In : Vasseur J.P., Ionisation des produits alimentaires. Technique et Documentation, Lavoisier, Paris, 15-25.

Sakamoto K., Lawson L.D. et Milner J.A. (1997). Allyl sulfides from garlic suppress the in vitro proliferation of human A549 lung tumor cells. *Nutr Cancer.* 29 (2) : 152-156.

Sambrook J., Fritsch E.F. et Maniatis T. (1989). Molecular cloning: a laboratory manual. Cold Spring Harder laboratory Press, Cold spring harbor, New York, USA.

San-Bias G., Urbina J.A., Marchan B., Contreras L.M., Sorais F. et San-Bias F. (1997). Inhibition of *Paracomridioide.s brasiliensis* by ajoene is associated with blockade of phosphatidyl –choline biosynthesis. *Microbiology* 143 : 1583-1586.

Shadkchan Y., Shemesh E., Mirelman D., Miron T., Rabinkov A., Wilchek M. et Osherov N. (2004). Efficacy of allicin, the reactive molecule of garlic, in inhibiting *Aspergillus* spp. in vitro, and in a murine model of disseminated aspergillosis. *J Antimicrob Chemother.* 53 (5) : 832-836.

Sheela C.G. et Augusti K.T. (1992). Antidiabetic effects of S-allyl cysteine sulphoxide isolated from garlic *Allium sativum* Linn. *Indian J Exp Biol.* 30 (6) : 523-526.

SCIENTIFIC COMMITTEE ON VETERINARY MEASURES RELATING TO PUBLIC HEALTH Opinion of the SCVMPH (2003) [en ligne] Adresse URL :

http://europa.eu.int/comm/food/fs/sc/scv/out66_en.pdf

Consulté le 07/06/04.

Sebald M., Bouanchaud D. et Bieth G. (1975). Nature plasmidique de la résistance à plusieurs antibiotiques. C.R. Acad. science (Paris). 2401-2404.

Siess M.H., Le Bon A.M., Canivenc-Lavier M.C. et Suschetet M. (1997). Modification of hepatic drug-metabolizing enzymes in rats treated with alkyl sulfides. *Cancer Lett.* 120 (2) : 195 -201.

Simonet M., leclerc M. et Gailloud J.L. (1995). Antibiotiques-microbiologie générale; la bactérie et le monde bactérien. Doins Editeurs.

Silliker J.H. et Gabis D.A. (1988). Salmonellosis-laboratory of infections diseases principales and practice. 1, Editors Springer-verlag.

Sivam G. P., Lampe J. E., Ulness B., Swanzy S. R. et Potter J. D. (1997). *Helicobacter pylori*-in vitro susceptibility to garlic (*Allium sativum*) extract. *Nutr. Cancer.* 27 : 118-121.

Slowing K., Ganado P., Sanz M., Ruiz E. et Tejerina T. (2001). Study of garlic extracts and fractions on cholesterol plasma levels and vascular reactivity in cholesterolfed rats. *J Nut Mar.* 31 : 994-996.

Steiner M., Khan A.H., Holbert D. et Lin R.I.A. (1996). double-blind crossover study in moderately hypercholesterolemic men that compared the effect of aged garlic extract and placebo administration on blood lipids. *Am J Clin Nutr.* 64 (6) : 866-870.

Stevinson C., Pittler M.H. et Ernst E. (2000). Garlic for treating hypercholesterolemia. A meta-analysis of randomized clinical trials. *Ann Intern Med.* 133 (6) : 420-429.

-T-

Takezaki T., Gao C.M., Ding J.H., Liu T.K., Li M.S. et Tajima K. (1999). Comparative study of lifestyles of residents in high and low risk areas for gastric cancer in

Jiangsu Province, China; with special reference to allium vegetables. *J Epidemiol.* 9 (5) : 297-305

Tsao S.M. et Yin M.C. (2001). In vitro activity of garlic oil and four diallyl sulphides against antibiotic-resistant *Pseudomonas aeruginosa* and *Klebsiella pneumoniae*. *J Antimicrob Chemother* 47 : 665-670.

Tatarintsev A.V., Vrzheschch P.V., Schegolev A.A., Yershov D.E., Turgiev A.S., Varfolomeyev S.D., Kornilayeva G.V., Makarova T.V. et Karamov E.V. (1992). Ajoene antagonizes integrin-dependent processes in HIV-infected T-lymphoblasts. *AIDS.* 10 : 1215-1217.

-U-

Uchida Y., Takahashi T. et Sato N. (1975). The characteristics of the antibacterial activity of garlic, *Jpn J. Antibiotics*, 28 : 638-642.

Urbina J.A., Marchan F., Lazardi K., Visbal G., ApitzCastro R., Gil F., Aguirre T., Piras MM. et Piras R. (1993). Inhibition of phosphatidylcholine biosynthesis and cell proliferation in *Trypanosoma cruzi* by ajoene, an anriplatelet compound isolated from garlic, *Biochem. Pharmacol.* 45 : 2381—2387.

-V-

Vasseur J.P., 1991. Ionisation des produits alimentaires. Technique et Documentation, Lavoisier, Paris.

Varnama., Evans M.(1996) Chapter 4 – *Salmonella*. In: Varnam A., Evans, M. (Eds.) Foodborne pathogens – an illustrated text 2nd ed. Manson Publishing : London, 51-86.

-W-

Wang W. et Chen W.W. (1991). Antioxidative activity studies on the meaning of same original of herbal drug and food. *Zhong Xi Yi Jie He Za Zhi.*11 (3) : 159-161.

Wei Genshuan, Wang Guanghui, Yang Ruipu, Wu Jilan (1996). The effects of gamma irradiation on garlic oil content in garlic bulbs and on the radiolysis of allyl trisulfides. *J. Radiation physics and chemistry*. 47: 317-320.

Weber N. D., Andersen D. O., North J. A., Murray B. K., Lawson L. D. et Hughes B. G. (1992). *In vitro* virucidal effects of *Allium sativum* (garlic) extract and compounds. *Planta Medica*. 58 : 417–423.

Wilcox S.K., Cavey G.S. et Person J.D. (2001). Single ribosomal protein mutations in antibiotic-resistant bacteria analysed by spectrometry. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 3046-3055.

-Y-

Yamada Y. et Azuma K. (1997). Evaluation of the *in vitro* antifungal activity of allicin. *Antimicrob Agents Chemother*. 11 (4) : 743-749.

Yoshida H., Iwata N., Katsuzaki H., Naganawa R., Ishikawa K., Fukuda H., Fujino T. et Suzuki A. (1998). Antimicrobial activity of a compound isolated from an oil-macerated garlic extract. *Biosci. Biotechnol. Biochem*. 62 : 1014-1017.

Yoshida H., Katsuzaki H., Ohta R., Ishikawa K., Fukuda H., Fujino T. et Suzuki A. (1999). An organosulfur compound isolated from an oil-macerated garlic extract, and its antimicrobial effect. *Biosci. Biotechnol. Biochem*. 63 : 588-590.

Yoshida H., Katsuzaki H., Ohta R., Ishikawa K., Fukuda H., Fujino T. et Suzuki A. (1999). Antimicrobial activity of the thiosulfates isolated from an oil-macerated garlic extract. *Biosci. Biotechnol. Biochem*. 63 : 591-594.

Yoshida S., Kasuga S., Hayashi N., Ushiroguchi T., Matsuura H. et Nakagawa S. (1987). Antifungal activity of ajoene derived from garlic. *Appl Environ Microbiol*. 53(3) : 615–617.

You WC, Li JY, et al (2005). Etiology and prevention of gastric cancer: a population study in a high risk area of China. *Chin J Dig Dis* ;6(4):149-154

You WC, Zhang L, et al (1998). Helicobacter pylori infection, garlic intake and precancerous lesions in a Chinese population at low risk of gastric cancer. *Int J Epidemiol* December;27(6):941-944.

Yu-Yan Yeh et Liu L. (2001). Cholesterol lowering effect of garlic extracts and organosulfur compounds: Human and animal studies. *J Nutr*, 131 : 989S-993S.

Annexes

Tableau 16 : Tableau de lecture

N°	ENZYME RECHERCHEE	REACTION	
		POSITIVE	NEGATIVE
1	<i>Témoin</i>	Incolore ou couleur de l'échantillon si celui-ci a une coloration importante	
2	Phosphatase alcaline	VIOLET	Incolore ou Jaune très pâle
3	Estérase (C 4)	VIOLET	
4	Estérase lipase (C 8)	VIOLET	
5	Lipase (C 14)	VIOLET	
6	Leucine arylamidase	ORANGE	
7	Valine arylamidase	ORANGE	
8	Cystine arylamidase	ORANGE	
9	Tyrosine	ORANGE	
10	α -Chymotrypsine	ORANGE	
11	Phosphatase acide	VIOLET	
12	Naphotol-AS-BI-	BLEU	
13	phosphohydrolase	VIOLET	
14	α -galactosidase	VIOLET	
15	β -galactosidase	BLEU	
16	β -glucuronidase	VIOLET	
17	α -glucosidase	VIOLET	
18	β -glucosidase	MARRON	
19	N-acetyl- β -glucosaminidase	VIOLET	
20	α -mannosidase α -fucosidase	VIOLET	

* Incolore ou de la couleur du témoin si la galerie a été exposée à une source lumineuse intense après l'addition des réactifs; si cette opération n'a pas pu être réalisée, obtention d'une couleur jaune très pâle.

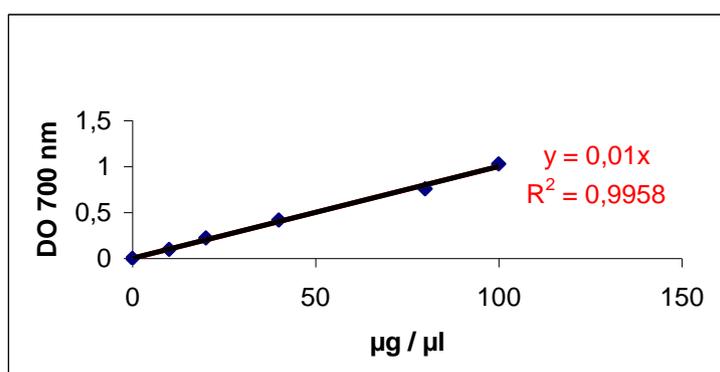
- **Préparation de la gamme étalon des protéines**

- ❖ **Gamme étalon**

Tableau : Préparation des gammes étalon

Tube	B	1	2	3	4
Solution protéique 0,5 mg /ml	0	0,2	0,4	0,6	0,8
Eau distillée (ml)	1	0,8	0,6	0,4	0,2
Solution C (ml)	1				

- ❖ **Courbe étalon**



- **Préparation de la gamme étalon des sucres totaux**

- ❖ **Gamme étalon (Glucose)**

Tableau : Préparation de la gamme étalon

Tube	1	2	3	4
Glucose (ml) 0.1%	0	0,1	0,15	0,20
H ₂ O (ml)	0,5	0,4	0,35	0,3
DNS (ml)	0,5			
Lire la DO à 540 (nm)				

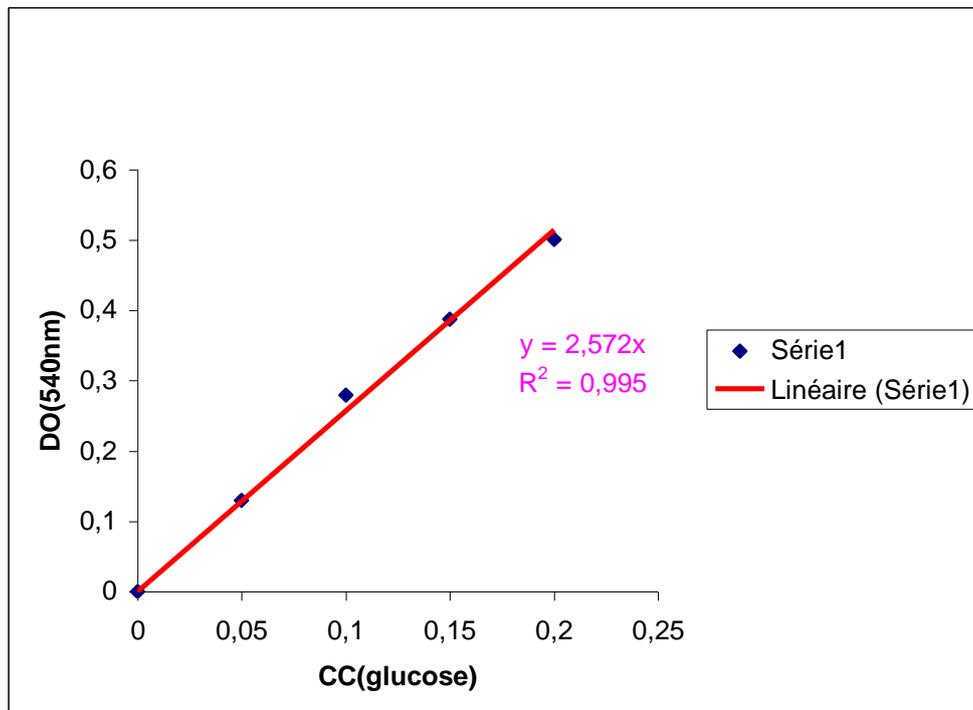
- Préparation de la gamme étalon des sucres réducteurs

- ❖ Gamme étalon de sucres réducteurs

Tableau : Préparation de la gamme étalon

Tube	1	2	3	4	5
Glucose (ml)	0	0.1	0.2	0.4	0.6
H ₂ O (ml)	0.5	0.4	0.3	0.2	0.1
Addition de 0.5 ml de la solution de DNS (Acide 3-5dinitro salicylique)					
Chauffage à 100°C pendant 15mn					
Addition d'eau distillée jusqu' à 10 ml et laisser refroidir					
Lecture de la DO à 540 nm					

- ❖ Courbe étalon



• **Préparation de la gamme étalon des triglycérides**

Tableau10 : Préparation de la gammes étalon et de l'extrait

Tube	B	1	2	3	4	5	Extrait
Réactif (ml)	2,5	2,4	2, 3	2,2	2,1	2,0	2,4
Solution étalon (ml) 80µg/ml		0,1	0,2	0, 3	0,4	0,5	0
Echantillon							0,1

• **Préparation de la gamme étalon de catéchol (Polyphénole de référence)**

❖ Gamme étalon de catéchol

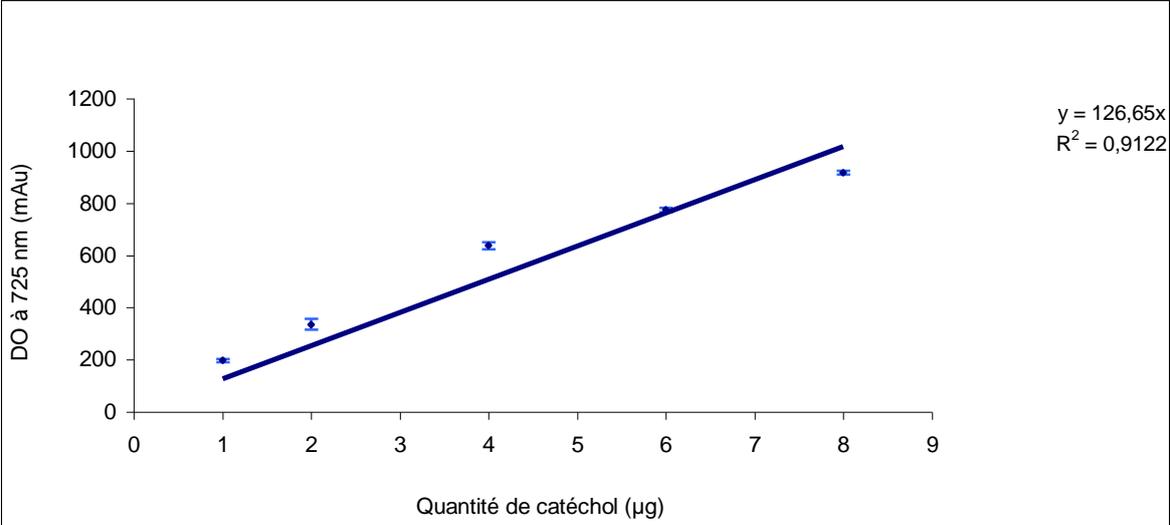
Tableau : Préparation de la gamme étalon catéchol

Catéchol (µl)	10	20	40	60
Eau (µl)	90	80	60	40
Folin (µl)	400			
Na₂CO₃ (µl)	500			

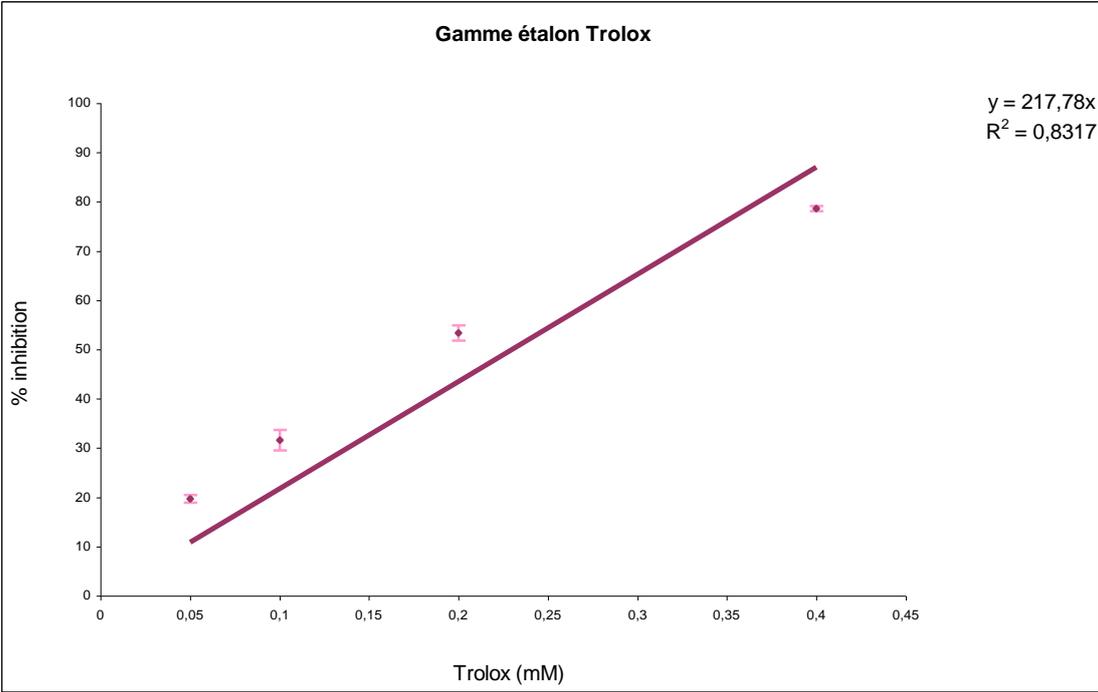
Tableau 12 : Préparation d'échantillon

Extrait échantillon (µl)	25	50
Eau (µl)	75	50
Folin (µl)	400	
Na₂CO₃(µl)	500	

Courbe étalon catéchol



Gamme étalon de Trolox



Profils chromatographiques

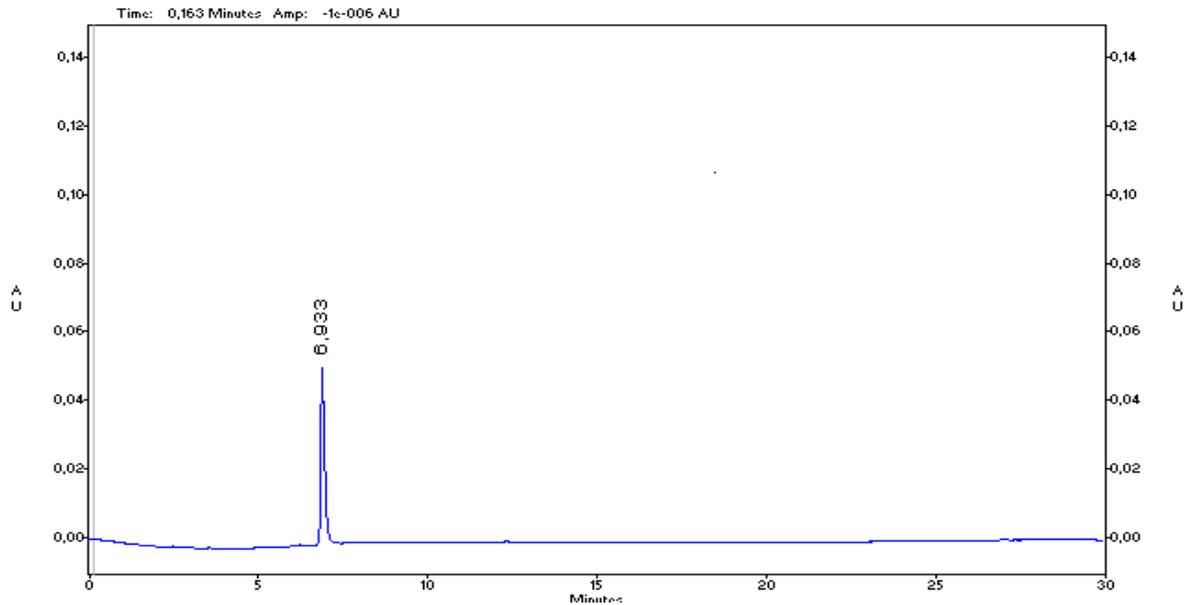


Figure : chromatogramme des polyphénols d' *Allium sativum* non irradiée

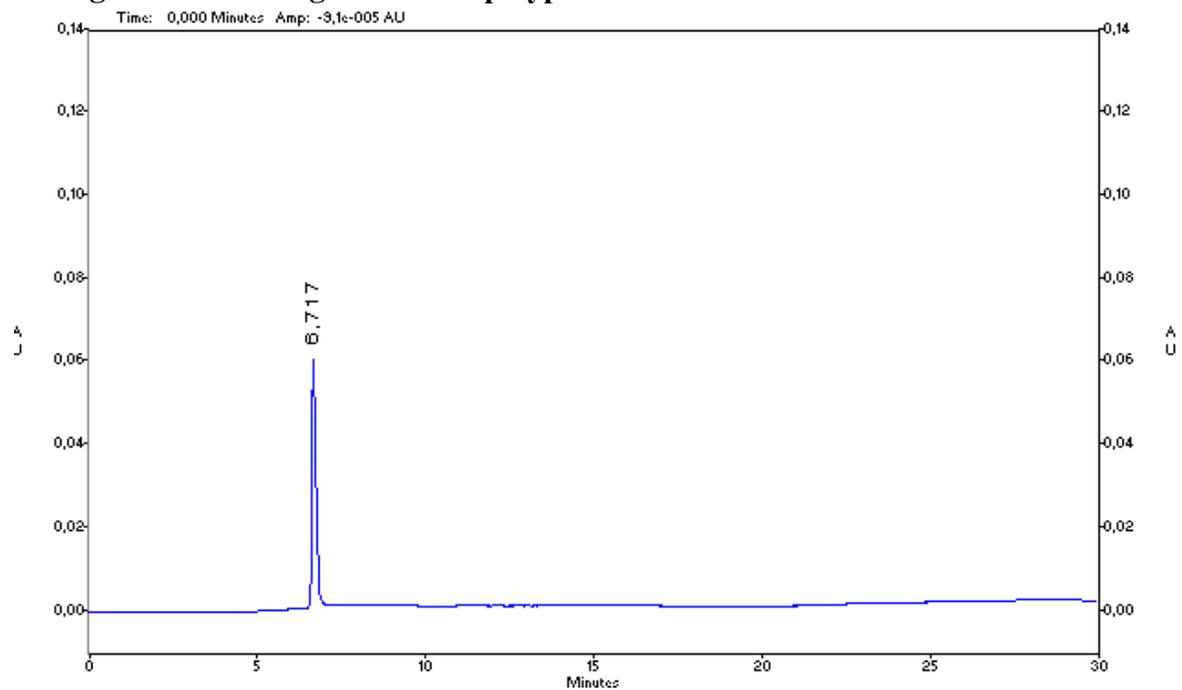


Figure : chromatogramme des polyphénols d' *Allium sativum* irradié à 140Gy

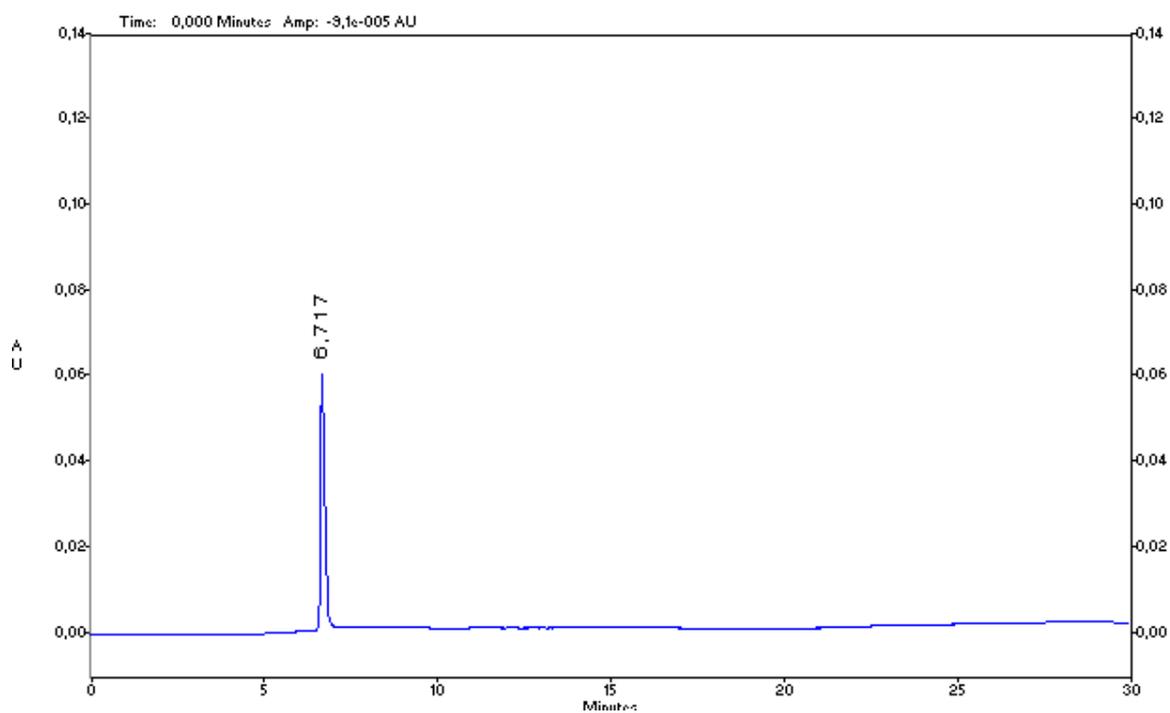


Figure : chromatogramme des polyphénols d' Allium sativum irradié à 180 Gy

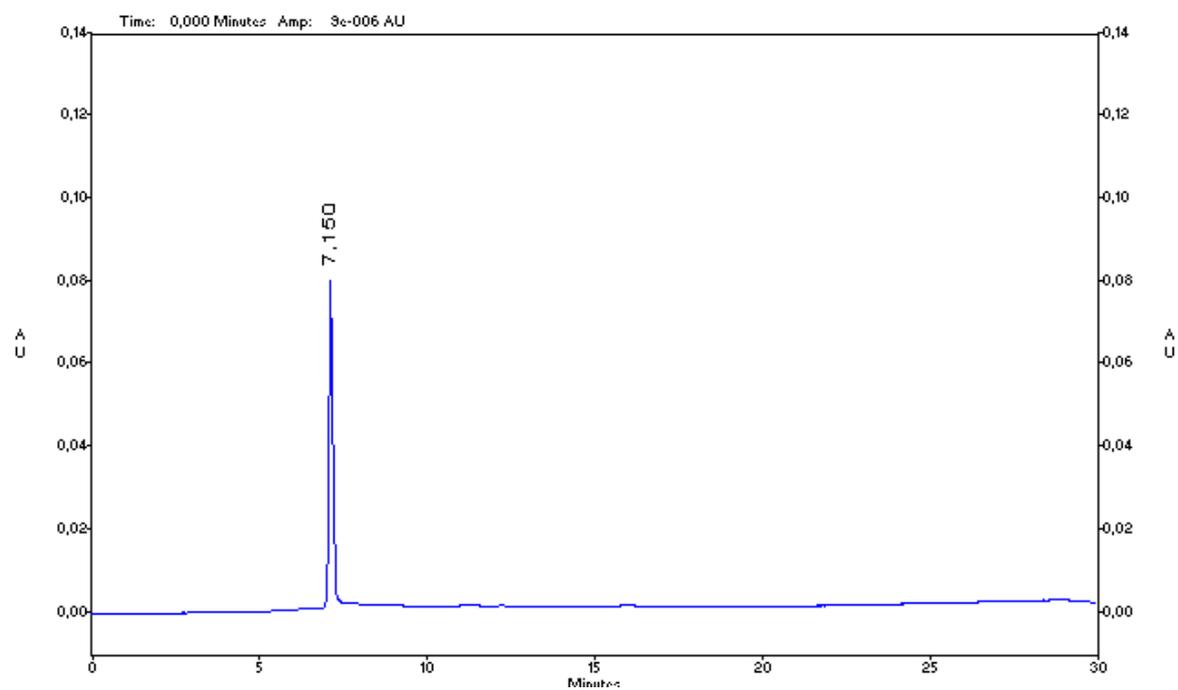


Figure : chromatogramme des polyphénols d' Allium sativum irradié à 220 Gy

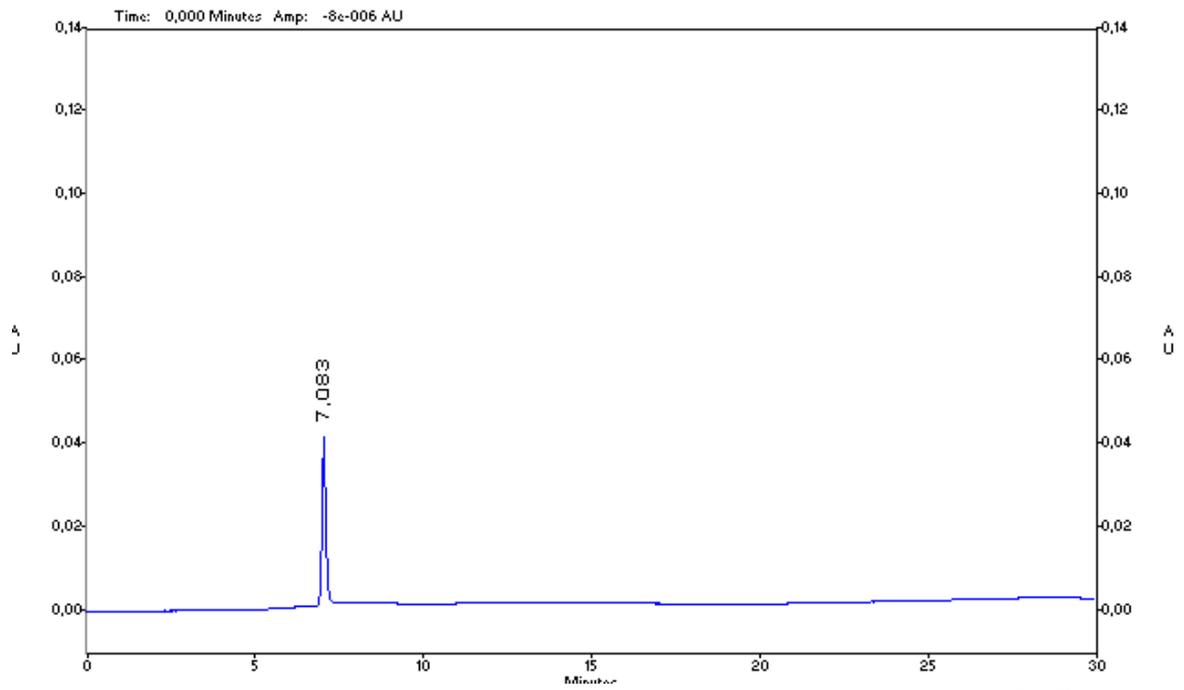


Figure : chromatogramme des polyphénols d' *Allium sativum* irradié à 260 Gy

Résumé :

L'ail est utilisé depuis plusieurs centaines d'années pour traiter divers problèmes de santé. Au cours des dernières décennies plusieurs travaux se sont intéressés à spécifier ces problèmes, entre autres les effets antibactériens. Selon les variétés, l'ail frais se conserve de trois à six mois. Au-delà du quatrième mois, le processus de germination peut être déclenché. L'irradiation s'est révélée prolonger la conservation de l'ail en inhibant la germination.

Dans le présent travail, nous avons étudié les effets de l'irradiation de type gamma sur les caractères physicochimiques et biologiques d'*Allium sativum*. Cette étude a été menée sur le bulbe irradié en appliquant des doses croissantes d'irradiation allant de 140 à 260Gy.

Nous avons procédé à analyser les effets de l'irradiation sur la composition biochimique de l'ail en particulier : l'alicine, protéine, sucres réducteurs, sucres totaux, triglycérides et polyphénols. Nous avons étudié également l'effet de ces extraits des bulbes radiotraités sur la croissance cellulaire et l'activité enzymatique de *salmonella* Hadar.

Les résultats obtenus ont montré une légère diminution non significative de la teneur en alicine, protéine, sucre réducteurs, triglycéride et polyphénols dans les extraits des bulbes d'ail irradiés. Cependant, cette diminution est significative à une dose de 260Gy.

Une altération des propriétés biologiques a été observée après traitement par des concentrations différentes d'extrait aqueux des bulbes d'ail irradiés. Cette inhibition dépend de la concentration d'ail utilisée et de la dose d'irradiation appliquée aux bulbes d'ail.

Abstract

Garlic is used since several hundred years to deal with various health issues. During last decades several works was interested to specify these problems,

In this work we studied the effects of the gamma irradiation on the physico-chemical and biological properties of *Allium sativum*. This study was undertaken on the bulb irradiated by implying amounts of different irradiation from 140 to 260Gy.

First, we proceeded to analyze the effects of these irradiations on the composition of garlic such as: allicin, protein, reducing sugars, total sugars, triglycerides and polyphenols. Second we tested the effect of these extracts radiotreated on the cell multiplication and the enzymatic activity of salmonella Hadar

The obtained results showed that the irradiated garlic extracts, present a slight nonsignificant reduction in the alicine, protein, sugar reducers, triglyceride and polyphénols concentration. However, this reduction is significant during application of the amount 260Gy.

In addition, a deterioration of the growth was observed after treatment by different concentrations of aqueous irradiated garlic extract. This inhibition is dependent on the concentration of aqueous extract of garlic used and the used irradiation dose.

These observations would be in favor that the irradiations induce a slight modification of physico-chemical properties and they affect the antibacterial activity against *salmonella* Hadar.

Key words: Irradiation gamma, aqueous extract of *Allium sativum*, alicine, protein, polyphénols, reducing sugar, sugar totals, antioxydant capacity, triglyceride, *Salmonella* Hadar, cell multiplication, enzymatic activity