

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
Université Ibn Khaldoun –Tiaret–  
Faculté Sciences de la Nature et de la Vie  
Département Sciences de la Nature et de la Vie



Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de Master académique

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences biologiques

Spécialité : Microbiologie appliquée

Présenté par :

- KADA Khadidja  
-MHAMED Fatima  
-MOUSSA Saliha

*Thème*

Aspect antibactérien des liquides ioniques à  
base d'un cation ramifié

Soutenu le : 12/07/2021

Jury :

Grade

Président : Dr. METTALK

« MAA »

Encadrant : Dr. FETOUHI.B

« MCB »

Co-encadrant : Dr. YEZLI.W

« MCA »

Examinatrice : Dr. BENGUIAR.R

« MCB »

Année universitaire 2020-2021

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

# *R*emerciement

*Nous remercions tout d'abord ALLAH Le tout puissant de nous avoir donné la patience, la santé et la volonté pour réaliser ce mémoire.*

*Au terme de ce travail, nous tenons à exprimer nos remerciements et notre parfaite gratitude :*

*Notre encadrant Dr. FETOUHI.B, nous le remercions infiniment pour son soutien, sa patience et ses orientations pour achever ce travail.*

*Nous adressons nos remerciements à notre Co-encadrant Dr. YEZLI.W pour sa disponibilité en permanence et ses valeureux conseils.*

*Aussi nous tenons à remercier vivement Mme Khaira SOUALMI de nous avoir accueillis dans son laboratoire et pour la confiance et l'aide qu'elle nous a accordé*

*Nous présentons nos sincères remerciements aux membres de jury Dr. METTAI.K et Dr. BENGUIAR.R pour leurs remarques et précisions, aussi pour leur assistance et leurs conseils objectifs et éclairés.*

*Nous remercions l'encadrement pédagogique de la faculté des Sciences de la nature et de la vie : Mr. M. SASSI , Nos Enseignants tout au long de nos études.*

*Nous remercions tout l'encadrement du laboratoire d'hygiène et pathologie animale : Mr. H. AGGAD directeur du laboratoire et ses collaborateurs en l'occurrence*

*Mmes : R. BOUTELDJA et L. BENHAMOUDA,*

*Mes : M. ABDALI et R. DOUCENE,*

*Pour la prise en charge, pour leur patience et conseils.*

## *D*édicace

*Je dédie ce modeste travail...*

*A ma chère Maman, qui s'est sacrifiée pour mon bonheur et ma réussite, elle a veillé tout au long de mes études à m'encourager et à me conseiller.*

*A mon Père qui a fait beaucoup d'efforts pour la poursuite de mes études dans de bonnes conditions. J'espère que je serai toujours à la hauteur de ses espérances.*

*« Je vous souhaite tout le bonheur du monde; je vous aime beaucoup »*

*A mes deux adorables frères Fayçal et Younes; qui occupent une grande place dans ma vie, je vous souhaite beaucoup de réussite dans vos études.*

*A mes très chères et adorables sœurs Rachida, Sara et Sonia, qui m'ont soutenu moralement durant toutes ces années d'études; je leur souhaite une merveilleuse vie et beaucoup de bonheur.*

*A Tous les membres de ma famille, mes oncles, mes tantes et mes grands-parents, que Dieu les comble de santé et d'une longue vie.*

*A mes chères amies Fatima, Saliha, Meriem, Karim, Amine, Ikram*

*A tous ceux qui me sont chers, que Dieu les garde.*

*Je vous Remercie tous.*

*Khadidja*

## *D*édicace

*A mes très chers parents*

*Vous avez été pour moi au long de mes études le plus grand symbole d'amour, de dévouement qui ont ni cessé ni diminué.*

*Votre bonté et votre générosité sont sans limite. Vos prières m'ont été d'un grand soutien au cours de ce long parcours.*

*J'espère de tout mon cœur qu'en ce jour vous soyez fière de moi, et que je réalise l'un de vos rêves. Pour tous les encouragements et le réconfort qui n'ont cessé de me servir de guide.*

*J'espère être la fille que vous aviez voulu que je sois, et je m'efforcerai d'être digne de ce que vous auriez souhaité que je sois. Je vous le dédie tout particulièrement. Puisse Dieu vous procurer bonheur, Santé, longue vie et vous garder à mes côtés le plus longtemps possible*

*..... Je vous adore ....*

*Mes très chères sœurs Mokhtaria, Khadidja, Samia, Israa, Rouba, Fatma, Sarah et Saliha*

*Mes frères Kada et Mokhtar et leurs fils et filles, Mon fiancé Fouad et A tous les membres de la famille Pour l'affection qui nous lie, pour l'intérêt que vous portez à ma vie, pour vos soutiens, vos compréhensions et vos encouragements. Que ce travail soit le témoin de la reconnaissance infinie. Je vous souhaite une vie pleine de bonheur et que je sois toujours la sœur dont vous serez fier. J'espère que vous trouverez dans cette mémoire le témoignage de mes sentiments les plus sincères et les plus affectueux.*

*Que Dieu vous protège et consolide les liens sacrés qui nous unissent.*

*Je vous adore*

*Fatima*

## *D*édicace

*Tous d'abord et avant tous je dis*

*الحمد و الشكر لله*

*Je dédie ce modeste travail à, mon très cher père MOHAMED et ma très chère et douce mère.*

*A mes belles et gentilles sœurs : WIEM, MALIKA, DJIHAD SALIMA, AYA et SAHOUM.*

*Bien sûr sans oublié SABAH paix à son âme.*

*A mon fils et toute ma vie AHMED, je te souhaite tous le bonheur et la réussite dans tes études.*

*A TATA et NADIA qui m'ont aidé dans mes premières démarches d'étude et a toute ma famille.*

*A mes chères amis SOUAD, LINDA, KHADOUDJ, ROMI ,MAHJOUBA, ZAHIA et MADJIDA*

*A mon trinôme KHADIDJA et FATMA, je les remercie pour le courage qu'elles m'ont donné et tous les moments que nous avons passé ensemble.*

*A l'ingénieur du labo madame K. Soualmi . Pour son aide et sa patience.*

*A tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.*

*Aux personnes qui n'ont pas là, mais toujours avec moi j'exprime mes plus profonds sentiments d'amour à M .SH .*

*Et merci à moi-même.*

*Saliha*

## TABLE DES MATIÈRES

LISTE DES TABLEAUX.....	i
LISTE DES FIGURES.....	ii
LISTE DES ABRÉVIATIONS.....	iii
INTRODUCTION.....	

### CHAPITRE I : ÉTUDE BIBLIOGRAPHIQUE

I.1. Généralité sur les liquides ioniques.....	04
I.1.1. Historique.....	04
I.1.2. Définition.....	05
I.1.3. La synthèse des liquides ioniques.....	05
I.1.4. Propriétés physico-chimiques des liquides ioniques.....	06
a. Point de fusion.....	06
b. Stabilité thermique.....	06
c. Densité.....	06
d. Viscosité.....	07
e. Toxicité et biodégradabilité.....	07
I.1.5. Applications des liquides ioniques.....	07
I.2. Caractéristiques microbiologiques des souches bactériennes.....	09
I.2.1. Introduction.....	09
a. <i>E. coli</i> .....	09
b. <i>Bacillus cereus</i> .....	09
c. <i>S. aureus</i> .....	09

### CHAPITRE II : MATÉRIEL & MÉTHODES

II. Matériel et méthodes.....	12
II.1. Etude prospective.....	12
II.2. Objectif du travail.....	12
II.3. Matériel et produits utilisés.....	12

II.3.1. Les disques d'antibiotiques utilisés.....	13
II.3.2. Les liquides ioniques utilisés.....	13
II.3.3. Les souches bactériennes.....	14
II.4. Protocole expérimental.....	14
II.4.1. La synthèse des liquides ioniques.....	16
a. La synthèse des LIs à base de DABCO.....	16
b. La synthèse des LIs à base de pyridine.....	16
II.4.2. La dilution des LIs.....	16
II.4.3. La préparation des suspensions bactériennes.....	17
a. Le repiquage des bactéries.....	17
b. La standardisation.....	17
II.5. Evaluation de l'activité antibactérienne.....	18
II.5.1. La méthode de diffusion des disques.....	18
II.5.1.1. Préparation des disques.....	18
II.5.1.2. Ensemencement des boîtes.....	18
II.5.1.3. Dépôts des disques.....	19
II.5.2. L'antibiogramme.....	20
II.5.3. La micro dilution en milieu liquide.....	21
II.5.3.1. La CMI.....	21
a. Préparation des suspensions bactériennes.....	21
b. Préparation de dilution des LIs.....	21
II.5.3.2. La CMB.....	23
1. Détermination de la CMB.....	23
1. a. Ensemencement des boîtes.....	23
1. b. Incubation.....	23
1. c. Lecture des résultats.....	23

## **CHAPITRE III : RÉSULTATS & DISCUSSION**

III.1. Diffusion des disques des LIs à base de DABCO.....	25
a. [EDABCO <sup>+</sup> ] [Br <sup>-</sup> ].....	25
b. [BDABCO <sup>+</sup> ] [Br <sup>-</sup> ].....	25

c. [ODABCO <sup>+</sup> ] [Br <sup>-</sup> ]	25
d. [DDABCO <sup>+</sup> ] [Br <sup>-</sup> ]	26
III.2. Résultats de diffusion des disques des LIs à base de pyridine	26
a. Bpyr [Br <sup>-</sup> ]	27
b. Hpyr [Br <sup>-</sup> ]	27
III.3. Comparaison entre deux LIs à base de DABCO et pyridine	28
III.4. Résultats de l'antibiogramme	28
III.5. Résultats de la microtitration	30
a. Résultats de CMI	30
b. Résultats de CMB	30
Conclusion	33

Références bibliographiques

Annexes

## Liste des Tableaux

<b>Tableau 01</b>	Les principales caractéristiques des trois souches testées.....	10
<b>Tableau 02</b>	Matériel et appareillages utilisés.....	12
<b>Tableau 03</b>	Les souches bactériennes testées.....	14
<b>Tableau 04</b>	Le remplissage de la microplaque.....	22
<b>Tableau 05</b>	Résultats de l'antibiogramme .....	29
<b>Tableau 06</b>	La concentration minimale inhibitrice (mol/l) de chaque LIs.....	30
<b>Tableau 07</b>	La concentration minimale bactéricide (mol/l) de chaque LIs.....	31

## Liste des Figures

<b>Figure 01</b> : Evolution du nombre de publication sur les LIs entre 1997 et 2013.....	04
<b>Figure 02</b> : Structure des principaux cations et anions rencontrés aux LIs .....	05
<b>Figure 03</b> : Voies typiques de la synthèse des LIs... ..	05
<b>Figure 04</b> : Applications des LIs.....	08
<b>Figure 05</b> : Les disques d'antibiotiques utilisés... ..	13
<b>Figure 06</b> : Les liquides ioniques utilisés.....	13
<b>Figure 07</b> : Le protocole expérimental .....	15
<b>Figure 08</b> : La dilution des LIs.....	16
<b>Figure 09</b> : Les suspensions bactériennes.....	17
<b>Figure 10</b> : Les suspensions bactériennes standardisées.....	18
<b>Figure 11</b> : Le spectrophotomètre .....	18
<b>Figure 12</b> : L'ensemencement des boîtes de Pétri.....	19
<b>Figure 13</b> : Le dépôt des disques de papier Wattman.....	19
<b>Figure 14</b> : Le dépôt des disques d'antibiotique.....	20
<b>Figure 15</b> : Le spectrophotomètre Elisa.....	23
<b>Figure 19</b> : Résultats de diffusion des disques des LIs à base de DABCO.....	26
<b>Figure 22</b> : L'effet des deux LIs à base de pyridinium sur les trois souches.....	27
<b>Figure 23</b> : L'effet de [BDABCO <sup>+</sup> ] [Br <sup>-</sup> ] et Bpyr [Br <sup>-</sup> ] sur les trois souches .....	28
<b>Figure 25</b> : Le diamètre des zones d'inhibitions .....	29
<b>Figure 26</b> : Résultats de la micro titration .....	30

## Liste des abréviations

<b>ATCC</b>	American Type Culture Collection
<b>CMI</b>	Concentration minimale inhibitrice
<b>CMB</b>	Concentration minimale bactéricide
<b>D.O</b>	Densité Optique
<b>LIs</b>	Les Liquides ioniques
<b>SM</b>	Solution mère
<b>UFC</b>	Unité Formant Colonie
<b>BMH</b>	Bouillon Muller Hinton
<b>TIAC</b>	Toxi infection alimentaire collectif
<b>[EDABCO<sup>+</sup>] [Br<sup>-</sup>]</b>	La bromure de 1-éthyl de 1,4 –diazabicyclo [2.2.2] octane
<b>[BDABCO<sup>+</sup>] [Br<sup>-</sup>]</b>	La bromure de 1-butyl 1,4 –diazabicyclo [2.2.2] octane
<b>[ODABCO<sup>+</sup>] [Br<sup>-</sup>]</b>	La bromure de 1-octyl de 1,4 –diazabicyclo [2.2.2] octane
<b>[DDABCO<sup>+</sup>] [Br<sup>-</sup>]</b>	La bromure de 1-décyl de 1,4 –diazabicyclo [2.2.2] octane
<b>BPyr [Br<sup>-</sup>]</b>	1-butylpyridinium Bromide
<b>HPyr [Br<sup>-</sup>]</b>	1-hexylpyridinium Bromide
<b>PF<sub>6</sub><sup>-</sup></b>	Hexafluorophosphate
<b>BF<sub>4</sub><sup>-</sup></b>	Tetrafluoroborate
<b>Tf<sub>2</sub>N<sup>-</sup></b>	bis (trifluoro méthyl sulfosyl) imide



## *Introduction Générale*

---

## Introduction Générale

---

Au cours des cinquante dernières années, les antibiotiques ont joué un rôle important dans la lutte contre de nombreuses infections et leur développement a révolutionné le traitement des maladies infectieuses. Leur découverte a été l'une des principales causes de l'augmentation spectaculaire de l'espérance de vie moyenne durant le 21<sup>ème</sup> siècle [1].

Cependant, avec l'utilisation croissante et parfois irrationnelle de ces molécules, les bactéries ont appris à se défendre et à s'adapter et certaines sont devenues résistantes aux antibiotiques.

De nos jours les infections microbiennes sont redevenues un problème de publique, qui a atteint intérêt mondial pour le développement de nouveaux médicaments. Les bactéries pathogènes comme *E. coli*, *staphylococcus aureus* et *B. cereus* sont des agents d'infections avec un fort potentiel épidémique d'acquisition et d'accumulation des facteurs de résistances.

L'échec de l'antibiothérapie à inciter l'Homme à chercher d'autres sources des produits naturels et efficaces utilisé comme des nouveaux supports du milieu.

Des nouvelles voies de recherches deviennent indispensables pour développer des alternatives, les liquides ioniques se sont avéré promoteurs en tant que réactif, qui ont la capacité de remplacer de nombreux solvants organiques volatiles dangereux.

Les liquides ioniques (LIs) présentent certaines propriétés physico-chimiques qui font d'eux une classe de solvants très convoitée par rapport aux solvants classiques ; ils sont caractérisé par leur facilité de préparation, leur haute stabilité thermique (qui les placent avantageusement en solvant de choix pour les réactions à haute température) ainsi qu'une pression de vapeur saturante négligeable qui les rend non inflammables [2].

Dans ce contexte et par leurs différentes propriétés, l'utilisation des LIs en domaine biologique est devenu un axe de recherche intéressant en raison de leur synthèse et leur influence positive en activité antibactérienne.

Notre mémoire est constitué de trois chapitres :

Le premier chapitre est consacré à une synthèse bibliographique sur les liquides ioniques et l'étude biologique aux souches pathogènes utilisées. Le deuxième chapitre aborde les différents modes opératoires et les techniques expérimentales réalisées. Le troisième chapitre rassemble l'ensemble des résultats et discussions.

Une conclusion fait l'objet d'une description de l'interaction des différents liquides ioniques aux souches pathogènes choisies.

■ ■ *Chapitre – I –*

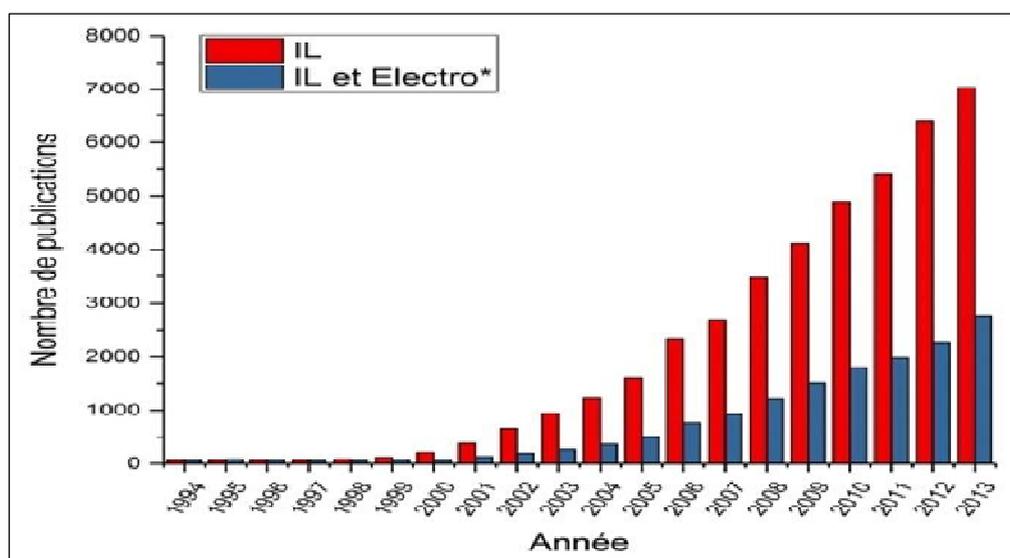
---

Étude Bibliographique

## I.1. Généralités sur les liquides ioniques

Au cours des deux dernières décennies ils ont constaté un intérêt grandissant envers les liquides ioniques en atteste le nombre croissant de publications sur le sujet (Figure1)

Ces nombreuses recherches ont aboutis à des avancées considérables notamment sur la compréhension des propriétés des LIs ainsi qu'à des applications remarquables dans divers domaines.[3]



**Figure 1 : Evolution du nombre de publication sur les LIs entre 1997 et 2013**

### I.1.1. Historique

La description du premier LI datent du milieu 19<sup>ème</sup> siècle .Lors de la réaction de Friedel et Craft entre le benzène et le chloromethane catalysée par un acide de Lewis, AlCl<sub>3</sub>, une seconde phase apparait sous la forme (huile rouge) .La structure de ce composé sera identifiée plus tard par le Pr. Jerry Atwood à l'université du Missouri grâce à l'apparition de la RMN et correspond au complexe intermédiaire , jusqu'à lors présumé, de la réaction de Friedel et Craft .

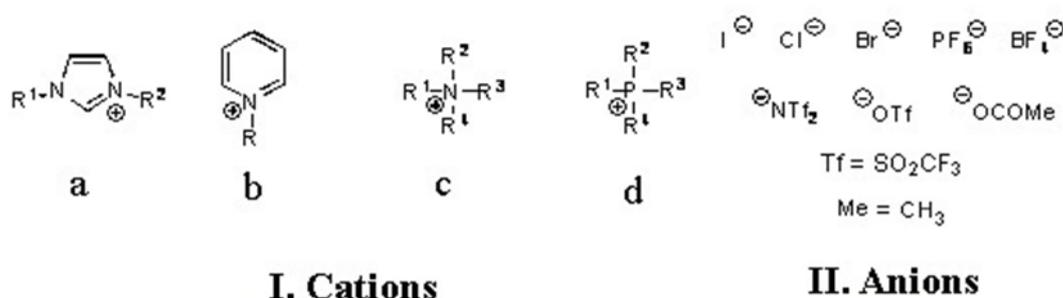
Un programme sera lancé pour développer ce type de composés dans des applications comme les liquides de propulsion des fusils marins et de l'artillerie navale et débouchera sur la découverte de nitrates plus complexes et la prise de nombreux brevets.

Un programme sera lancé pour développer ce type de composés dans des applications comme les liquides de propulsion des fusils marins et de l'artillerie navale et débouchera sur la découverte de nitrates plus complexes et la prise de nombreux brevets.[4]

### I.1.2. Définition

Les liquides ioniques (LIs) sont des sels liquides se différenciant de l'ensemble des sels fondus par une température de fusion inférieure à 100°C. Les LIs sont constitués d'un cation le plus souvent organique, associé à un anion organique ou inorganique et les combinaisons cations/anions possibles sont très nombreuses (>106) et en constante évolution.

Les cations rencontrés sont ammonium, imidazolium, pyridinium, pyrrolidinium, sulphonium et phosphonium. La figure ci-dessous (**Figure 02**) montre la structure des cations et anions les plus rencontrés aux LIs. [5]



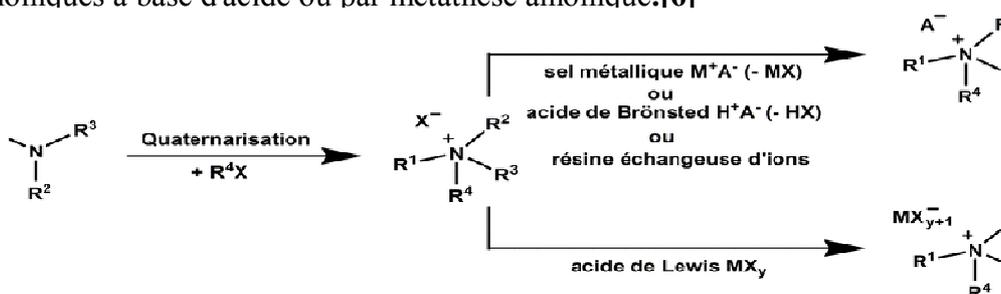
**Figure 02 : Structure des principaux cations**

**Et anions rencontrés aux liquides ioniques.**

### I.1.3. La synthèse des liquides ioniques

La synthèse des liquides ioniques peut être décrite en deux étapes (Figure 3) :

- La formation du cation désiré. Le cation souhaité peut être synthétisé soit par la protonation de l'amine par un acide ou par des réactions de quaternisation d'une amine avec un haloalcane.
- Échange d'anions, des réactions d'échange d'anions peuvent être réalisées par traitement des sels d'halogénure avec des acides de Lewis pour former liquides ioniques à base d'acide ou par métathèse anionique. [6]



**Figure 03 : Voies typiques de la synthèse des liquides ioniques**

#### I.1.4. Propriétés physico-chimiques des liquides ioniques

Les liquides ioniques se sont récemment ajoutés à la gamme des composés potentiellement utilisables en tant que solvants de réaction et présentent un grand intérêt du fait de leurs propriétés physico-chimiques particulières.

##### a. Point de fusion

Un sel fondu est défini liquide ionique lorsque son point de fusion est inférieur à 100°C. La température de fusion est influencée par la distribution de charge sur les ions, les capacités de liaisons hydrogène, la symétrie des ions et les interactions de Van der Waals. Il existe une grande incertitude sur la valeur de nombreux points de fusion de liquides ioniques issus de la littérature, car certains LIs présentent la propriété d'être surfondus, c'est-à-dire, qu'ils possèdent une plage de température dans laquelle ils passent par une phase cristalline vitreuse.

En effet, Ngo et al. ont montré que le point de fusion de certains LIs pouvait fortement varier selon qu'ils sont chauffés ou qu'ils sont refroidis [8]. L'état surfondu est une caractéristique associée à de nombreux liquides ioniques à base de cations imidazolium [7–9].

##### b. Stabilité thermique

La température maximale d'utilisation des LIs est fixée par sa température de décomposition. Généralement, les cations imidazolium ont des températures de décomposition supérieures à celles des cations ammonium, permettant leur utilisation à des températures supérieures à 250°C et dans certains cas supérieures à 400°C [7]. La stabilité thermique pour un liquide ionique constitué d'un cation imidazolium dépend essentiellement de la structure de l'anion. Ainsi, les anions engendrant les plus faibles interactions intermoléculaires induisent les températures de décomposition les plus élevées, avec l'ordre :  $\text{PF}_6^- > \text{Tf}_2\text{N}^- > \text{BF}_4^- > \text{I}^- > \text{Br}^- > \text{Cl}^-$  [8].

##### c. Densité

La majorité des LIs sont plus denses que l'eau avec des valeurs de densités comprises entre 1 et 1,6 g.cm<sup>-3</sup>. Dans le cas des LIs alkylimidazolium, les densités diminuent lorsque la longueur de la chaîne alkyle augmente [15]. L'addition d'un troisième substituant sur le cation imidazolium entraîne une diminution de la densité [16]. Pour un cation donné, la densité augmente avec une augmentation de la masse molaire de l'anion  $\text{Cl}^- < \text{BF}_4^- < \text{CF}_3\text{CO}_2^- < \text{Tf}_2\text{N}^-$ . Tous ces effets semblent reliés à l'encombrement du cation et de l'anion [16]. La présence d'impuretés comme l'eau ou les ions halogénures entraîne une diminution de la densité [9].

#### d. Viscosité

La viscosité des LIs est généralement deux à trois fois supérieure à celle des solvants organiques conventionnels. Les valeurs de viscosité des LIs de type 1,3-dialkylimidazolium à température ambiante vont de 40 à 1000 mPa.s.

La viscosité des LIs est déterminée essentiellement par leur tendance à former des liaisons hydrogène et par la force des interactions de Van der Waals [17]. L'augmentation de la longueur de la chaîne alkyle a pour conséquence l'augmentation de la viscosité due aux interactions de Van der Waals plus fortes [7, 15]. Pour un même cation, la viscosité évolue dans le sens :  $\text{Cl}^- > \text{PF}_6^- > \text{BF}_4^- > \text{Tf}_2\text{N}^-$ .

#### e. Toxicité et biodégradabilité

La toxicité des LIs est pour l'instant mal connue bien que, récemment, des études ont été entreprises afin d'en évaluer les propriétés toxicologiques. Thuy Pham et al. ont répertorié toutes les études toxicologiques réalisées sur les liquides ioniques [18]. Il en ressort plusieurs conclusions.

La toxicité des LIs constitués du cation alkylimidazolium augmente avec une augmentation de la longueur de la chaîne alkyle. L'introduction d'une chaîne polaire réduit leur toxicité et augmente leur biodégradabilité. Les cations pyridinium semblent être plus respectueux de l'environnement que les cations imidazolium.

L'anion a un effet moins important sur la toxicité, cependant les LIs constitués de l'anion  $\text{Tf}_2\text{N}^-$  ont un impact toxicologique sur l'environnement.

### I.1.5. Applications des liquides ioniques

Les liquides ioniques font l'objet de développements pour des applications dans plusieurs domaines [19] :

- Comme solvants pour la synthèse et la catalyse (bio) organique et organométallique [20].
- Comme solvants pour la séparation de molécules ou de métaux par extraction liquide-liquide [21] ou par extraction supercritique au  $\text{CO}_2$ .
- Comme électrolytes pour l'électrochimie [22].
- Comme composés pour la chimie analytique (support de phases stationnaires chromatographiques, revêtement capillaire, additifs de phase mobile ou électrolyte support) [23].
- Dans le domaine du cycle électronucléaire

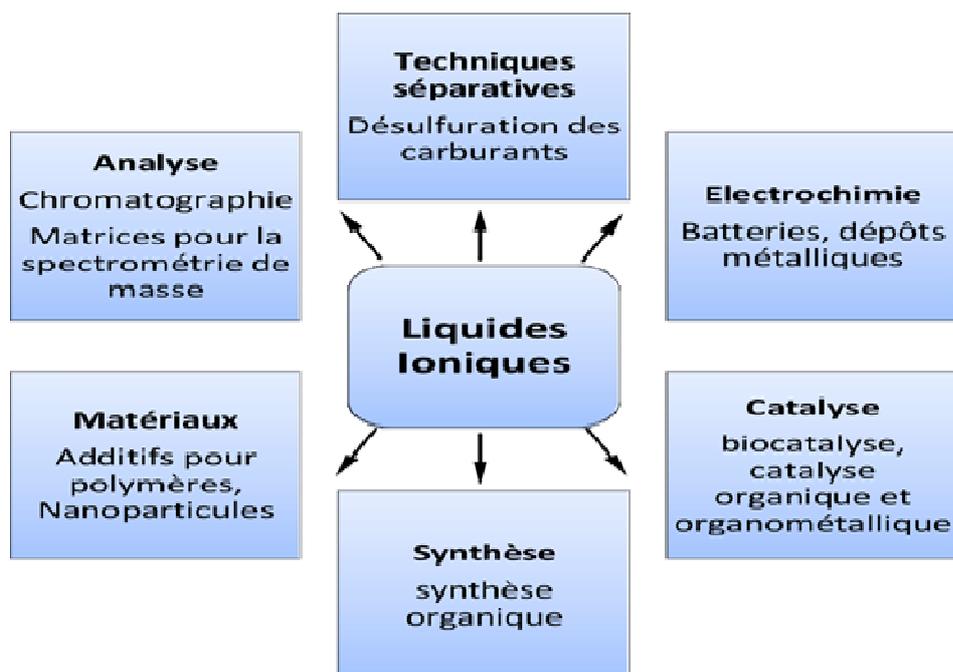


Figure 04 : Applications des LIs

## I.2. Caractéristiques microbiologiques des souches bactérienne

### I.2.1. Introduction

La taxonomie ou taxinomie, c'est l'étude de la diversité des micro-organismes et des relations susceptibles d'exister entre eux. Retrouvant trois domaines: La classification, la nomenclature et l'identification.

L'histoire de la classification des bactéries est longue et complexe: Elle a beaucoup évolué depuis la classification de Cohn en 1872, de Lehmann et Neumann en 1896 et de Migula en 1902, fondées sur les seuls caractères morphologiques. [24]

#### a. *Escherichia coli*

Selon Kaper (2004), *E. coli* appartient au groupe entérique, ce sont des bactéries appartenant à la:

<b>Règne</b>	Bactéria
<b>Embranchement</b>	Protéobactéria
<b>Classe</b>	Gamma proteobactéria
<b>Ordre</b>	Entérobactérial
<b>Famille</b>	Entérobactériacea
<b>Genre</b>	<i>Escherichia</i>
<b>Espèce</b>	<i>Escherichia coli</i>

#### b. *Bacillus cereus*

Selon la 9<sup>ème</sup> édition de Berge's manual of systematic bacteriology, le genre *Bacillus* sont classé parmi les bactéries à Gram positif, dans le phylum des Firmicutes

<b>Règne</b>	Bactéria
<b>Classe</b>	Bacilli
<b>Ordre</b>	Bacillal
<b>Famille</b>	Bacillaceae
<b>Genre</b>	<i>Bacillus</i>
<b>Espèce</b>	<i>Bacillus cereus</i>

#### c. *Staphylococcus aureus*

Selon la 9<sup>ème</sup> édition de Berge's manual of systematic bacteriology, le genre *Staphylococcus* sont classé parmi les bactéries à Gram positif, dans le phylum des Firmicutes.

<b>Règne</b>	Bactéria
<b>Phylum</b>	Firmicute
<b>Classe</b>	Bacilli
<b>Ordre</b>	Bacillal
<b>Famille</b>	Micrococcaceae
<b>Genre</b>	<i>Staphylococcus</i>
<b>Espèce</b>	<i>Staphylococcus aureus</i>

**Tableau 01** : Les principaux caractéristiques des trois souches

	Morphologie	Type respiratoire	Habitat	Pouvoir pathogène	Enzymes respiratoires
<i>S. aureus</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Coques, immobiles, isolés ou groupés en diplocoques, ou en amas</li> <li>- Diamètre moyen de 0.8 à 1µm.</li> <li>-Gram positif.</li> </ul>	Anaérobie facultatif	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Peau de l'homme et de l'animal</li> <li>-Les muqueuses (de nez notamment).</li> <li>-Dans l'eau, sol, et les aliments.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-c'est une bactérie commensal peuvent être attaqué les tissu par le biais cutanées.</li> <li>-Agent de TIAC (souche a coagulase positif)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Catalase(+)</li> <li>Oxydase(-)</li> </ul>
<i>E. coli</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Coccobacille (colibacille).</li> <li>-Une taille moyenne de 02 à 06 µm de long sur 1 à 1.5 de large</li> <li>-Gram négatif</li> </ul>	Aéro-anaérobie facultatif	<ul style="list-style-type: none"> <li>-la flore intestinal de l'Homme et des animaux à sang chaud.</li> <li>-Dans l'eau (après une contamination fécale).</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Elle est inoffensive dans la majorité des cas mais certaines souches s'avèrent pathogènes notamment la <i>Escherichia coli</i> entéro hémorragique(EHEC)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Catalase(+)</li> <li>Oxydase (-)</li> </ul>
<i>Bacillus cereus</i> [25]	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Bacilles, ont un diamètre de 1 à 1.8 µm par 4 à 8 µm de long, sporulé.</li> <li>-produisant des chaines courtes.</li> <li>-les extrémités des bacilles sont arrondies, Gram positif.</li> </ul>	Aérobie	<ul style="list-style-type: none"> <li>-sol, végétaux et aliment.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Un grand nombre de <i>B. cereus</i> causés de la diarrhée grave.</li> <li>-provoquées des TIAC (agent de TIAC ).</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Catalase(+)</li> <li>Oxydase (-)</li> </ul>

■ ■ *Chapitre – II–*

---

Matériel et méthodes

## II. Matériel et Méthodes

### II .1. Etude prospective

Notre travail expérimental a été réalisé en deux parties la première partie au laboratoire de la microbiologie de la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'université Ibn Khaldoun -Tiaret- et la deuxième partie au niveau de laboratoire d'hygiène et pathologie animale, situé à ITMA Tiaret, Durant une période de 25 jours allant du 12 avril au 06 mai 2021.

### II.2. Objectif du travail

L'objectif de ce travail est d'utiliser certains liquides ioniques pour évaluer leurs effets antibactériens vis-à-vis trois souches bactériennes pathogènes : *E. coli*, *S. aureus*, *Bacillus cereus*.

### II.3. Matériel et produits utilisés

Le matériel utilisé pour cette étude est composé de verreries, d'appareillages d'un ensemble de produits chimiques présenté dans le tableau 02 ci-dessous.

**Tableau 02 : Matériel et appareillages utilisés**

Verreries	Appareillages	Produits	Milieux de cultures	Autres
<ul style="list-style-type: none"> <li>. Pipettes Pasteur</li> <li>. Les tubes à essais bouchonnés</li> <li>. Eprouvette</li> <li>. Becher</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>. Spectrophotomètre (JENWAY)</li> <li>. Agitateur magnétique (TechnoKartell)</li> <li>. Balance</li> <li>. Autoclave (Webeco)</li> <li>. Micropipettes</li> <li>. Réfrigérateur (GFL)</li> <li>. Appareil Elisa (BioTeK)</li> <li>. Etuve (mammart)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>. Eau distillé</li> <li>. Eau distillé stérile</li> <li>. Eau physiologique</li> <li>. Les liquides ioniques</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>. <b>Milieux de repiquage</b></li> <li>Gélose nutritive</li> <li>Gélose macconkey</li> <li>. <b>Milieux d'antibiogramme</b></li> <li>Gélose Muller</li> <li>Hinton</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>. Bec bunsen</li> <li>. Barreau magnétique</li> <li>. Boîtes Pétri</li> <li>. Embouts</li> <li>. Anses de platines</li> <li>. Pincettes</li> <li>. Microplaques</li> <li>. Portoir des tubes</li> <li>. Les souches bactériennes</li> </ul>

### II.3.1. Les disques d'antibiotiques utilisés

Les antibiotiques utilisés selon les souches utilisés : Bacitracin-Chloramphénicol - Métronidazole –Tétracycline



Figure 05 : Les disques d'antibiotiques utilisés

### II.3.2. Les liquides ioniques

Six LIs ont été testés durant notre étude, Ils s'agit de : La bromure de 1-éthyl de 1,4 – diazabicyclo [2.2.2] octane, La bromure de 1-butyl 1,4 –diazabicyclo [2.2.2] octane, La bromure de 1-octyl de 1,4 –diazabicyclo [2.2.2] octane, La bromure de 1-décyl de 1,4 – diazabicyclo [2.2.2]octane, 1-butylpyridinium Bromide, 1-hexylpyridinium Bromide , la conservation de ces dernières s'est faite en température ambiante dans des tubes en verre entourés du papier aluminium et fermé hermétiquement, pour une utilisation ultérieure.



Figure 06 : Les LIs utilisés

### II.3.3. Les souches bactériennes

Le choix des microorganismes a été porté sur trois souches bactériennes provenant essentiellement de laboratoire de microbiologie de la faculté des sciences de la nature et de la vie –Tiaret-. (Tableau 03).

**Tableau 03:** Les souches bactériennes testées

Souches bactériennes	Gram	Référence
<i>Staphylococcus. aureus</i>	+	ATCC 25923
<i>Bacillus. cereus</i>	+	ATCC 11778
<i>Escherichia. coli</i>	-	ATCC 25922

### II.4. Protocole expérimental

Les démarches de notre étude est exprimée selon le protocole ci-dessous (la figure 07). [26]

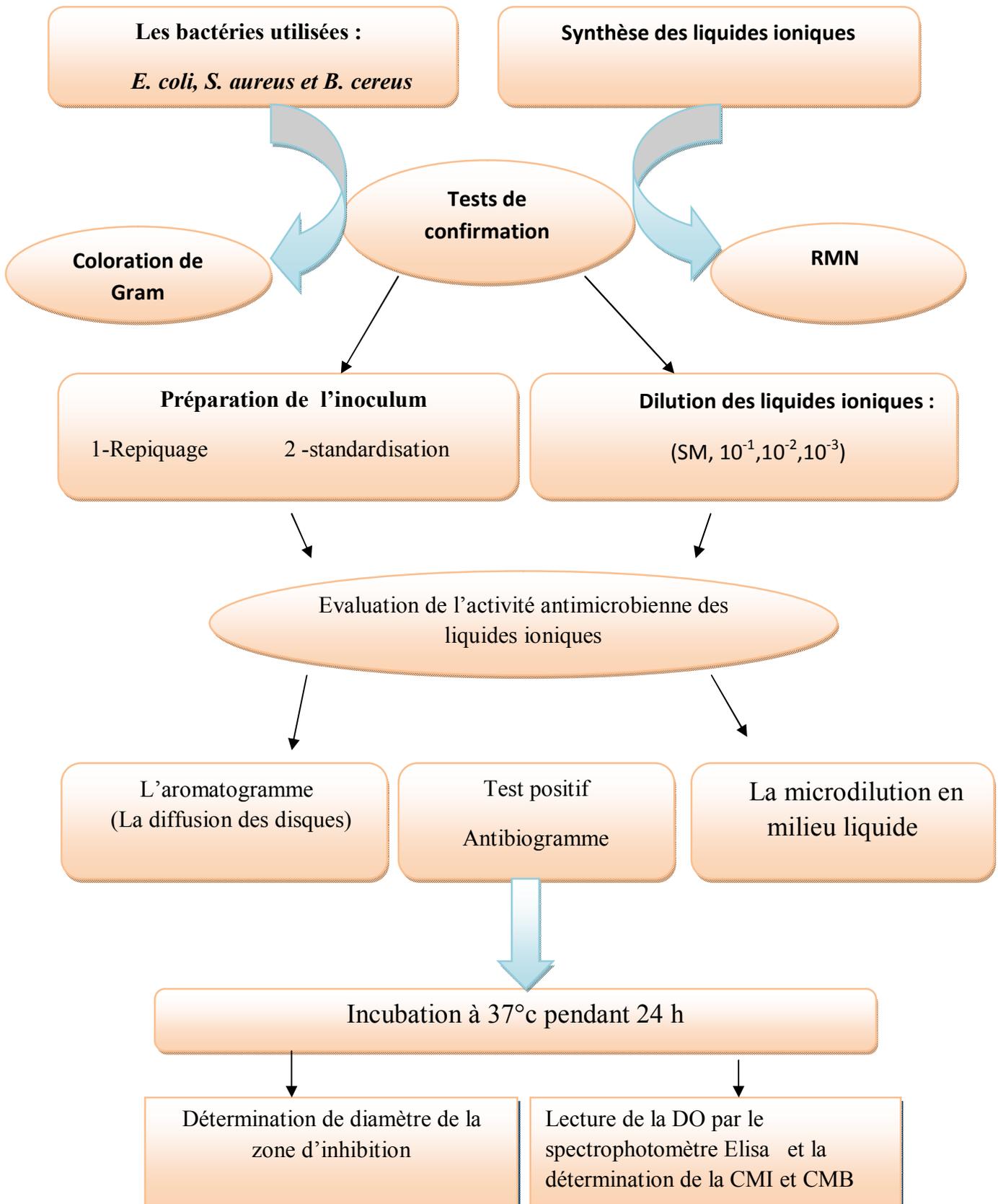


Figure 07 : protocole expérimental

### II.4.1. La synthèse des liquides ioniques

#### a. La synthèse des liquides ionique à base de DABCO

La synthèse des différents liquides ioniques à base de 1,4-diazabicyclo [2.2.2] octane a été effectuée selon la procédure [27]

#### b. La synthèse des liquides ionique à base de pyridine

Les liquides ioniques ont été synthétisés par réaction d'un équivalent molaire d'amine pyridine avec un excès de 1-chloroalcane pendant 12 h à reflux dans un ballon tricol, équipé d'un adaptateur d'admission d'azote gazeux, poche de thermomètre, agitateur magnétique et condenseur à reflux. Les produits ont été purifiés par lavage (au moins trois fois) avec de l'éthanoate d'éthyle à 273,2-278,2 K sur une période de 2h. L'éthanoate d'éthyle en excès a été éliminé sous vide et les produits ont finalement été séchés sous vide à 343,2 K pendant une journée. Les échantillons LIs ont été caractérisés par des spectres RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  dans  $\text{CDCl}_3$

### II.4.2. La dilution des liquides ioniques

La dilution des différents LIs synthétisé est faite de la même manière :

- Préparer une série de 3 tubes à vis contenant chacun 9ml d'eau distillé stérile.
- A partir du liquide ionique, introduire aseptiquement  $10\mu\text{l}$  à l'aide d'une micro pipette stérile dans le tube 1 contenant 9ml d'eau distillé stérile (il s'agit de la dilution  $10^{-1}$ ).
- Agiter doucement le tube par des mouvements de rotation.
- Refaire la même opération en partant cette fois-ci de la dilution  $10^{-1}$  du tube 1 et en prélevant  $10\mu\text{l}$  avec une autre pipette stérile et l'introduire dans le tube 2 pour avoir la dilution  $10^{-2}$ .
- Procéder de la même manière pour les autres tubes jusqu'à la dilution  $10^{-3}$ .

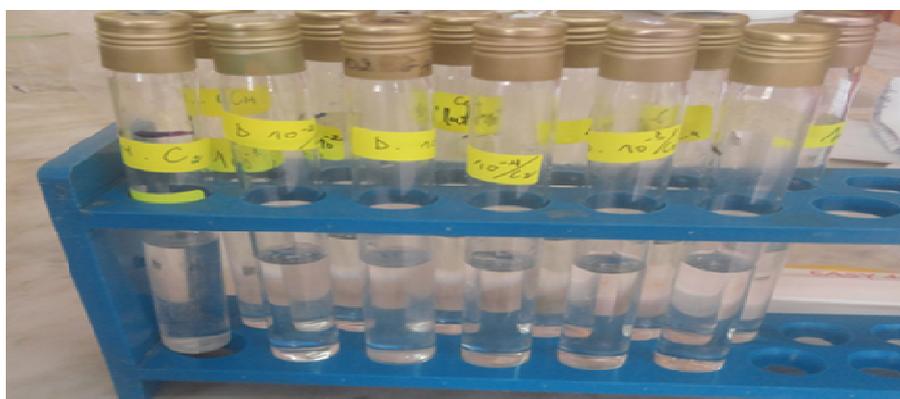


Figure 08 : La dilution des liquides ioniques

### II.4.3. La préparation des suspensions bactériennes

#### a. Le repiquage des bactéries

Le repiquage est l'action de prélever une petite partie d'une bactérie puis de la transplanter sur un milieu neuf ou elle continué à croitre pour obtenir une culture jeune. Les différentes souches bactériennes ont été repiquées par la méthode des stries de manière à obtenir des colonies isolées, puis incubées à une température de 37°C pendant 24 heures.

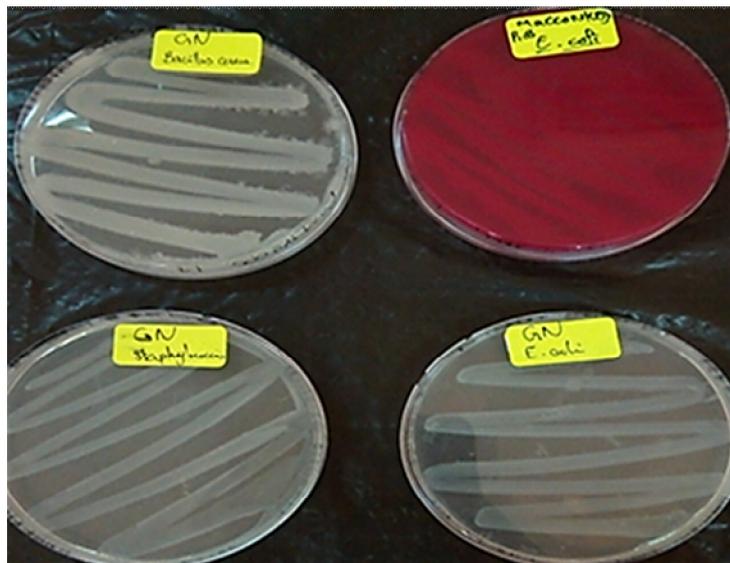
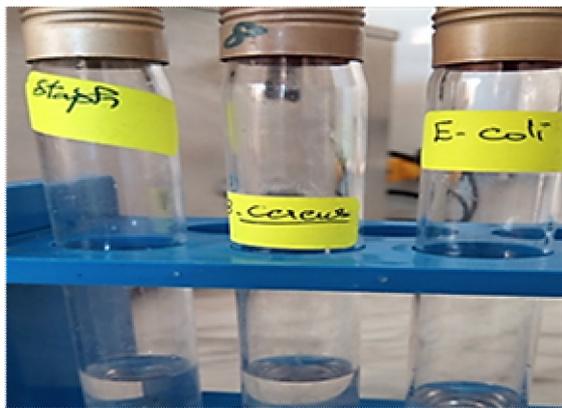


Figure 09 : Résultats de repiquage des souches

#### b. La standardisation

A partir de la culture jeune obtenu par le repiquage, à l'aide d'une anse de platine quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques sont prélevées et mises dans 9ml d'eau physiologique stérile à 0.9% de sel (NaCl). La suspension bactérienne est bien homogénéisée, et la densité optique lue à 625 nm est justifiée à 0.08 à 0.10 nm. On admet que cette densité mesurée à 625 nm est équivalente à 108 CFU/ml. L'inoculum est ajusté soit en ajoutant de la culture s'il est trop faible ou de l'eau physiologique stérile s'il est trop fort. L'ensemencement doit se faire en moins de 15 min après la préparation de l'inoculum.

**Figure10 : Les suspensions bactériennes****Figure11 : Le spectrophotomètre  
Standardisées**

## II.5. Evaluation de l'activité antibactérienne

Pour l'évaluation de l'activité antibactérienne des liquides ioniques nous avons utilisé deux méthodes :

### II.5.1. La méthode de diffusion du disque

La méthode de diffusion du disque est une méthode de mesure in vitro du pouvoir antibactérien, équivalent à un antibiogramme où les antibiotiques sont remplacés par les LI. Le principe expérimental consiste à mesurer les zones d'inhibition autour de disques imprégnés de LI déposés au sein d'une colonie bactérienne. La signification et l'interprétation est donc la même qu'un antibiogramme.

#### II.5.1.1. Préparation des disques

Le papier Wattman N° 3 coupé en disques de diamètre 6 mm de contour régulier pour donner une zone d'inhibition facile à mesurer, a été utilisé comme support. Les disques, une fois préparés, sont placés dans une boîte de pétri en verre contenant 10 ml d'eau distillée et placés dans un autoclave pendant 20 minutes à 120° C.

#### II.5.1.2. Ensemencement des boîtes

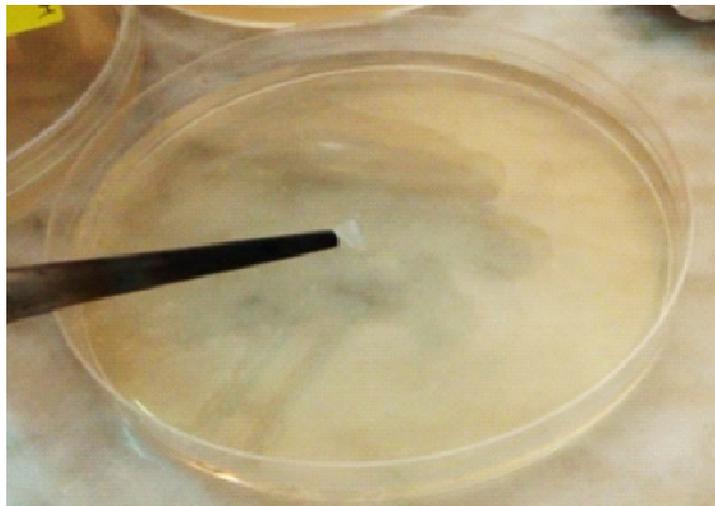
Vingt millilitres (20ml) de l'agar de Muller Hinton en surfusion sont coulés dans des boîtes de Pétri. Après solidification du milieu de culture, 100  $\mu$ l de la suspension bactérienne à tester ( $10^8$  CFU. $\text{ml}^{-1}$ ) sont étalés en surface.



**Figure12 : L'ensemencement des boites Pétri**

### **II.5.1.3. Dépôts des disques**

Dans des conditions aseptiques et à l'aide d'une pince stérile, des disques de papier Wattman N°3 (1disque/boite) est déposé sur l'agar, précédemment inoculé avec le microorganisme choisi, puis les imbibés par 10 L de liquide ionique.



**Figure 13 : Le dépôt des disques de papier Wattman**

Toutes les boites ont été incubées à l'étuve à 37°C pendant 24 h.

### II.5.2. L'antibiogramme

C'est une méthode qui permet de connaître les antibiotiques efficaces lors d'un traitement pour lutter contre la souche bactérienne responsable d'une pathologie.

Quatre antibiotiques différents ont été utilisés comme contrôle positif (Bacitracin , Chloramphenicol, Metronidazole, Tetracycline) ce choix est dû à la sensibilité des souches choisies pour ces antibiotiques.

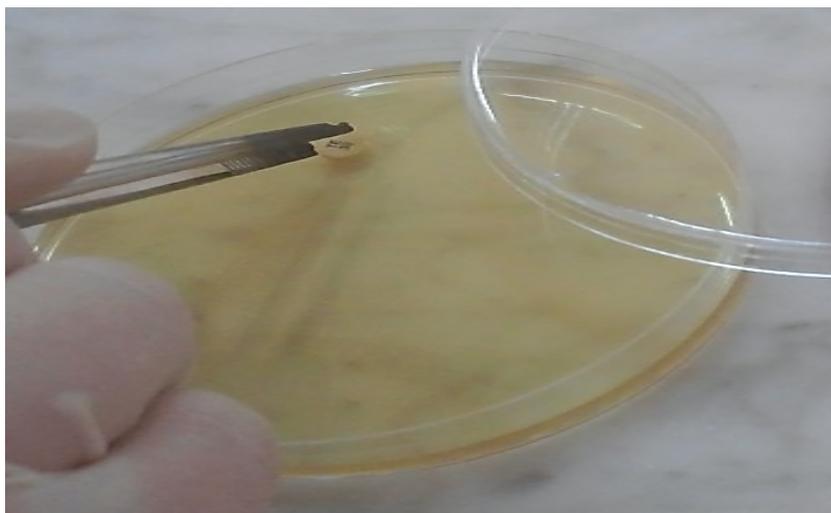
Après l'incubation, il est possible d'évaluer l'efficacité de chaque antibiotique en prenant en compte le diamètre de la zone d'inhibition de chaque antibiotique. Plus le diamètre est important plus l'action de l'antibiotique est forte.

#### A. Les étapes de l'antibiogramme :

1. Réaliser la gélose, milieu nutritif de croissance des bactéries
2. Verser directement et délicatement ce volume d'agar chaud dans la boîte de Pétri
3. Egaliser le niveau et supprimer rapidement les bulles
4. Laisser la boîte refroidir sur la paillasse sans mettre le couvercle et sans la remuer avant prise du gel d'Agar: environ 5 mn

#### B. le dépôt des 4 antibiotiques sur la gélose :

1. A l'aide de la pince, tremper un disque dans un antibiotique, enlever l'excédent de liquide sur le bord du tube puis le déposer au bon emplacement sur la gélose.
2. Rincer la pince au-dessus du bécher et l'essuyer.
3. Faire de même pour chaque antibiotique puis fermer le couvercle.
4. Incuber les boites à 37 °c pendant 24 h.



**Figure 14 : Le dépôt des disques d'antibiotiques**

**Lecture des résultats**

Le diamètre de la zone d'inhibition qui entoure chaque disque a été mesuré à l'aide d'une règle graduée. Les résultats sont exprimés en (cm).

**II.5.3. La micro dilution en milieu liquide****II.5.3.1. La CMI**

Pour rappel, la CMI est la concentration la plus faible d'un agent antimicrobien (en mol/L) qui, dans des conditions in vitro définies, inhibe l'apparition d'une croissance visible d'un Microorganisme au cours d'une période définie.

**A .Préparation de suspension bactérienne**

D'abord dessouder les souches sélectionnées précédemment en les repiquant sur gélose nutritive. Après une pousse d'environ 18h, nous avons commencé à procéder aux manipulations après avoir vérifié que tous les isollements étaient bien purs et viables. Ensuite, nous avons préparé les suspensions de chacune des souches à 0.5 MF dans une solution de bouillon de MH. Ces suspensions ont servi pour la micro dilution et la dilution.

**B .Préparation de dilution des liquides ioniques**

A partir de la solution mère des liquides ioniques on a préparé les dilutions  $10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3}, 10^{-4}, 10^{-5}, 10^{-6}, 10^{-7}$

**Méthode de remplissage de la microplaque**

Les essais sont réalisés sur des plaques de micro dilution 96 puits. La méthode est basée sur la préparation de solutions de travail des liquides ioniques pour un volume total de 100  $\mu$ L dans la cupule, c'est-à-dire, 50  $\mu$ L de liquide ionique et 50  $\mu$ L de suspension bactérienne. La norme fait référence à des volumes totaux de 100  $\mu$ L

- a) On doit utiliser un bouillon Mueller-Hinton pour les dilutions des suspensions

Tableau 04 : Remplissage de la microplaque

50µl    50 µl    50 µl    50 µl    50 µl    50 µl est rejeté



	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
<b>A</b>	SM	10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-6</sup>	10 <sup>-7</sup>	/	<b>Bouillon Muller Hinton</b>	<b>Le liquide ionique</b>	<b>La souche bactérienne standardisé</b>
<b>B</b>	SM								/			
<b>C</b>	SM								/			
<b>D</b>	SM								/			
<b>E</b>	SM								/			

b) Inoculation des plaques de micro dilution.

Les puits A, B, C, D et E contenant les LI :

**A** : [BDABCO<sup>+</sup>] [Br<sup>-</sup>]

**B** : [ODABCO<sup>+</sup>] [Br<sup>-</sup>]

**C** : [DDABCO<sup>+</sup>] [Br<sup>-</sup>]

**D** : Bpyr [Br<sup>-</sup>]

**E** : Hpyr [Br<sup>-</sup>]

D'après la norme ISO, les plaques doivent être inoculées dans les 30 min de la normalisation de la suspension de l'inoculum afin de maintenir la concentration du nombre de cellules viables. Nous avons d'abord distribué les solutions des liquides ioniques puis les suspensions.

c) Incubation des plaques de micro dilution et lecture des résultats

Pour éviter le dessèchement, les plaques sont empilées les unes sur les autres ; et incubé à 37°C pendant 24 h.

Pour la lecture, l'appareil Elisa est utilisé pour la détermination de la CMI.



**Figure 15 : L'appareil Elisa**

### **II.5.3.2. La CMB**

La concentration minimale bactéricide est la plus petite concentration d'antibiotique qui laisse un faible pourcentage de bactéries survivantes.

La CMB est déterminée secondairement à la CMI, on dénombre les bactéries survivantes en présence de concentrations d'antibiotique supérieures à la CMI. On utilise la méthode de dilution en milieu liquide. D'après Woolfrey et Lally [28], il serait préférable d'utiliser la méthode en micro dilution plutôt qu'en macro dilution, ceci permettrait de diminuer les variations de résultats dues à la technique.

#### **1. Détermination de la CMB**

##### **a. Ensemencement des boîtes**

Vingt millilitres (20ml) de l'agar de Muller Hinton en surfusion sont coulés dans des boîtes de Pétri. Après solidification du milieu de culture, 100  $\mu$ l de la suspension déposer dans les puits de microplaques (03 puits ; le puits de CMI, le puits précédent et qui suit) sont étalés en surface.

**b. Incubation :** Les boîtes ont été incubées à l'étuve à 37°C pendant 24 h.

**c. Lecture des résultats :** La boîte où on trouve aucune croissance est la boîte de CMB.

■ ■ *Chapitre – III –*

---

Résultats & discussion

Les composés cibles [EDABCO<sup>+</sup>] [Br<sup>-</sup>], [BDABCO<sup>+</sup>] [Br<sup>-</sup>], [ODABCO<sup>+</sup>] [Br<sup>-</sup>], [DDABCO<sup>+</sup>] [Br<sup>-</sup>], Bpyr [Br<sup>-</sup>] et Hpyr [Br<sup>-</sup>] ont été évalués in vitro pour leur activités antimicrobiennes. Le criblage primaire a été réalisé en utilisant la méthode de diffusion sur disques selon les procédures.

Les composés ont été testés contre *Bacillus cereus* (Gram<sup>+</sup>), *S. aureus* (Gram<sup>+</sup>) et *E. coli* (Gram<sup>-</sup>), les résultats ont été comparés aux quatre antibiotiques de forme de disques, qui sont ; Bacitracin, Chloramphénicol, Métronidazole et Tétracycline

### III.1. Diffusion des disques des liquides ioniques à base de DABCO

#### a)- [EDABCO<sup>+</sup>] [Br<sup>-</sup>]

Les résultats montrent que : Aucun effet n'a été observé sur les trois souches bactériennes (aucune zone d'inhibition).

Nos résultats sont confirmés par ceux de [29] qui ont trouvés que courte chaîne d'alkyle n'a aucun effet antibactérien.

#### b)- [BDABCO<sup>+</sup>] [Br<sup>-</sup>]

La figure 16 (Annexe N°3) représente l'effet antibactérien de [BDABCO<sup>+</sup>] [Br<sup>-</sup>] sur *S. aureus*.

Les résultats montrent l'apparition d'une petite zone d'inhibition sur *S. aureus* seulement avec la solution mère de ce liquide ionique.

Nos résultats sont confirmés par ceux [30] qui ont trouvés qu'une forte activité antibactérienne en raison de la longueur de la chaîne alkyle.

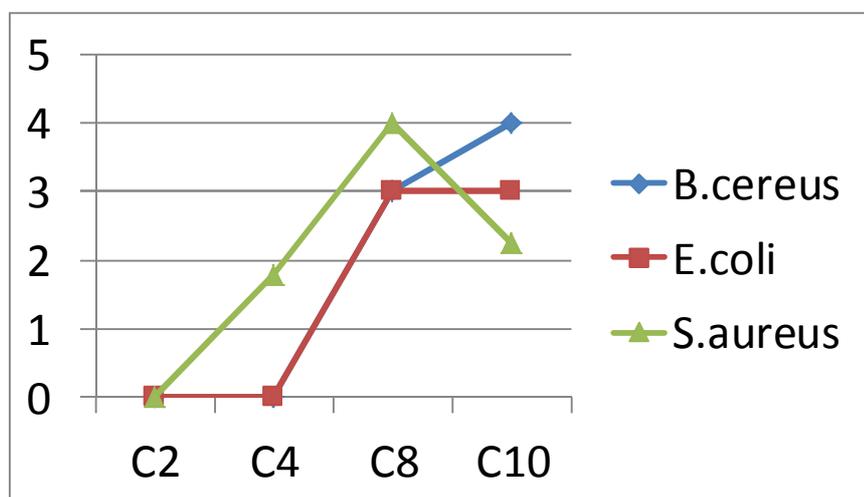
#### c)- [ODABCO<sup>+</sup>] [Br<sup>-</sup>]

La figure 17 (Annexe N°3) représente l'effet antibactérien du [ODABCO<sup>+</sup>] [Br<sup>-</sup>] sur les trois souches bactériennes. Les résultats montrent des zones d'inhibitions sur les trois souches bactériennes avec la solution mère de LI. Nos résultats sont confirmés par ceux [31] qui ont trouvés que l'activité antibactérienne du composé 4d ([ODABCO<sup>+</sup>] [Br<sup>-</sup>]) sur les mêmes souches qu'on a utilisé

#### d) [DDABCO<sup>+</sup>] [Br<sup>-</sup>]

La figure 18 (Annexe N°3) représente l'effet antibactérien de [DDABCO<sup>+</sup>] [Br<sup>-</sup>] sur les trois souches bactériennes. Les résultats montrent la présence des zones d'inhibitions sur *E. coli*, *S. aureus* avec la solution mère de ce LI et une zone d'inhibition sur *B. cereus* avec la solution mère et la dilution 10<sup>-1</sup>.

Nos résultats sont confirmés par ceux [32] qui ont trouvé que le composé 4f [DDABCO<sup>+</sup>] [Br<sup>-</sup>] a une activité antibactérienne contre les bactéries Gram + et Gram- et les champignons.



**Figure 19 : Résultats de diffusion des disques de [EDABCO<sup>+</sup>] [Br<sup>-</sup>], [BDABCO<sup>+</sup>] [Br<sup>-</sup>], [ODABCO<sup>+</sup>] [Br<sup>-</sup>] et [DDABCO<sup>+</sup>] [Br<sup>-</sup>]**

Le graphe représente l'effet des quatre liquides ioniques à base de DABCO sur les différentes souches bactériennes selon le diamètre des zones d'inhibitions, dont le [EDABCO<sup>+</sup>] [Br<sup>-</sup>] n'exerce aucun effet sur les trois souches.

Le [BDABCO<sup>+</sup>] [Br<sup>-</sup>] a un effet modéré sur *S. aureus* seulement, à partir de [ODABCO<sup>+</sup>] [Br<sup>-</sup>] l'effet antibactérien des liquides ioniques a été augmenté sur les trois souches bactériennes.

Ces résultats peuvent être dus à la variation de la longueur de la chaîne alkyle à l'exception de *S. aureus* avec une courte chaîne d'alkyle aucun effet de composé [EDABCO<sup>+</sup>] [Br<sup>-</sup>] est remarqué, Le Gram des bactéries peut aussi influencer sur la perméabilité de la paroi bactérienne dont les bactéries à Gram + ; *Bacillus cereus* et *S. aureus* sont plus sensibles par rapport à la bactérie *E. coli* à Gram-.

### III.2. Résultats de diffusion des disques des LIs à base de pyridine

#### a) Bpyr [Br<sup>-</sup>]

La figure 20 (Annexe N°3) représente l'effet antibactérien de Bpyr [Br<sup>-</sup>] sur les trois souches bactériennes. Les résultats montrent la présence des zones d'inhibitions sur les trois

souches bactériennes avec la solution mère seulement. Nos résultats sont confirmés par d'autres travaux [33] qui ont trouvés que les LIs à base de même cation et d'anion de nitrate [BPY ] [NO<sub>3</sub>] et [BMIM ] [NO<sub>3</sub>] ont entraînés des activités antibactériennes en raison de leur chaîne alkyle plus courte.

#### b) Hpyr [Br<sup>-</sup>]

La figure 21 (Annexe N°3) représente l'effet du Hpyr [Br<sup>-</sup>] sur *E. coli*. Les résultats montrent la présence des zones d'inhibitions sur seulement *E. coli* avec la solution mère et les dilutions 10<sup>-2</sup>, 10<sup>-3</sup> de ce liquide ionique.

Nos résultats contredit l'hypothèse que l'effet antibactérien augmente avec l'augmentation de la longueur de la chaîne alkyle.

Le graphe au-dessous représente l'effet des deux liquides ioniques à base de pyridine sur les souches utilisés. Selon le diamètre d'inhibition le Bpyr [Br<sup>-</sup>] a un effet important sur les trois souches en tant que le Hpyr [Br<sup>-</sup>] a un effet important sur *E. coli*. Cela est contrairement trouvé pour les deux souches *Bacillus cereus* et *S. aureus* ou aucun effet n'a été remarqué.

Selon les résultats obtenus, la longueur de la chaîne alkyle des liquides ioniques à base de pyridine n'a aucune influence sur les bactéries utilisées.

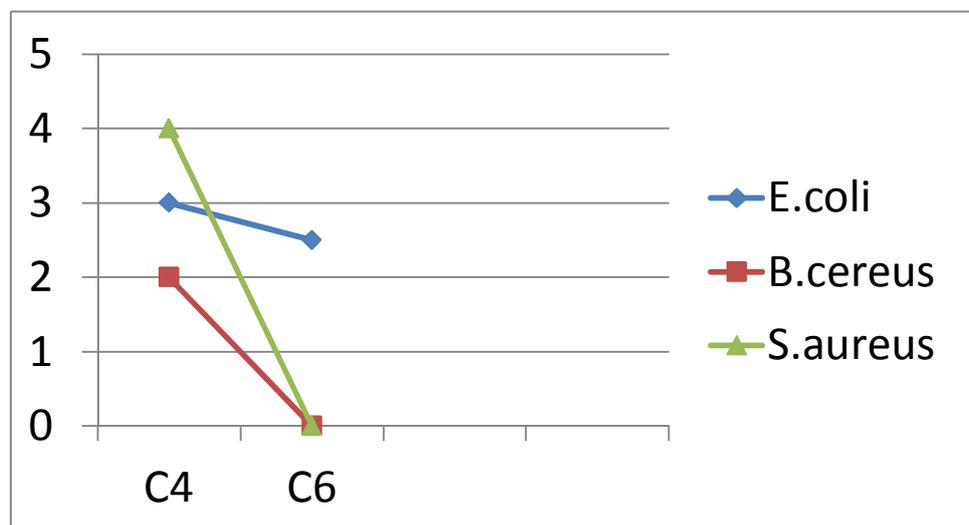


Figure22 : L'effet des deux LIs à base de pyridinium sur les trois souches

### III.3. Comparaison entre deux liquides ioniques à base de DABCO et Pyridine

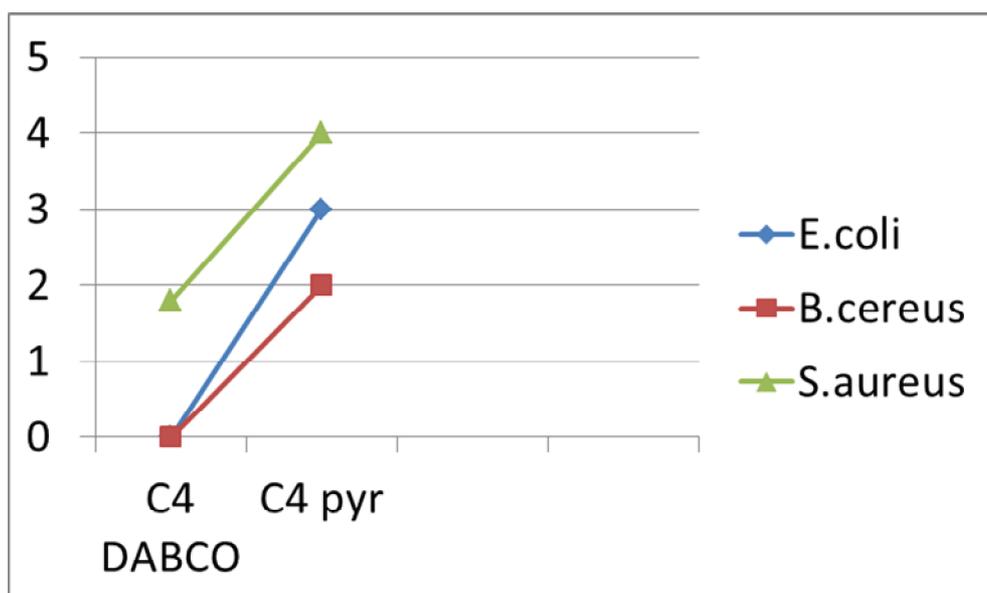


Figure23 : L'effet de  $[BDABCO^+][Br^-]$  et  $Bpyr[Br^-]$  sur les trois souches

Le graphe représente l'effet des deux LIs  $[BDABCO^+][Br^-]$  et  $Bpyr[Br^-]$  à deux bases de cation différents (DABCO et Pyridine) dont l'effet de LI à base de pyridine est très important par rapport aux LIs à base de DABCO.

Comme hypothèse nous pouvons constater que les liquides ioniques à base d'un cation ramifié peuvent influencée sur la sensibilité bactérienne.

### III.4. Résultats de l'antibiogramme (control positif)

La figure 24 (Annexe N°3) représente les résultats de l'antibiogramme vis-à-vis les trois souches bactériennes.

D'après l'étude statistique on a constaté qu'il y a une différence significative entre les antibiotiques utilisés ( $P < 0,05$ ), ainsi qu'entre les LIs utilisés.

Il n'y a pas une différence significative entre l'inhibition par les LIs ou par les antibiotiques avec les différentes bactéries ( $P > 0,05$ ) toutes les bactéries sont inhibées avec la même fréquence.

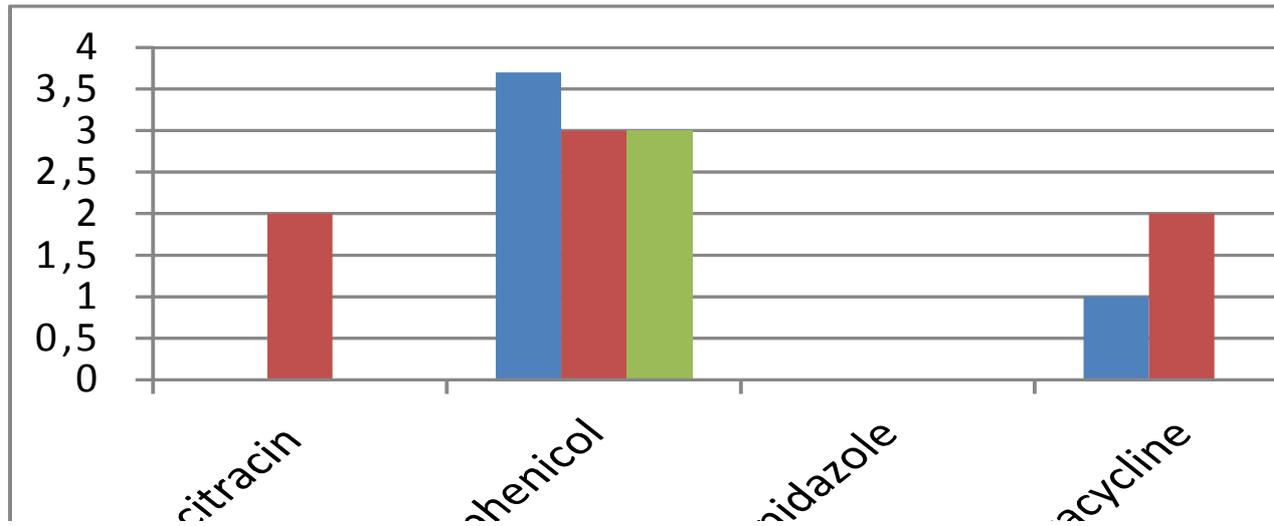


Figure25 : Les diamètres des zones d’inhibitions

Tableau 05 : Résultats de l’antibiogramme (souche + antibiotique)

souche	L’antibiotique	observation
<i>E. coli</i>	Bacitracin	Résistante
	Chloramphenicol	Sensible
	Metronidazol	Résistante
	Tetracycline	Intermédiaire
<i>B. cereus</i>	Bacitracin	Sensible
	Chloramphenicol	Sensible
	Metronidazol	Résistante
	Tetracycline	Sensible
<i>S. aureus</i>	Bacitracin	Résistante
	Chloramphenicol	Sensible
	Metronidazol	Résistante
	Tetracycline	Résistante

### III.5. Résultats de la micro titration

La lecture des résultats était faite par le spectre de l'appareil Elisa, les résultats obtenus sont représentés dans les tableaux (Annexe 03):

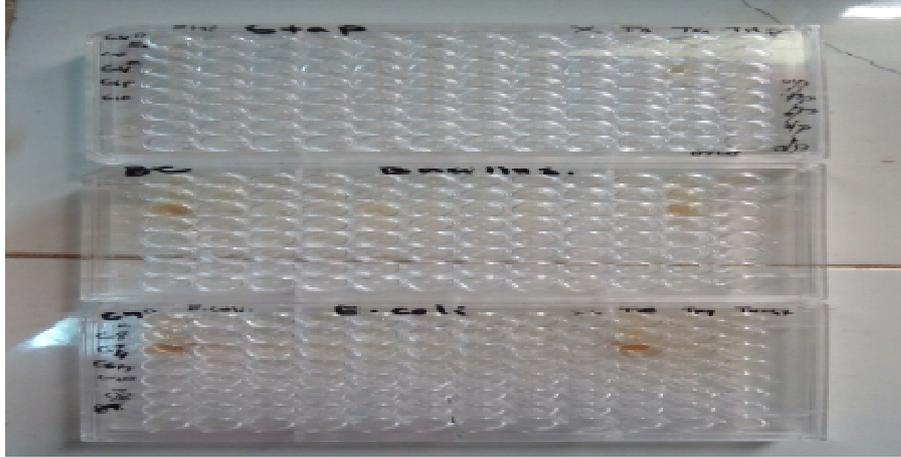


Figure26 : Résultats de la micro titration

#### a. Résultats de CMI :

Tableau 06 : La concentration minimale inhibitrice CMI (mol /l) de chaque LI

	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>B. cereus</i>
[BDABCO <sup>+</sup> ] [Br <sup>-</sup> ]	$5.10^{-3}$	$2,5.10^{-3}$	$3,1.10^{-4}$
[ODABCO <sup>+</sup> ] [Br <sup>-</sup> ]	$1,5.10^{-3}$	$1,5.10^{-3}$	$3.10^{-3}$
[DDABCO <sup>+</sup> ] [Br <sup>-</sup> ]	$3,9.10^{-5}$	$2,5.10^{-3}$	$7,81.10^{-5}$
Bpyr [Br <sup>-</sup> ]	$2,5.10^{-3}$	$10^{-2}$	$3.10^{-4}$
Hpyr [Br <sup>-</sup> ]	$2,3.10^{-4}$	$4,7.10^{-4}$	$1,5.10^{-2}$

### IV.5. Résultats de CMB :

**Tableau 07** : La concentration minimale bactéricide CMB (mol/l) pour chaque LIs.

	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>B. cereus</i>
[BDABCO <sup>+</sup> ] [Br <sup>-</sup> ]	$5.10^{-3}$	$1,56.10^{-4}$	$1,25.10^{-3}$
[ODABCO <sup>+</sup> ] [Br <sup>-</sup> ]	$1,5.10^{-3}$	$1,5.10^{-3}$	$7,5.10^{-3}$
[DDABCO <sup>+</sup> ] [Br <sup>-</sup> ]	$1,95.10^{-5}$	$2,5.10^{-3}$	$1,25.10^{-3}$
Bpyr [Br <sup>-</sup> ]	$1,25.10^{-3}$	$1,5.10^{-4}$	$2,5.10^{-3}$
Hpyr [Br <sup>-</sup> ]	$2,3.10^{-4}$	$4,7.10^{-4}$	$2,3.10^{-4}$



*Conclusion*

## Conclusion générale

---

Les bienfaits des substances naturelles et chimiques sont multiples et différentes selon leur nature et leur type .En effet depuis l'antiquité ils ont été utilisés comme des remèdes de plusieurs pathologies et maladies sur la santé humaine.

Cependant notre travail s'intéresse à la synthèse des liquides ioniques à base de DABCO et de pyridine ; [EDABCO<sup>+</sup>] [Br<sup>-</sup>], [BDABCO<sup>+</sup>] [Br<sup>-</sup>] , [ODABCO<sup>+</sup>] [Br<sup>-</sup>] , [DDABCO<sup>+</sup>] [Br<sup>-</sup>], Bpyr [Br<sup>-</sup>] et Hpyr [Br<sup>-</sup>] et étudier leur effets antibactérien vis-à-vis *E. coli*, *S. aureus* et *Bacillus cereus*.

Afin d'évaluer cet effet des tests antibactériens ont été réalisé : la méthode de diffusion des disques qui nous a permis de mettre en évidence le pouvoir antibactérien des liquides ioniques utilisés vis-à-vis les trois bactéries , un antibiogramme a été réalisé pour la comparaison entre l'effet des LIs et des antibiotiques, et la micro dilution en milieu liquide qui permet de déterminer la CMI (comprise entre  $1,5 \cdot 10^{-3}$  mol/l et  $5 \cdot 10^{-3}$  mol/l) et la concentration minimale bactéricide ( qui varie entre  $1,25 \cdot 10^{-3}$  mol/l et  $5 \cdot 10^{-3}$  mol/l).

D'après l'étude statistique on a constaté qu'il y a une différence significative entre les antibiotiques utilisés ( $P < 0,05$ ), ainsi qu'entre les LIs utilisés.

Il n'y a pas une différence significative entre l'inhibition par les LIs ou par les antibiotiques avec les différentes bactéries ( $P > 0,05$ ) toutes les bactéries sont inhibées avec la même fréquence.

Les LIs ont montrés un effet très efficace pour les trois souches , cela nous indique que les LIs à base de cation pyridine ont bien réagit par rapport au LIs à base de DABCO. Nous constatons aussi que les LIs à base de pyridine son effet antibactérien augmente avec la diminution de la chaine allylique [34], contrairement au DABCO la ramification a une influence très remarquable [35].

D'après ces résultats préliminaires et les données de littérature, nous suggérons que ces liquides ioniques et les antibiotiques utilisés ont un effet sémilair vis-à-vis les différentes souches. Cette étude nous permis d'envisager une évaluation *in-vitro* plus large et une évaluation *in-vivo* sur des organismes atteints des maladies bactériennes.

## ■ ■ Références bibliographiques

---

- [1] Yim, G. (2011). L'Attaque des superbactéries: Résistance aux antibiotiques. The Science Creative Quarterly. Issue Six. Lapsus Nivium.
- [2] Soussy, C-J. (2007). Résistance bactérienne aux antibiotiques. Monographies en urologie. P:21-46.biphasic systems.
- [3] Anvari, S., Hajfarajollah, H., Mokhtarani, B., Enayati, M., Sharifi, A., & Mirzaei, M. (2016). Antibacterial and anti-adhesive properties of ionic liquids with various cationic and anionic heads toward pathogenic bacteria. *Journal of Molecular Liquids*, 221, 685–690.
- [4] L. Bouchardy, (2016). Elaboration de liquide ionique (chiraux) réversibles et applications en catalyse organique. Carbènes N-hétérocycliques chiraux : synthèse et application dans la réaction d'addition conjugueé, thèse de doctorat, Université Paris Saclay,
- [5] Pérez-Ramírez, J. ; Kapteijn, F. ; Schöffel, K. ; Moulijn, J. 2003, 'Formation and control of N<sub>2</sub>O in nitric acid production : Where do we stand today ?' *Applied Catalysis B : Environmental.*, 44, 2, 117–151.
- [6] Ionic Liquids: Synthesis and Applications in Catalysis
- [7] Bonhôte, P. ; Dias, A.P. ; Papageorgiou, N. ; Kalyanasundaram, K. ; Grätzel, M., 1996 'Hydrophobic, Highly Conductive Ambient-Temperature MoltenSalts'. *Inorg. Chem.*, 35, 5, 1168–1178.
- [8] Ngo, H. ; LeCompte, K. ; Hargens, L. ; McEwen, A. 2000, 'Thermal properties of imidazolium ionic liquids'. *Thermochim. Acta.*, 357-358, 97–102.
- [9] Huddleston, J. ; Visser, A. ; Reichert, W. ; Willauer, H. ; Broker, G. ;Rogers, R., .2001 'Characterization and comparison of hydrophilic and hydrophobic room temperature ionic liquids incorporating the imidazolium cation'. *Green Chem*, 3, 4, 156–164.
- [10] Holbrey, J. ; Seddon, K. 1999, 'The phase behaviour of 1-alkyl-3-methylimidazolium tetrafluoroborates ; ionic liquids and ionic liquid crystals'. *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 2133–2139.
- [11] Chun, S., D.S.B.R. 2001, 'Influence of structural variation in room-temperature ionic liquids on the selectivity and efficiency of competitive alkali metal salt extraction by a crown ether'. *Anal. Chem.*, 73, 15, 3737–3741.
- [12] Pringle, J. ; Golding, J. ; Baranyai, K. ; Forsyth, C. ; Deacon, G. ; Scott, J. ; MacFarlane, D. 2003, 'The effect of anion fluorination in ionic liquids – Physical properties of a range of bis(methanesulfonyl)amide salts'. *New J. Chem*, 27,10, 1504–1510.
- [13] Marsh, K. ; Boxall, J. ; Lichtenthaler, R 2004., 'Room temperature ionic liquids and their mixtures - A review'. *Fluid Phase Equilib.*, 219, 1, 93–98.

- [14] Fredlake, C. ; Crosthwaite, J. ; Hert, D. ; Aki, S. ; Brennecke, J (2004). ‘Thermophysical properties of imidazolium-based ionic liquids’. *J. Chem. Eng. Data.*, 49, 4, 954–964.
- [15] Greaves, T. ; Drummond, C. 2008, ‘Protic ionic liquids : Properties and applications’.*Chem. Rev.*, 108, 1, 206–237.
- [16] Stolte, S. ; Matzke, M. ; Arning, J. ; Bösch, A. ; Pitner, W.R. ; WelzBiermann, U. ; Jastorff, B. ; Ranke, J., 2007. ‘Effects of different head groups and functionalised side chains on the aquatic toxicity of ionic liquids’. *Green Chem.*, 9, 11, 1170–1179.
- [17] Jastorff, B. ; Mölter, K. ; Behrend, P. ; Bottin-Weber, U. ; Filser, J. ; Heimers, A. ; Ondruschka, B. ; Ranke, J. ; Schaefer, M. ; Schröder, H. ; Stark, A. ; Stepnowski, P. ; Stock, F. ; Störmann, R. ; Stolte, S. ; WelzBiermann, U. ; Ziegert, S. ; Thöming, J., 2005 .‘Progress in evaluation of risk potential of ionic liquids - Basis for an eco-design of sustainable products’. *Green Chem.*, 7, 5, 362–372.
- [18] Thuy Pham, T. ; Cho, C.W. ; Yun, Y.S., 2010. ‘Environmental fate and toxicity of ionic liquids : A review’. *Water Res.*, 44, 2, 352–372.
- [19] Wasserscheid, P. and T. Welton, 2003. *Ionic Liquids in Synthesis.*, Weinheim: Wiley-VCH.
- [20] Olivier-Bourbigou, H. and Y. Chauvin, 2004. Special issue - Ionic liquids as promising alternative media for organic synthesis and catalysis. *Journal Of Molecular Catalysis A-Chemical.*, 214(1): p. 9-9
- [21] Olivier-Bourbigou, H. And L. Magna, 2002. Ionic liquids: perspectives for organic and catalytic reactions. *Journal Of Molecular Catalysis A-Chemical.*, 182(1): p. 419-437.
- [22] Abraham, M.H., et al., 2003. some novel liquid partitioning systems: Water-ionic liquids and aqueous biphasic systems. *Industrial & Engineering Chemistry Research.*, 42(3): p. 413-418
- [23] Holbrey, J.D., et al., 2008. Desulfurisation of oils using ionic liquids: selection of cationic and anionic components to enhance extraction efficiency. *Green Chemistry.* 10(1): p. 87-92.
- [24] Delarras C.(2014). *Pratique en microbiologie de laboratoire: recherche de bactéries et de levures-moisissures.* Lavoisier, 2ème édition, Paris, France. P.6
- [25] Dromigny É.(2008). *Bacillus cereus: monographies de microbiologie.* Lavoisier, Paris, France. P2,5,8
- [26] Yarinich, LA, Burakova, EA, Zakharov, BA, Boldyreva, EV, Babkina, IN, Tikunova, NV et Silnikov, VN (2015). Synthèse et relation structure-activité de nouveaux dérivés de

1,4-diazabicyclo[2.2.2]octane en tant qu'agents antimicrobiens puissants. Journal européen de chimie médicinale, 95, 563-573.

[27] S. Weber , J. Brüning , V. Zeindlhofer , C. Schröder , B. Stöger , A. Limbeck , K. Kirchner , K. Bica , (2018). Selective hydrogenation of aldehydes using a well-defined Fe (II) PNP pincer complex in biphasic medium, ChemCatChem 10 (19) 4386–4394

[28] Poole, C.F., 2007. Applications of ionic liquids in extraction, chromatography, and electrophoresis, in Advances in Chromatography, Vol 45.. p. 89 124

[29] Anvari, S., Hajfarajollah, H., Mokhtarani, B., Enayati, M., Sharifi, A., & Mirzaei, M. (2016). Antibacterial and anti-adhesive properties of ionic liquids with various cationic and anionic heads toward pathogenic bacteria. Journal of Molecular Liquids, 221, 685–690.

[30] Yarinich, LA, Burakova, EA, Zakharov, BA, Boldyreva, EV, Babkina, IN, Tikunova, NV et Silnikov, VN (2015). Synthèse et relation structure-activité de nouveaux dérivés de 1,4-diazabicyclo[2.2.2]octane en tant qu'agents antimicrobiens puissants. Journal européen de chimie médicinale, 95, 563-573.

[31] Anvari, S., Hajfarajollah, H., Mokhtarani, B., Enayati, M., Sharifi, A., & Mirzaei, M. (2016). Antibacterial and anti-adhesive properties of ionic liquids with various cationic and anionic heads toward pathogenic bacteria. Journal of Molecular Liquids, 221, 685–690.

[32] Yarinich, LA, Burakova, EA, Zakharov, BA, Boldyreva, EV, Babkina, IN, Tikunova, NV et Silnikov, VN (2015). Synthèse et relation structure-activité de nouveaux dérivés de 1,4-diazabicyclo[2.2.2]octane en tant qu'agents antimicrobiens puissants. Journal européen de chimie médicinale, 95, 563-573.

[33][34] Anvari, S., Hajfarajollah, H., Mokhtarani, B., Enayati, M., Sharifi, A., & Mirzaei, M. (2016). Antibacterial and anti-adhesive properties of ionic liquids with various cationic and anionic heads toward pathogenic bacteria. Journal of Molecular Liquids, 221, 685–690.

[35] Yarinich, LA, Burakova, EA, Zakharov, BA, Boldyreva, EV, Babkina, IN, Tikunova, NV et Silnikov, VN (2015). Synthèse et relation structure-activité de nouveaux dérivés de 1,4-diazabicyclo[2.2.2]octane en tant qu'agents antimicrobiens puissants. Journal européen de chimie médicinale, 95, 563-573.



## Annexes

**ANNEXE N° 1****Composition des milieux de culture****Mueller Hinton (solide) ph : 7.2-7.4**

Infusion de viande de bœuf	0,2g
Hydrolysate de caséine	17,5g
Amidon	1,5g
Agar	10g

**Mueller Hinton (liquide)**

Infusion de viande de bœuf	300g
Hydrolysate de caséine	17,5g
Amidon	1,5g
Gélose	17,0g

**Gélose de Macconkey ph : 7,1**

Peptone	200g
Sucre	10,0g
Seles biaires	321,5g
Cristal violet	0,001g
Rouge neutre	0,05g
Chlorure de sodium	5,0g
Agar-Agar	15,0g

## ANNEXE N° 02

**Tableau 08:** La charge bactérienne de *B. cereus* obtenu par le spectrophotomètre d'Elisa

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	0,061	0,06	0,106	0,06	0,058	0,054	0,147	0,377	/	0,058	0,05	0,871
B	0,061	0,053	0,116	0,065	0,089	0,069	0,073	0,061	/	0,072	0,056	0,074
C	0,118	0,122	0,088	0,069	0,081	0,07	0,051	0,073	/	0,067	0,103	0,074
D	0,052	0,066	0,072	0,063	0,185	0,362	0,062	0,502	/	0,077	0,053	0,069
E	0,074	0,055	0,075	0,099	0,202	0,19	0,094	0,104	/	0,115	0,085	0,192

**Tableau 09 :** La charge bactérienne d'*E. Coli* obtenu par le spectrophotomètre d'Elisa

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	0,065	0,047	0,061	0,061	0,055	0,052	0,055	0,058	/	0,076	0,544	0,849
B	0,073	0,051	0,048	0,053	0,056	0,048	0,048	0,06	/	0,063	0,522	0,327
C	0,181	0,068	0,071	0,066	0,097	0,062	0,073	0,052	/	0,196	0,494	0,847
D	0,063	0,069	0,074	0,059	0,067	0,145	0,229	0,341	/	0,106	0,491	0,865
E	0,064	0,067	0,103	0,132	0,069	0,06	0,059	0,057	/	0,061	0,373	0,907

**Tableau 10 :** La charge bactérienne de *S. aureus* obtenu par le spectrophotomètre d'Elisa

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	0,062	0,134	0,069	0,072	0,224	0,343	0,473	0,695	/	0,634	0,077	0,652
B	0,055	0,059	0,049	0,056	0,064	0,057	0,255	0,39	/	0,088	0,054	0,684
C	0,108	0,054	0,066	0,063	0,062	0,064	0,06	0,56	/	0,066	0,104	0,687
D	0,042	0,044	0,047	0,056	0,07	0,203	0,265	0,348	/	0,067	0,064	0,787
E	0,081	0,084	0,175	0,085	0,065	0,065	0,056	0,256	/	0,074	0,076	0,675

## ANNEXE N° 03

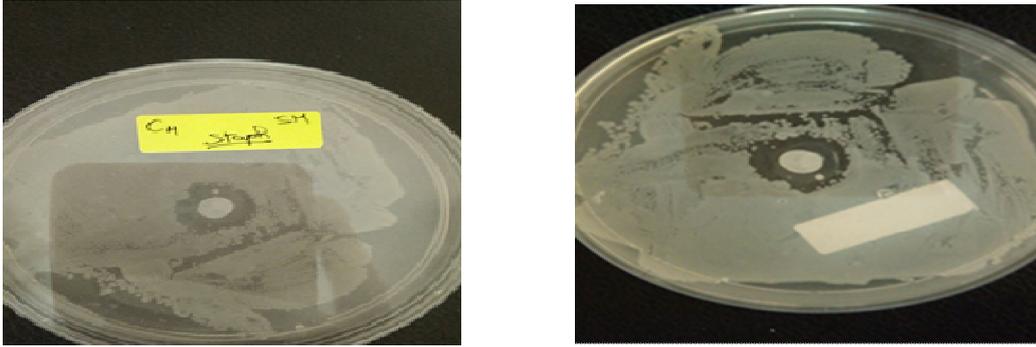


Figure 16 : L'effet antibactérien de  $[BDABCO^+][Br^-]$  sur *S. aureus*

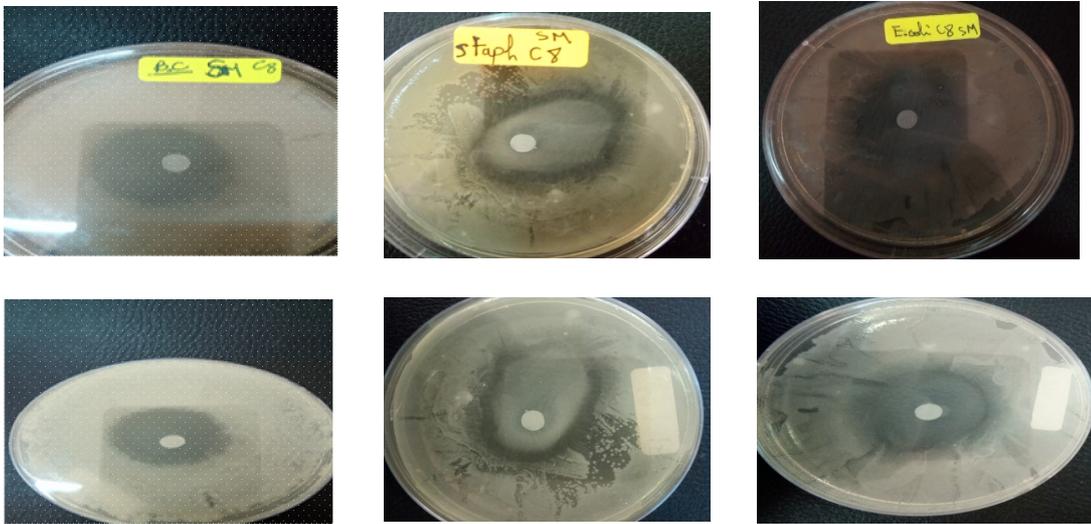


Figure17 : L'effet antibactérien du  $[ODABCO^+][Br^-]$  sur les trois souches

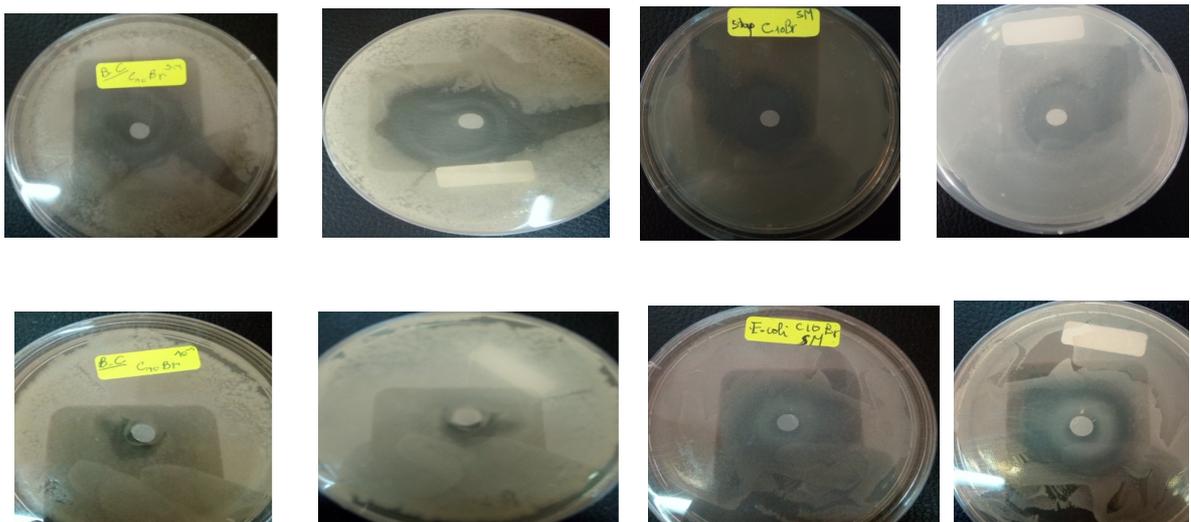


Figure18 : L'effet antibactérien de  $[DDABCO^+][Br^-]$  sur les trois souches

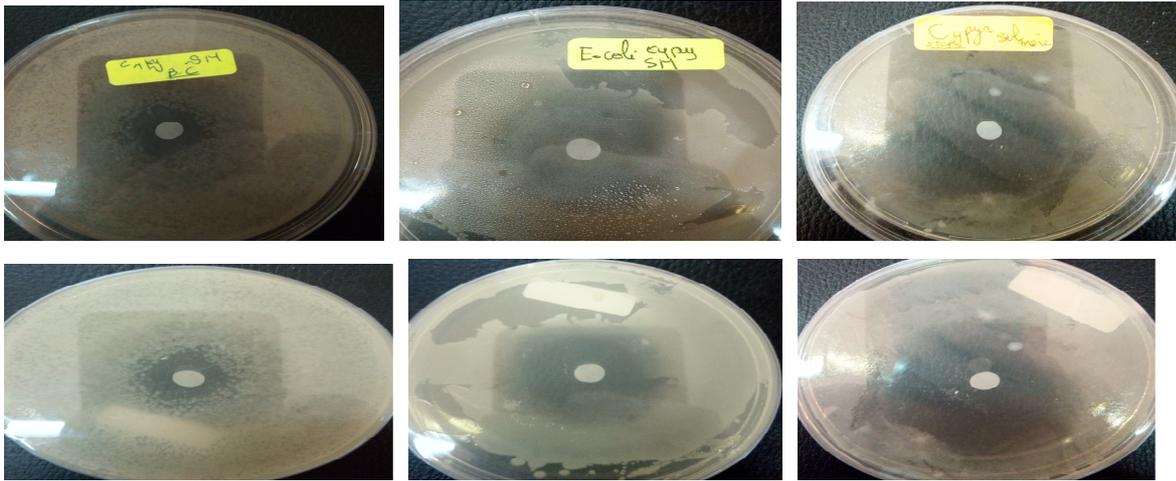


Figure20 : L'effet antibactérien du Bpyr [Br<sup>-</sup>] sur les trois souches



Figure21 : L'effet antibactérien du Hpyr [Br<sup>-</sup>] sur *E. coli*

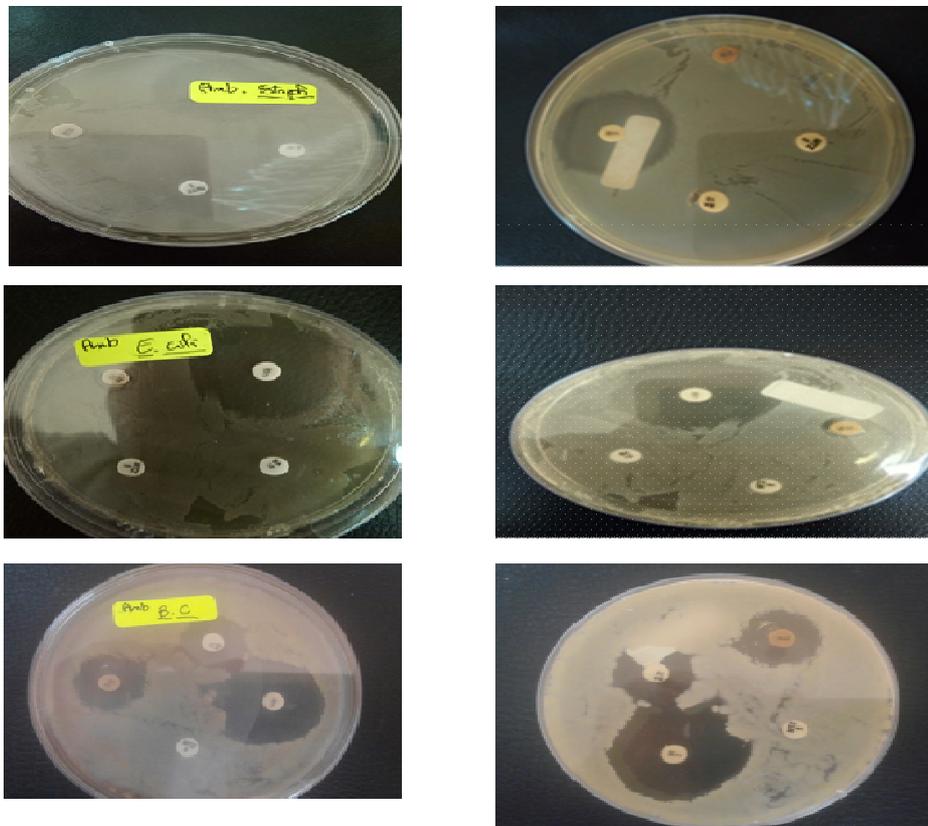


Figure24 : Résultats de l'antibiogramme vis-à-vis les trois souches bactériennes

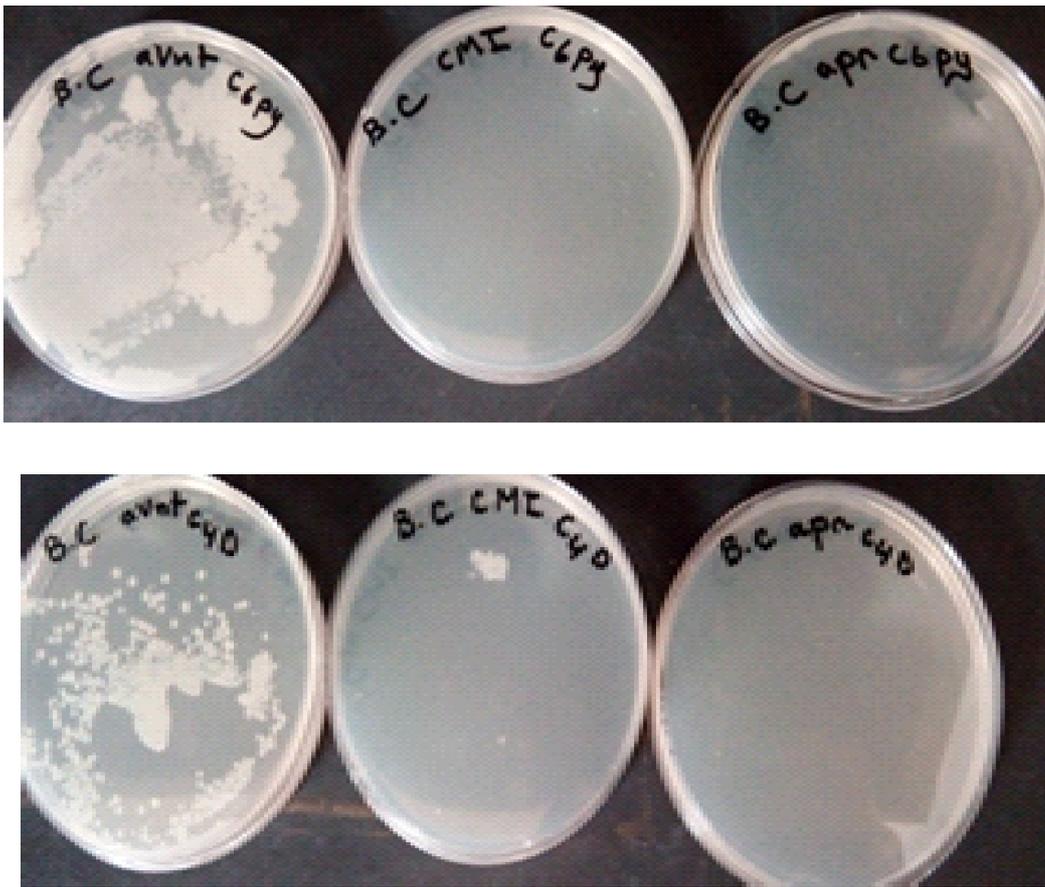


Figure 27 : Résultats de CMB des trois souches bactériennes

## ANNEXE N° 4

### **Méthode Elisa**

La méthode immuno-enzymatique ELISA (de l'anglais enzyme-linked immunosorbent assay, littéralement « dosage d'immun adsorption par enzyme liée », c'est-à-dire dosage immuno-enzymatique sur support solide) est un examen de laboratoire. Cette méthode est principalement utilisée en immunologie pour détecter la présence d'un anticorps ou d'un antigène dans un échantillon.

Ce test entre dans le cadre plus général des EIA (enzyme immunoassays), dans lequel le dosage est couplé à une réaction catalysée par une enzyme qui libère un composant coloré suivi par une spectroscopie, par opposition aux RIA (radio immunoassays) dans lequel le dosage est couplé à une réaction catalysée par une enzyme qui libère un composant coloré suivi par une spectroscopie, par opposition aux RIA dans lesquels l'anticorps est marqué par un radioélément et dont le dosage mesure un nombre de désintégration par seconde .

L'ELISA est une technique biochimique utilisant un ou deux anticorps. L'un de ceux-ci est spécifique de l'antigène, tandis que l'autre réagit aux complexes immuns (antigène anticorps) et est couplé à un enzyme. Cet anticorps secondaire, responsable du nom de technique, peut aussi causer l'émission d'un signal par un substrat chromogène ou fluorogène.

L'ELISA pouvant être utilisé tant pour évaluer la présence d'un antigène que celle d'un anticorps dans un échantillon, c'est un outil efficace à la fois pour déterminer des concentrations sériques anticorps (comme pour le test HIV ou le virus du Nil), que pour détecter la présence d'un antigène. Il a également trouvé des applications dans l'industrie alimentaire, pour détecter des allergènes alimentaires, comme le lait, les cacahuètes, les noix et les œufs. C'est un test simple, facile d'emploi et peu coûteux. Il est limité par la disponibilité en anticorps spécifique.

## **ANNEXE N° 5**

### **Coloration de Gram:**

**1-** Inonder le frottis séché à l'air et fixé à la chaleur pendant 1 minute avec le réactif de coloration au cristal violet. Veuillez noter que la qualité du frottis (concentration cellulaire trop lourde ou trop légère) affectera les résultats de la coloration de Gram.

**2-** Laver la lame dans un jet doux et indirect d'eau du robinet pendant 2 secondes

**3-** Inondation avec le mordant : iode de Gram ou lugol. Attendez 1 minute

**4-** Laver la lame dans un jet doux et indirect d'eau du robinet pendant 2 secondes.

**5-** Inondation la lame avec agent décolorant. Attendre 15 secondes ou ajouter goutte à goutte pour faire sortir l'agent de décoloration

**6-** Inondation la lame avec contre-colorant, 'safranine'. Patienter 30 secondes à 1 minute.

**7-** Laver la lame dans un jet d'eau douce et indirecte de l'eau du robinet jusqu'à ce qu'aucune couleur n'apparaisse dans l'effluent, puis sécher avec du papier absorbant.

**8-** Observez les résultats de la procédure de coloration sous immersion dans l'huile. Examiner au microscope, objectif x100.

## Résumé :

Le but de la présente étude était d'évaluer l'activité bactérienne [EDABCO<sup>+</sup>][Br<sup>-</sup>], [BDABCO<sup>+</sup>][Br<sup>-</sup>], [ODABCO<sup>+</sup>][Br<sup>-</sup>], [DDABCO<sup>+</sup>][Br<sup>-</sup>], Bpyr [Br<sup>-</sup>] et Hpyr [Br<sup>-</sup>] à l'égard de trois souches bactériennes pathogènes l'une a une coloration de Gram négative *E. coli* et les autres à Gram positive *Bacillus cereus*, *staphylococcus aureus*, L'évaluation de l'activité antibactérienne de ces LI a été réalisée par la technique de diffusion sur disque (L'aromatogramme) et la micro dilution en milieu liquide afin de déterminer le diamètre de la zone d'inhibition de chaque liquide ionique et la concentration minimale inhibitrice (CMI) et la concentration minimale bactéricide (CMB).

Un test positif a été réalisé par quatre antibiotiques Bacitracin, Chloramphénicol, Métronidazole et Tétracycline. Compte tenu des résultats préliminaires obtenus et des données de littératures disponibles, nous suggérons que les liquides ioniques possèdent un effet antibactérien considérable.

## الملخص:

الهدف من هذه الدراسة هو تقييم النشاط البكتيري لـ [EDABCO<sup>+</sup>][Br<sup>-</sup>] ، [BDABCO<sup>+</sup>][Br<sup>-</sup>] ، [ODABCO<sup>+</sup>][Br<sup>-</sup>] ، [DDABCO<sup>+</sup>][Br<sup>-</sup>] ، Bpyr [Br<sup>-</sup>] et Hpyr [Br<sup>-</sup>] على ثلاث سلالات بكتيرية مسببة للأمراض إحداها ذات صبغة الغرام السالبة (الإشريكية القولونية *E. coli*) والأخرى موجبة الغرام (المكورات العنقودية الذهبية *S. aureus* و *B. cereus*).

تم تقييم النشاط المضاد للبكتيريا لهذه السوائل الأيونية من خلال تقنية الانتشار على القرص والتمديد الدقيق في وسط زراعة بكتيري سائل (BMH) من أجل تحديد قطر منطقة التثبيط لكل سائل أيوني وتحديد أقل تركيز مثبط للنشاط البكتيري (CMI) وأقل تركيز قاتل للبكتيريا (CMB). تم استخدام شواهد إيجابية باستخدام أربعة مضادات حيوية (تيتراسيكلين، كلورامفينيكول، باسيتراسين، ميترونيدازول) مع الأخذ بعين الاعتبار النتائج الأولية التي تم الحصول عليها والمراجع المتاحة نقترح أن السوائل الأيونية لها تأثير كبير مضاد للبكتيريا.