

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire



Projet de fin d'études

Pour l'obtention du  
**Diplôme de Docteur Vétérinaire**

**ETUDE DE L'ACTIVITE ANTIBACTERIENNE DE  
L'HUILE ESSENTIELLE DU CLOU DE GIROFLE  
(*Syzygium aromaticum*)**

Présenté par : Mme. BAROUR *Rania*

Soutenu publiquement le : 14/07/2022

Devant le jury composé de :

|                 |              |            |      |
|-----------------|--------------|------------|------|
| Dr. T. IDRES    | Président    | MCB        | ENSV |
| Dr. A. DERGUINI | Promotrice   | Doctorante | ENSV |
| Dr. L. SAHRAOUI | Examinatrice | MCB        | ENSV |
| Dr. L. AINOUS   | Examinatrice | MCA        | ENSV |

Année universitaire : 2021-2022

## Remerciements

Nous remercions Dieu, le tout puissant, de nous avoir donné la force et la patience pour achever ce travail.

Mes vifs remerciements vont à ma très chère promotrice **Dr. DERGUINI Assia** enseignante à l'Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire pour toutes les connaissances qu'elle m'a transmises au cours de cette année. Durant cet encadrement, vous m'avez toujours guidé et montré le bon chemin vers le succès. Vous avez toujours été disponible pour m'orienter dans mon travail. Merci pour la qualité de votre écoute, de vos précieux conseils et votre soutien dans la réalisation de ce travail. Une enseignante comme vous ne s'oublie pas ! Vous êtes mon mentor.

Mes sincères remerciements au **Dr. IDRES T** pour avoir accepté d'être mon président de jury à la soutenance et pour toute son aide et ses conseils durant ce travail.

Au **Dr SAHRAOUI L**, je vous remercie tout d'abord pour votre aide durant notre partie expérimentale et aussi d'avoir accepté d'examiner ce présent travail.

Au **Dr. AINOUZ L** je vous remercie d'avoir accepté de faire partie de mon jury.

Je tiens également à remercier chaleureusement toute l'équipe du cabinet **HB vétérinaire** ; Dr. BOUATTOURA *Ryma* et Dr. HEMMA *Ibtissem* pour leurs soutiens infaillibles tout au long de ce travail. Vous m'avez apportée l'aide supplémentaire dont j'avais besoin.

Je ne saurai jamais assez remercier toute ma famille, en particulier ma chère mère, mon cher père, mon frère et mes sœurs pour les sacrifices et l'amour qu'ils ont témoigné à mon égard.

Je remercie énormément mon cher fiancé pour son appui, son soutien quotidien indéfectible et son enthousiasme à l'égard de mes travaux comme de la vie en général.

# Remerciements

Toutes les lettres ne sauraient trouver les mots qu'il faut, tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude, le respect et la reconnaissance. Ça fait de cela des années que tu attendais avec impatience ce moment, le voilà enfin arrivé !

Je dédie ce travail à ma très chère maman **HAOUAM Latraa** autant de phrases aussi expressives soient-elles ne sauraient monter le degré d'amour et d'affection que j'éprouve pour toi. Tu m'as comblé avec ta tendresse et affection tout long de mon parcours. Si je suis arrivée là aujourd'hui c'est grâce à tes sacrifices, à ton amour, et à ton soutien. Puisse le tout puissant te donner santé, bonheur et longue vie afin que je puisse te combler à mon tour. Tu es la meilleure maman du monde, je t'aime mamtout

A mon très cher papa **BAROUR Fouzi** autant de phrases et d'expressions aussi éloquentes soit-elles ne sauraient exprimer ma gratitude et ma reconnaissance. Tu as toujours cru en moi et en mes capacités face aux difficultés de la vie. Tes conseils ont toujours guidé mes pas vers la réussite. Je te dois ce que je suis aujourd'hui et ce que je serai demain et je ferai toujours de mon mieux pour rester ta fierté et ne jamais te décevoir, que Dieu le tout puissant te préserve, t'accorde santé et te protège de tout mal. Je t'aime Papa !

A mon cher frère **Zinou**, merci de me traiter telle une princesse et d'être toujours à mes côtés.

A mes adorables petites sœurs **Israa** et **Alaa** qui font une partie de mon bonheur je ne saurai imaginer une vie sans vous. Vous êtes les prunelles de mes yeux.

A ma moitié **Redha**, merci de m'encourager et de franchir, avec moi, chaque pas qui me mène vers la réussite, dans les meilleurs moments comme dans les pires, il semble que les épreuves soient moins pénibles à deux. N'est-ce pas là l'expression d'un amour fou et éternel !

A ma belle-mère et mon beau père, je ne vous remercierai jamais assez de m'avoir traité comme votre fille.

A mes belles sœurs **Fella**, **Sarah** et **Naziha**, vous êtes pour moi des véritables sœurs. Merci pour tout.

A mes nièces, **Sofia**, **Ines** et **Anis** de la part de votre Tata qui vous aime tant.

A toute ma famille paternelle et maternelle, vous êtes les meilleurs.

A mes chères voisines **Sara**, **Saliha** et **Sonia**, nous avons partagé d'agréables moments ensemble. Je vous aime !

A vous **Dr. DERGUINI** merci pour tout ce que vous avez fait.

A mes amis (e) de l'école, en particulier **le groupe 1** nous avons passé des moments inoubliables, de dur labeur, de sacrifices, des moments de folie, de crises de larmes et de fous rires, vous êtes une deuxième famille pour moi.

A ma très chère copine **Dounia**, merci d'être l'épaule sur laquelle je peux toujours compter. Dans l'espoir que notre amitié soit éternelle.

A tout l'équipe HB vet **Dr. Ryma** et **Dr. Ibtissem**, Je suis vraiment chanceuse de vous avoir à mes côtés merci d'être toujours là quand j'ai besoin de vous.

# المخلص-Abstract-Résumé

## Résumé

Notre travail porte sur l'étude et la mise en évidence de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle du clou de girofle extraite par hydro distillation à partir des boutons séchés et dont le rendement obtenu était de 9%.

L'activité antibactérienne a été mise en évidence par la méthode de l'aromatogramme vis-à-vis de deux souches : *Staphylococcus aureus* prélevée à partir d'un abcès chez le lapin et sur une souche de référence d'*Escherichia coli*. Nous avons tout d'abord ré-identifié les souches en utilisant les différents tests biochimiques et nous avons étudié leur profil de sensibilité à différentes familles d'antibiotiques. Par la suite, nous avons préparé trois concentrations de l'huile essentielle à savoir : 25%, 50% et 75%.

Les résultats de nos travaux sont comme suit: *Staphylococcus aureus* a présenté une sensibilité extrême pour les trois concentrations de l'huile essentielle avec des diamètres d'inhibition de 22 mm à 25%, de 26mm à 50% et de 30 mm à 75%. *Escherichia coli* a présenté une sensibilité extrême à 75% de l'huile essentielle avec un diamètre d'inhibition de 37% et a seulement été sensible aux autres concentrations.

Les résultats obtenus dans ce présent travail démontrent que l'huile essentielle du clou de girofle possède un pouvoir antibactérien important vis-à-vis des souches étudiées, rendant ainsi l'utilisation des huiles essentielles, une piste intéressante pour remédier au phénomène de l'antibio-résistance.

**Mots clés :** Huile essentielle ; Activité antibactérienne ; Clou de girofle.

## Abstract

Our work aims to study and demonstrate the antibacterial activity of clove essential oil extracted by hydro distillation from dried buds and whose yield was 9%.

The antibacterial activity was demonstrated by the "aromatogram method" against two strains: *Staphylococcus aureus* taken from an abscess in rabbits and on a reference strain of *Escherichia coli*. Firstly, we have re-identified the strains using different biochemical tests and we studied their sensitivity profile to different families of antibiotics. Subsequently, we prepared three concentrations of the essential oil namely: 25%, 50% and 75%.

The results of our work are as follows: *Staphylococcus aureus* showed extreme sensitivity for the three concentrations of the essential oil with inhibition diameters of 22 mm at 25%, 26mm at 50% and 30 mm at 75%. *Escherichia coli* showed extreme sensitivity to 75% of the essential oil with an inhibition diameter of 37% and were only sensitive to other concentrations.

The results obtained in this present work demonstrate that the essential oil of clove has an important antibacterial power against the strains studied, thus making the use of essential oils an interesting alternative to remedy the phenomenon of antibiotic resistance.

**Key words:** Essential oil; Antibacterial activity; Clove oil

## المخلص :

يهدف عملنا إلى دراسة وإثبات النشاط المضاد للبكتيريا للزيت العطري للقرنفل المستخرج بالتقطير المائي من البراعم المجففة بمردود 9%. تم توضيح النشاط المضاد للبكتيريا بواسطة طريقة **aromatogramme** ضد سلالتين *Staphylococcus aureus*: المأخوذة من خراج في أرنب وضد سلالة مرجعية *Escherichia coli* قمنا أولاً بإعادة تحديد السلالات باستخدام اختبارات كيميائية حيوية مختلفة وفحصنا ملف حساسيتها لعائلات مختلفة من المضادات الحيوية. بعد ذلك ، قمنا بإعداد ثلاث تراكيز من الزيت العطري وهي: 25% ، 50% و 75%. نتائج عملنا كانت كما يلي : البكتيريا *Staphylococcus aureus* أظهرت حساسية شديدة لجميع التركيزات الثلاثة من الزيت العطري بأقطار تثبيط تبلغ 22 مم عند 25% ، و 26 مم عند 50% ، و 30 مم عند 75%. حيث أظهرت البكتيريا *Escherichia coli* حساسية شديدة لـ 75% من الزيت العطري بقطر تثبيط 37% وكانت حساسة فقط للتركيزات الأخرى. تظهر النتائج التي تم الحصول عليها في هذا العمل الحالي أن الزيت العطري للقرنفل له قوة كبيرة مضادة للبكتيريا ضد السلالات المدروسة ، مما يشير كذلك إلى استخدام الزيوت الأساسية ، التي تعتبر مساراً مثيراً للاهتمام للقضاء على ظاهرة مقاومة المضادات الحيوية.

**الكلمات الأساسية:** زيت عطري، نشاط مضاد للبكتيريا، القرنفل

# Table des matières

Résumés

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

## INTRODUCTION GENERALE

### Revue de la littérature

|       |                                                          |    |
|-------|----------------------------------------------------------|----|
| I.    | INTRODUCTION .....                                       | 8  |
| II.   | Définitions générales.....                               | 8  |
| 2.1   | Les huiles essentielles.....                             | 8  |
| 2.2   | L'hydrolat .....                                         | 8  |
| III.  | Production mondiale des huiles essentielles .....        | 8  |
| IV.   | Utilisation des plantes aromatiques.....                 | 9  |
| V.    | Composition chimiques des huiles essentielles.....       | 10 |
| VI.   | Caractéristiques physiques des huiles essentielles ..... | 10 |
| VII.  | Activité biologique des huiles essentielles.....         | 11 |
| 7.1   | Activité antibactérienne .....                           | 11 |
| 7.2   | Activité antivirale .....                                | 12 |
| 7.3   | Activité antifongique .....                              | 12 |
| 7.4   | Action antiparasitaire.....                              | 13 |
| 7.5   | Action anti inflammatoire.....                           | 13 |
| 7.6   | Action digestive .....                                   | 13 |
| 7.7   | Action cicatrisante .....                                | 13 |
| VIII. | Mode d'action des huiles essentielles.....               | 13 |
| IX.   | Toxicité des huiles essentielles.....                    | 14 |
|       | Chapitre II : Huile essentielle du clou de girofle,..... | 15 |
|       | revue de la littérature .....                            | 15 |
| I.    | Giroflier ( <i>Syzygium aromaticum</i> ) .....           | 15 |
| 1.1   | Origine .....                                            | 15 |
| 1.2   | Classification .....                                     | 15 |
| 1.3   | Caractéristiques botaniques .....                        | 15 |
| 1.4   | Le stockage .....                                        | 17 |
| 1.5   | Utilisations des produits du giroflier .....             | 17 |

## Table des matières

|         |                                                                                                |    |
|---------|------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| II.     | Clou de girofle.....                                                                           | 17 |
| 2.1     | Origine.....                                                                                   | 17 |
| 2.2     | Classification.....                                                                            | 18 |
| 2.3     | Composants principaux de l'huile essentielle du clou de girofle.....                           | 18 |
| 2.4     | La production mondiale du clou de girofle .....                                                | 19 |
| III.    | Principales utilisation du girofle .....                                                       | 19 |
| 3.1     | Activité antibactérienne.....                                                                  | 19 |
| 3.2     | Activité antifongique .....                                                                    | 19 |
| 3.3     | Activité antivirale .....                                                                      | 19 |
| 3.4     | Activité anti inflammatoire .....                                                              | 19 |
| 3.5     | Activité anti cancérigène .....                                                                | 20 |
| 3.6     | Soin buccal .....                                                                              | 20 |
| 3.7     | Anesthésiant et cautérisant pulpaire .....                                                     | 20 |
| 3.8     | Autres utilisations.....                                                                       | 20 |
| IV.     | Utilisation de l'eugénol en médecine vétérinaire .....                                         | 20 |
|         | Chapitre III Généralités sur les <i>Staphylococcus aureus</i> et <i>Escherichia coli</i> ..... | 22 |
| 1.1     | Les bactéries .....                                                                            | 22 |
| 1.2     | La morphologie et la structure.....                                                            | 22 |
| II.     | <i>Staphylocoque aureus</i> .....                                                              | 23 |
| III.    | <i>Escherichia coli</i> .....                                                                  | 24 |
|         | Partie Expérimentale.....                                                                      | 26 |
| I.      | Matériels et Méthodes.....                                                                     | 28 |
| 1.1     | Produits biologiques .....                                                                     | 28 |
| 1.2     | Matériel microbiologique .....                                                                 | 28 |
| 1.2.1   | Souches microbiennes .....                                                                     | 28 |
| 1.2.2   | Milieux de culture.....                                                                        | 28 |
| 1.3     | Extraction de l'huile essentielle de <i>Syzygium aromaticum</i> .....                          | 29 |
| 1.3.1   | Calcul du rendement d'extraction en huile essentielle .....                                    | 29 |
| 1.4     | Ré-identification des bactéries .....                                                          | 30 |
| 1.4.1   | Etude microscopique des bactéries.....                                                         | 30 |
| 1.4.2   | Les tests biochimiques utilisés dans la réidentification des bactéries .....                   | 30 |
| 1.4.2.1 | <i>Staphylococcus aureus</i> .....                                                             | 30 |
| 1.4.2.2 | <i>Escherichia coli</i> .....                                                                  | 31 |

## Table des matières

|           |                                                                                                               |    |
|-----------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 1.5       | Etude de la sensibilité des bactéries aux antibiotiques et aux huiles essentielles .....                      | 34 |
| 1.6       | Evaluation de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de clou de girofle.....                       | 35 |
| II.       | Résultats et discussions .....                                                                                | 37 |
| 2.1       | Extraction de l'huile essentielle du clou de girofle .....                                                    | 37 |
| 2.1.1     | Rendement d'extraction.....                                                                                   | 37 |
| 2.2       | Ré-identification des bactéries .....                                                                         | 38 |
| 2.2.1     | La morphologie des bactéries .....                                                                            | 38 |
| 2.2.1.1   | <i>Staphylococcus aureus</i> .....                                                                            | 38 |
| 2.2.1.2   | <i>Escherichia coli</i> .....                                                                                 | 38 |
| 2.2.2     | Les tests biochimiques.....                                                                                   | 39 |
| 2.2.2.1   | <i>Staphylococcus aureus</i> .....                                                                            | 39 |
| 2.2.2.1.1 | Test de la Catalase.....                                                                                      | 39 |
| 2.2.2.2   | <i>Escherichia Coli</i> .....                                                                                 | 39 |
| 2.2.2.2.1 | Milieu de Citrate de Simmons .....                                                                            | 39 |
| 2.2.2.2.2 | Milieu de Kligler-Hajna .....                                                                                 | 40 |
| 2.2.2.2.3 | Milieu Mannitol-Mobilité-Nitrate.....                                                                         | 40 |
| 2.2.2.2.4 | Bouillon Clark et Lubs (RM / VP).....                                                                         | 40 |
| -         | Test de Voges-Proskauer (VP).....                                                                             | 40 |
| -         | Test du rouge de Méthyle (RM).....                                                                            | 40 |
| 2.2.2.2.5 | Le test d'Ortho-Nitrophényl- $\beta$ -Galactoside (ONPG) .....                                                | 40 |
| 2.2.2.2.6 | Le test à l'uréase .....                                                                                      | 40 |
| 2.2.2.2.7 | Test de l'indole .....                                                                                        | 40 |
| 2.3       | Etude de la sensibilité des bactéries aux antibiotiques.....                                                  | 41 |
| 2.3.1     | <i>Staphylococcus aureus</i> .....                                                                            | 41 |
| 2.3.2     | <i>Escherichia coli</i> .....                                                                                 | 41 |
| 2.4       | Evaluation de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de clou de girofle<br>(L'aromatogramme) ..... | 42 |

## Liste des abréviations

|                                                                                |                                                  |
|--------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------|
| °C : celsius.                                                                  | HE : huile essentielle.                          |
| ADP : acide adénosine diphosphate.                                             | HK : Milieu Hektoen.                             |
| AMP : Ampicilline                                                              | K : potassium.                                   |
| ATP : acide adénosine-triphosphorique.                                         | KF : Cephalotine                                 |
| B : Bacillus                                                                   | Mg : milligramme.                                |
| BHIB : bouillon Brain Heart Infusion Broth                                     | MH : Mueller Hinton                              |
| BN : bouillon nutritif                                                         | MHE : Masse de l'huile essentielle.              |
| BV : Flumequine                                                                | MI : millilitre.                                 |
| C : Chloramphénicol                                                            | Mm : millimètre.                                 |
| CO2 : dioxyde de carbone.                                                      | Ms : Masse de la matière végétale sèche.         |
| CPG : chromatographie en phase gazeuse.                                        | N : Néomycine                                    |
| CPG-SM : chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse. | NaCl : chlorure de sodium.                       |
| D : diamètre.                                                                  | O <sub>2</sub> : oxygène                         |
| E : Erythromycine.                                                             | OF : Enrofloxacin.                               |
| E. coli : Escherichia coli.                                                    | OMS : organisation mondiale de la santé.         |
| EHEC : <i>Escherichia Coli</i> entérohémorragique.                             | ONPG : test d'Ortho-Nitrophényl- β - Galactoside |
| ENSV : école nationale supérieure vétérinaire.                                 | OX : Oxacilline.                                 |
| G : Gentamicine                                                                | P : Pénicilline.                                 |
| g : gramme.                                                                    | RHE : Rendement en huile essentielle             |
| H2O : eau.                                                                     | RM : Rouge de méthyle.                           |
| H2S : Sulfate d'hydrogène                                                      | S : <i>Syzgium</i>                               |
| VP : Vosges-proskauer.                                                         | S.aureus : Staphylococcus aureus.                |
| CMI : Concentration minimale inhibitrice                                       | T : tonnes                                       |

## Liste des tableaux

|                                                                                                                                                                                                                 |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Tableau 1:</b> Récapitulation des principales huiles essentielles produites et des principaux pays producteurs dans le monde en 2019 (Source : Estimation France AgriMer à partir d'enquêtes d'expert) ..... | 9  |
| <b>Tableau 2:</b> Classification botanique giroflier (Goetz et al., 2012).....                                                                                                                                  | 15 |
| <b>Tableau 3:</b> Classification du clou de girofle (Sophie B., 2015) .....                                                                                                                                     | 18 |
| <b>Tableau 4:</b> les antibiotiques utilisés pour l'antibiogramme de staphylococcus aureus et l'Escherichia Coli. ....                                                                                          | 34 |
| <b>Tableau 5:</b> Résultats de l'antibiogramme -Staphylococcus aureus-.....                                                                                                                                     | 41 |
| <b>Tableau 6:</b> Résultats de l'antibiogramme -Escherichia Coli-.....                                                                                                                                          | 41 |
| <b>Tableau 7:</b> Les différentes caractéristiques de l'HE de clou de girofle. ....                                                                                                                             | 37 |
| <b>Tableau 8:</b> Résultat du rendement d'HE de clou de girofle. ....                                                                                                                                           | 37 |
| <b>Tableau 9:</b> Diamètres d'inhibition des croissances bactériennes et interprétation .....                                                                                                                   | 42 |
| <b>Tableau 10:</b> Sensibilités des bactéries testées vis-à-vis de l'HE du clou de girofle .....                                                                                                                | 42 |

## Liste des figures

|                                                                                                                              |    |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Figure 1:</b> l'arbre de giroflier .....                                                                                  | 16 |
| <b>Figure 2:</b> Structure du Giroflier.....                                                                                 | 16 |
| <b>Figure 3:</b> fleur de Giroflier .....                                                                                    | 16 |
| <b>Figure 4:</b> clou de girofle .....                                                                                       | 18 |
| <b>Figure 5:</b> Différentes morphologies des bactéries (B. Y. K. SRUTHI, 2014) .....                                        | 23 |
| <b>Figure 6:</b> Schéma de la paroi des bactéries à Gram positif .....                                                       | 24 |
| <b>Figure 7:</b> Schéma de la paroi des bactéries à Gram négatif .....                                                       | 25 |
| <b>Figure 8:</b> Milieu de Citrate de Simmons .....                                                                          | 31 |
| <b>Figure 9:</b> Milieu de Kligler-Hajna.....                                                                                | 31 |
| <b>Figure 10:</b> Milieu Mannitol-Mobilité-Nitrate.....                                                                      | 32 |
| <b>Figure 11:</b> Bouillon de Clark et lubs .....                                                                            | 33 |
| <b>Figure 12:</b> Disposition des disques d'antibiotiques dans la boîte de Pétri d'Escherichia Coli                          | 35 |
| <b>Figure 13:</b> Préparation des boîtes pour la technique d'aromatogramme. ....                                             | 35 |
| <b>Figure 14:</b> Souche Staphylococcus aureus après coloration de Gram.....                                                 | 38 |
| <b>Figure 15:</b> Souche d'E. Coli après coloration de Gram .....                                                            | 39 |
| <b>Figure 16:</b> Test de la Catalase .....                                                                                  | 39 |
| <b>Figure 17 :</b> les diamètres d'inhibition des bactéries testées vis-à-vis de l'huile essentielle de clou de girofle..... | 43 |

**Revue  
de  
la littérature**



# Introduction générale

L'antibiorésistance est définie par l'organisation mondiale de la santé (OMS) comme un problème majeur de santé publique. Ce phénomène, en sans cesse croissance, touche toutes les espèces bactériennes et n'est pas sans conséquences sur la pathogénie de ces dernières.

L'émergence et le développement de la résistance chez les bactéries est le résultat, entre autre, de l'utilisation excessive et non réfléchie de plus de 50 ans de ces molécules en médecine humaine ainsi qu'en médecine vétérinaire (**Acar J et Rostel B., 2001**), ce qui rend, par la suite, toute tentative thérapeutique inefficace (**Elhani D., 2011**). Afin de venir à bout des phénomènes de résistance aux antibiotiques, la recherche de moyens biologiques alternatifs semble être une solution salvatrice.

Depuis longtemps, les populations humaines utilisent les éléments de leur environnement, en particulier les plantes, afin de traiter et de soigner toutes sortes de maladies, cette pratique est à l'origine de ce que l'on appelle aujourd'hui la phytothérapie et l'aromathérapie (**Bruneton, 1999**). Ces plantes représentent un réservoir immense de composés attribués au métabolisme secondaire de ces dernières et qui possèdent un très large éventail d'activité biologique.

A cet égard, les huiles essentielles représentent des molécules au potentiel thérapeutique intéressant, de par leurs propriétés biologiques mises en évidence, à savoir: antimicrobienne, antioxydante, analgésique, anti-inflammatoire, anti-cancérigène, antiparasitaire et insecticide (**Bakkali et al., 2008; Murbach Teles A et al., 2014**).

Pour cet intérêt, les huiles essentielles considérées comme des substances naturelles bioactives représentent une piste intéressante dans la découverte de nouvelles molécules thérapeutiques et une éventuelle alternative aux produits chimiques.

Tout cela nous a dicté l'objectif du présent travail qui est d'évaluer l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de clou de girofle vis-à-vis de deux souches bactériennes (*Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*).

deux, la première partie est une revue de la bibliographie qui reprend l'aspect général des huiles essentielles ainsi que des notions de base sur les bactéries que nous avons utilisé dans notre travail.

La deuxième partie comprend notre étude expérimentale à savoir l'identification des bactéries, l'extraction de l'huile essentielle du clou de girofle ainsi que l'étude de son potentiel antibactérien.

## Chapitre I : Notions Générales

### I. INTRODUCTION SUR LES HUILES ESSENTIELLES

Les huiles essentielles (HE) sont connues depuis des millénaires pour leur action bénéfique sur l'être vivant. L'utilisation connue des plantes a été décrite depuis près de 5000 ans dans plusieurs civilisations antiques à l'instar de l'Égypte (du temps des pharaons), de la civilisation Grecque ainsi que la Chine et l'Inde. A titre d'exemple, en Égypte, les huiles étaient utilisées comme parfum dans la momification des corps. **(Lamaty et al, 1997).**

### II. Définition générales

#### 2.1 Les huiles essentielles

Telle que définie par la Pharmacopée européenne, une huile essentielle est un « produit odorant, généralement de composition complexe, obtenu à partir d'une matière première végétale botaniquement définie : soit par entraînement à la vapeur, soit par distillation sèche ou soit par un procédé mécanique approprié sans chauffage» **(CONNER, DE,1993)** les définit comme suit : « les HE sont des produits odorants , volatils du métabolisme secondaire d'une plante aromatique, normalement formés dans des cellules spécialisées ou groupes de cellules ».

En pratique, il est possible d'obtenir une HE à partir de la plante entière ou bien à partir de certaines parties de la plante telle que les fleurs, les bourgeons, les grains, les feuilles, les bois, les racines, les tiges et les brindilles **(Brenes A., Roura E., 2010).**

#### 2.2

#### 2.3 L'hydrolat

L'hydrolat ou eau aromatique ou eau distillée florale, est un sous-produit du processus de l'hydro-distillation de la plante. Il se forme à partir de la vapeur d'eau qui a servi à entraîner les molécules aromatiques de la plante. Elle est chargée en substances végétales solubles dans l'eau **(/pro/les-hydrolats-aromatiques/)**

### III. . .

### IV. Production mondiale des huiles essentielles

Les principales huiles essentielles produites et les principaux pays producteurs sont résumés dans le tableau 01.

**Tableau 01** : Récapitulation des principales huiles essentielles produites et des principaux pays producteurs dans le monde en 2019 (**Source : Estimation France AgriMer à partir d'enquêtes d'expert**) :

| Huiles essentielles : | Estimation production 2019 en T (tonnes) : | Principaux pays producteurs :                                         |
|-----------------------|--------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------|
| Orange douce          | 49000                                      | Brésil, USA Dominique, Italie, Espagne, , Argentine                   |
| Citron                | 9000                                       | Argentine, Italie, USA, Brésil,                                       |
| Eucalyptus (globulus) | 4000                                       | Chine, Inde, Australie, Brésil                                        |
| Menthe poivrée        | 3500                                       | Inde, USA                                                             |
| Clou de girofle       | 2500                                       | Madagascar, Indonésie, Tanzanie, Sri Lanka, Inde                      |
| Menthe douce/verte    | 2000                                       | USA, Inde, Chine                                                      |
| Cèdre                 | 2000                                       | Chine, USA, Inde, Maroc                                               |
| Lime                  | 1000                                       | Mexique, Pérou, USA, Haiti, Brésil, Cuba, Côte d'Ivoire, Italie, Inde |
| Lavande               | 830                                        | Bulgarie, France, Afrique du Sud, Chine                               |

## V. Utilisation des plantes aromatiques

La quantité totale de plantes aromatiques et médicinales utilisées par les industries pharmaceutiques, cosmétiques, chimiques et agroalimentaires est très difficile à estimer (**Schippmann U et al., 2002 ., Leaman D.J., 2009**).

Au niveau mondial, plus de 35 000 types de plantes aromatique seraient utilisées par les industries pharmaceutiques, chimiques ou cosmétiques selon les professionnels (**Cpparm., 2012**).

Selon certaines sources, depuis l'année 2000, la demande mondiale pour les produits issus de ces filières, connaîtrait une expansion rapide avec un taux de croissance annuel de 10 à 20% (Helle L., Carsten O., 2007).

## VI. Composition chimiques des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont composées uniquement de molécules aromatiques et volatiles et ne contiennent aucun corps gras, en dépit de leur appellation (Couic -Marinier F., Lobstein A., 2013).

La composition chimique d'une huile essentielle peut varier considérablement :

- Dans une même plante selon la partie utilisée (feuille, fleur, fruit, bois....)
- Pour une même plante dans la même année selon la saison,
- Pour une même espèce selon les conditions de culture (ensoleillement, humidité, longueur du jour, fertilité du sol),
- Pour une même espèce selon les races chimiques ou chémotypes (l'exemple classique est le thym avec 7 races chimiques).

Les constituants des huiles essentielles peuvent être répartis en deux classes en fonction de leur voie de biosynthèse : les *terpénoïdes* et les *phénylpropanoïdes* (Buchanan BB et al., 2000).

L'étude de la composition chimique est généralement effectuée par chromatographie en phase gazeuse (CPG) et par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG-SM) (Salze UJ., 1977).

## VII. Caractéristiques physiques des huiles essentielles

Les huiles essentielles ont des propriétés physiques communes, qui peuvent cependant varier en fonction de leur composition chimique (Franchomme P., Penoel D., 2001) :

- Les huiles essentielles sont liquides à température ambiante, il existe cependant des exceptions (Fernandez X., Chemat F., 2012).
- Les huiles essentielles sont volatiles. C'est ce qui les rend entraînables à la vapeur et particulièrement odorantes. Ce caractère les différencie aussi des huiles végétales grasses ou « fixes » (Kaloustian J., Hahdji-Minaglou F., 2012 ; Faucon M., 2015).

Leur solubilité est totale dans les huiles grasses qui représentent leurs meilleurs solvants, elle est très grande dans les alcools et dans les solvants organique (**Franchomme P., Penoel D., 2001**).

- La plupart des huiles essentielles ont une couleur jaune presque imperceptible. Elles deviennent foncées au court de leur vieillissement (oxydation). » (**Kaloustian J., Hahdji-Minaglou F., 2012 ; Faucon M., 2015**).
- La densité des huiles essentielles est très souvent inférieure à 1 (densité de l'eau) et varie en fonction de leur composition chimique (**Franchomme P., Penoel D., 2001 ; Kaloustian J., Hahdji-Minaglou F., 2012**).
- L'indice de réfraction est généralement élevé (**Franchomme P., Penoel D., 2001; Kaloustian J., Hahdji-Minaglou F., 2012**).

## VIII. Activité biologique des huiles essentielles

L'activité biologique d'une huile essentielle est étroitement tributaire de sa composition chimique ainsi que les possibles effets synergiques entre ses composants. Cette activité biologique est due à l'intégralité de ses constituants et non seulement à ses composés majoritaires (**Lahlou M., 2004**).

### 8.1 Activité antibactérienne

L'activité antibactérienne des huiles essentielles fait intervenir plusieurs mécanismes, et ce, du fait de sa variabilité dans la quantité ainsi que la nature de ses composants. (**Carson CF et al., 2002**)

En résumé, l'action des huiles essentielles peut être décrite comme suit (**Burt S.A., 2004**) :

- Attaque de la paroi bactérienne par l'huile essentielle, provoquant une augmentation de la perméabilité puis la perte des constituants cellulaires ;
- Acidification de l'intérieur de la cellule, bloquant la production de l'énergie cellulaire et la synthèse des composants de structure ;
- Destruction du matériel génétique, conduisant à la mort de la bactérie.

Le mode d'action des huiles essentielles est en relation étroite avec la nature et les caractéristiques des composants actifs, en particulier leur propriété hydrophobe qui leur permet de pénétrer dans la double couche phospholipidique de la membrane de la bactérie. (**Cox S.D et al., 2000; Carson et al., 2002**).

Les huiles essentielles agissent aussi bien sur les bactéries Gram positives que sur les bactéries Gram négatives. Toutefois, les bactéries Gram négatives paraissent moins sensibles à leur action et ceci est directement lié à la structure de leur paroi cellulaire **(Burt S.A., 2004)**.

## 8.2 Activité antivirale

Selon plusieurs études, les huiles essentielles agissent efficacement contre certaines pathologies virales **(Franchomme P et al., 2001)**.

Les virus sont assez sensibles aux huiles essentielles à phénol et à monoterpénol. Plus d'une dizaine d'huiles essentielles possèdent des propriétés antivirales. Nous pouvons citer l'huile essentielle de Ravintsara ou l'huile essentielle de Cannelle de Ceylan **((Purchon N., 2001 ; Willem J.P., 2002)**.

## 8.3 Activité antifongique

Les huiles essentielles ainsi que leurs composés actifs sont utilisés dans l'industrie phytosanitaire et agro-alimentaire comme agents de protection. Ils sont employés afin de lutter contre les champignons pathogènes qui attaquent les végétaux ou qui se trouvent dans les denrées alimentaires. **((Lis-Balchin M., Lavender., 2003)**.

L'action antifongique de ces composées est due à une augmentation de la perméabilité de la membrane plasmique suivie d'une rupture de celle-ci entraînant une fuite du contenu cytoplasmique et donc la mort de la levure **(Cox S et al., 2000)**.

Les phénols et les aldéhydes qui sont les groupements fonctionnels des composées terpéniques des huiles essentielles réagissent avec les enzymes membranaires et dégradent la membrane plasmique des levures **(Knobloch K et al., 1989)**.

Nous pouvons citer comme exemples d'huile essentielle ayant une activité antifongique les huiles suivantes : l'huile essentielle de Cannelle, de Clou de girofle ou de Niaouli **PURCHON, N2001. WILLEM, J.P2002)**.

Le traitement sera de plus longue durée que pour un usage antibactérien **(PHYTOPREVENT ,2004)**.

#### 8.4 Action antiparasitaire

Le groupe phénol possède une action puissante contre les parasites. Le thym à linalol et la sarriette des montagnes sont d'excellentes huiles essentielles antiparasitaires (**Purchon N., 2001 ; Willem J.P., 2002**)

#### 8.5 Action anti inflammatoire

Nous citons l'exemple de l'huile essentielle de Gingembre (**Purchon N., 2001 ; Willem J.P., 2002**).

#### 8.6 Action digestive

Les huiles essentielles ont une action digestive et apéritive comme l'huile essentielle de cumin ou d'anis étoilé. Elles permettent la stimulation de la sécrétion des sucs digestifs.

L'huile essentielle de menthe poivrée atténue les nausées (**Purchon N., 2001 ; Willem J.P., 2002**).

#### 8.7 Action cicatrisante

Les huiles essentielles sont utilisées dans la composition des baumes par les égyptiens et les indiens d'Amazonie pour panser la peau et ce depuis des millénaires.

Les cétones ont un pouvoir cicatrisant important, elles accélèrent la vitesse de réparation tissulaire, comme c'est le cas de lavande vraie *Lavandula angustifolia* Mill.

Les huiles essentielles de camomille, citron, géranium, romarin et sauge sont cicatrisantes tant au niveau de la peau et des muqueuses (**Staub H., Bayer L., 2013**).

### IX. Mode d'action des huiles essentielles

Le mode d'action des huiles essentielles sur les pathogènes ne fait pas encore l'unanimité au sein de la communauté scientifique. (**Kalembe D., Kunick A., 2003 ; Burt S.A., 2004**).

L'action des huiles essentielles peut se résumer de manière générale en trois phases principales:

- *Attaque de la paroi bactérienne* : ce qui est à l'origine d'une augmentation de la perméabilité puis de la perte des constituants cellulaires. La principale caractéristique des molécules présentes dans les huiles essentielles est leur caractère hydrophobe. (**Sikkema J et al., 1994**). Elle permet de pénétrer dans la double couche

phospholipidique de la membrane cellulaire. Cela induit une fuite d'ions ( $K^+$ ) suite à une perturbation chimio-osmotique. (Cox S et al, 2000 ; Souza E.L et al., 2006).

- *Acidification de l'intérieur de la cellule* : l'huile essentielle acidifie le milieu une fois qu'elle pénètre dans la cellule, elle bloque la production de l'énergie cellulaire ainsi que la synthèse des composants de structure. Certains composés phénoliques des huiles essentielles interfèrent avec les protéines de la membrane des micro-organismes comme l'enzyme  $ATP_{ase}$ , soit par action directe sur la partie hydrophobe de la protéine, soit en interférant dans la translocation des protons dans la membrane prévenant la phosphorylation de l'ADP. (Knobloch K et al., 1989 ; Sikkema J et al., 1995)
- *Destruction du matériel génétique* : la synthèse de l'ADN de l'ARN, des protéines et des polysaccharides peuvent être inhibée par les huiles essentielles. Au cours de la division cellulaire, les huiles essentielles hydroxylées pourraient créer des perturbations enzymatiques au niveau du mésosome. (Malecky M., 2007).
- *L'activité inhibitrice* des huiles essentielles serait due à leur affinité avec les groupements SH impliqués dans la division cellulaire. (Malecky M., 2007).

## X. Toxicité des huiles essentielles

La toxicité des huiles essentielles est aussi bien tributaire de la dose de cette dernière que de la voie d'exposition, les études scientifiques montrent que les huiles essentielles peuvent présenter une certaine toxicité. Les huiles essentielles semblent n'être toxiques par ingestion que si celle-ci est faite en de grandes quantités et en dehors du cadre classique d'utilisation.

Les huiles ne seront toxiques par contact que si des concentrations importantes sont appliquées (Degryse A et al., 2008).

Selon ENGLEBIN, les huiles essentielles sont des substances très puissantes et très actives. Toute substance est potentiellement toxique à dose élevée ou à exposition répétée. Les doses doivent être respectées quel que soit la voie d'absorption, il faut également savoir qu'un traitement de longue période provoque des troubles graves et l'apparition d'effets secondaires indésirables (Englebin M., 2011).

## Chapitre II : Huile essentielle du clou de girofle, revue de la littérature

### I. Giroflier (*Syzygium aromaticum*)

#### 1.1 Origine

Le Giroflier est un arbre tropical appartenant à la grande famille des *Myrtacées*, originaire d'Indonésie, dans la partie sud des Philippines et les îles de Moluques, d'Afrique et d'Amérique du sud, principalement dans des pays tropicaux. (Eric Penot et al, 2014).

#### 1.2 Classification

Tableau 2: Classification botanique giroflier (Goetz et al., 2012).

| Règne Plantae      |                                        |
|--------------------|----------------------------------------|
| Sous-règne         | Tracheobionta                          |
| Embranchement      | Magnoliophyta (= Phanérogames)         |
| Sous-embranchement | Magnoliophytina (= Angiospermes)       |
| Classe             | Magnoliopsida (= Dicotylédones)        |
| Sous-classe        | Rosidae                                |
| Ordre              | Myrtales                               |
| Famille            | Myrtaceae                              |
| Genre              | <i>Syzygium</i>                        |
| Espèce             | <i>S. aromaticum</i> (L) Merr. & Perry |

#### 1.3 Caractéristiques botaniques

Le giroflier est un grand arbre au tronc gris clair de 12 à 15 mètres de hauteur pouvant atteindre jusqu'à 20 mètres de haut (figure 01). Il présente un port érigé et pyramidal. Ses feuilles sont opposées, entières, elliptiques, d'environ 10-12 cm à nervure médian marquée et parsemées de glandes sur le revers (Davet P., Rouxel F., 1997).



Figure 1: l'arbre de giroflier

Les fleurs sont disposées en cymes terminales (figure 02) de 25 fleurs environ, formant 3 fourches (figure 03). Elle se présente sous la forme d'un long pédoncule, petite fleur à l'extrémité des rameaux, à 4 pétales (blanc-rosé) pompon duveteux d'étamines blanches saillantes, les fleurs à 4 pétales blanc rosé sont caractérisées par leurs sépales rouges persistants.



Figure 2: Structure du Giroflier



Figure 3: fleur de Giroflier

Il est possible d'obtenir une HE à partir de la plante entière ou bien d'une partie de cette dernière telles que les racines, les rameaux, les feuilles les fleurs et les fruits. L'huile essentielle de girofle provient de la distillation des boutons de giroflier traités à la vapeur (Koroch A., Ranarivelo L et al., 2007)

Le giroflier donne des clous à partir de la 5<sup>ème</sup> année. Autour de la 8<sup>ème</sup> année, la récolte est exploitable, mais le giroflier n'atteindra sa pleine production qu'à 20 ans. Un giroflier peut produire pendant 75 à 80 années, et ces vieux arbres peuvent donner 50kg de clous frais par an. (Ranoarisoa K.M., 2012).

#### 1.4 Le stockage

Les clous doivent être séchés avant d'être stockés. Ce stockage permet la vente de la récolte tout au long de l'année. En ce qui concerne les feuilles, une fois récoltées elles sont immédiatement distillées. (Barbalet S., 2015).

#### 1.5 Utilisations des produits du giroflier

*Syzygium aromaticum* est un anesthésiant local, notamment pour les douleurs dentaires. Il soulage les douleurs musculaires, les rhumatismes et il a des propriétés anti-inflammatoires, redonne de l'énergie et permet de lutter contre la fatigue. C'est également un antidépresseur. Le clou de girofle est connu dans les écrits ayurvédiques, où il est utilisé contre les douleurs, la sciatique, les problèmes rhumatologiques, comme antibactérien, antifongique et anesthésiant local dans le soin des plaies et dans les odontalgies (Barbalet S., 2015)

## II. Clou de girofle

### 2.1 Origine

Le clou de girofle (figure4) provient d'une plante appelée giroflier (*Syzygium aromaticum*). Chaque bouton floral de cette plante est un clou de girofle (Barbalet S., 2015). La principale production de giroflier provient de l'Indonésie, mais les clous de girofle utilisés pour l'alimentation viennent en majorité de Madagascar, ceux de l'Indonésie étant utilisés pour faire des cigarettes, appelées «kreteks» (Mathieu D., 2013).



Figure 4: clou de girofle

## 2.2 Classification

Tableau 3: Classification du clou de girofle (Sophie B., 2015)

|             |                            |
|-------------|----------------------------|
| Règne       | Plante                     |
| Classe      | Angiosperme                |
| Sous-classe | Tiporées                   |
| Ordre       | Myrtales                   |
| Famille     | Myrtaceae                  |
| Genre       | <i>Syzygium</i>            |
| Espèce      | <i>Syzygium aromaticum</i> |

## 2.3 Composants principaux de l'huile essentielle du clou de girofle

L'huile essentielle de *S. aromaticum* a une composition différentes, avec les ingrédients primaires qui sont : eugénol (49–87 %),  $\beta$ -caryophyllène (4–21 %) et l'acétate d'eugényle (0.5–21 %). D'infimes quantités de  $\alpha$ -humulène sont également présentes, ainsi que des traces (< 1 %) de 25 à 35 autres constituant (Chaieb K et al., 2007).

## 2.4 La production mondiale du clou de girofle

Originaire de Madagascar, la Réunion, les Antilles, le giroflier est également cultivé en Indonésie et en Tanzanie **(Alice D ; 2011)**.

La production de clou de girofle estimée, à Madagascar serait de 6000 à 8000 tonnes en 2020 (contre 18000 tonnes en 2019) (<https://jacarandas-international.com/huile-essentielle-de-giroflier-campagne-2020>).

## III. Principales utilisation du girofle

### 3.1 Activité antibactérienne

Le girofle est composé de plus de 15% d'huile essentielle et de 70 à 90% d'eugénol, composé antibactérien, antiseptique et antifongique. Il y a, également, entre 9 et 15% d'acétate d'eugénol, qui possède également des propriétés antibactériennes **(Rakotoatimanana B.V. et al, 1999)**.

**Singh A.K et al., 2009** ont étudié l'effet d'eugénol sur la croissance des bactéries à Gram positif (*Bacillus cereus* ; *B. subtilis* ; *Staphylococcus aureus*) et à Gram négatif (*Escherichia coli* ; *Salmonella typhi* ; Les bactéries *Pseudomonas aeruginosa*) utilisant l'agar bien la méthode de diffusion. À 1 000 ppm, eugénol inhibe la croissance de toutes ces bactéries.

### 3.2 Activité antifongique

L'huile essentielle de clou de girofle possède une puissante activité antifongique contre les pathogènes fongiques opportunistes, comme le *Candida albicans* et le *Cryptococcus neoformans*. Elle a été particulièrement efficace sur un modèle expérimental de vaginite murine sur un modèle animal **(Goetz P., Jeune R., 2012)**.

### 3.3 Activité antivirale

L'huile essentielle de *S.aromaticum* a un effet inhibiteur sur : herpes simplex virus, elle exerce aussi des effets sur les virus plusieurs niveaux : sur la fusion des cellules virales, anti HCV protéase dans le traitement de l'hépatite virale, inhibition de la synthèse de l'ADN viral. **(Goetz P., Jeune R., 2012)**.

### 3.4 Activité anti inflammatoire

Cette l'huile provoque une réduction de l'inflammation (induite par injection de carragénine au niveau de la patte du rat), inhibition des prostaglandines, leucotriène, du chimiotactisme

des leucocytes ainsi une inhibition de la synthèse des radicaux libres par les leucocytes. (Singh A.K et al., 2009).

### **3.5 Activité anti cancérigène**

L'huile essentielle de clou de girofle a été étudiée comme un agent potentiel anti cancérigène. (Zheng G.Q et al., 1992).

### **3.6 Soins buccaux**

L'HE inhibe les métastases intra maxillaires, les sarcomes, les tumeurs bénignes et les ostéites des maxillaires (Morin J et al., 1983).

### **3.7 Anesthésiant et cautérisant pulpaire**

Le clou de girofle est utilisé abondamment en médecine dentaire pour sa propriété d'anesthésique local (Kozam G., 1977) et pour ses propriétés analgésiques (Pauli A., 2006).

### **3.8 Autres utilisations**

L'eugénol présente également des effets inhibiteurs sur la biosynthèse de la thromboxane (Laekeman SM et al., 1990) et d'autres propriétés de neuroprotection (Wie M.B et al., 1997), des effets antiischémiques (Atsusan T, 1991), antihistaminiques (Nishijima H et al., 1998) et anti-anaphylactiques (Jadhav B.K et al., 2004).

En agriculture, l'huile essentielle possède un effet herbicide, effet insecticide sur les charançons nuisibles des graines en stocks et protecteur des cultures contre les insectes et les champignons (Alice D., 2011).

Les clous de girofle entiers, mais aussi en poudre, servent à aromatiser les conserves de légumes, le chou rouge, les compotes de pommes et autres fruits (Georgetti S.R., et al 2003).

## **IV. Utilisation de l'eugénol en médecine vétérinaire**

L'eugénol est naturellement présent dans l'huile essentielle de clou de girofle (70- 95%). Certaines études rapportent que l'eugénol a une action antibactérienne et inhibe la croissance

de nombreux champignons et parasites. En plus de ses pouvoirs antimicrobiens, il présente également des effets anti-inflammatoires **(Reddy A.C., B.R Lokesh., 1994)**

Chez les amphibiens et les poisson, l'eugénol semble induire une anesthésie et de l'analgésie **((Hikasa Y et al., 1986 ; Sladky K.K et al., 2001 ; Sell A.B et al., 1996) .** L'effet anesthésique et les changements physiologiques varient suivant la durée de l'immersion dans une solution d'huile de clou de girofle. Suite à une exposition à l'eugénol (dose de 50mg/L), les poissons atteignent un niveau d'anesthésie chirurgicale plus rapidement mais présentent un réveil prolongé en comparaison d'une immersion avec le tricaine méthanesulfonate MS-222 **(Sladky KK et al., 2001).**

## Chapitre 03 : Généralités sur les *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*

### I. Généralités sur les *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*

#### 1.1 Les bactéries

Une infection est la conséquence de pénétration et du développement d'un microorganisme pathogène dans un organisme sain : bactérie, parasite, virus ou autres (Davet P., Rouxel F., 1997).

Cette infection est due à un déséquilibre chez l'hôte (homme) suite à une diminution de ses défenses immunitaires et au développement du germe.

Les bactéries pathogènes sont transmises à l'hôte de diverses façons :

- Ingestion d'eau ou d'aliments contaminées (voies digestives)
- Inhalations d'aérosols ou des particules associés à des bactéries (voies respiratoires).
- Inoculation cutanée par contact direct ou indirecte (voies cutanées).
- Inoculation directe des muqueuses par la salive ou la sécrétion sexuelle
- Inoculation transcutanée par les insectes (*Yersinia pestis*, *Rickettsia*, *Borrelia*...) ou traumatisme ou manipulation iatrogènes (Rakotoatimanana V., 1999).

#### 1.2 La morphologie et la structure

Nous pouvons distinguer trois formes caractéristiques : les sphériques, les allongées et les spiralées (figure 1) La position des bactéries les unes par rapport aux autres est également une caractéristique distinctive importante. (B. Y. K. Sruthi et al, 2014)

- Les bactéries allongées (bacilles) peuvent varier en longueur et en épaisseur Elles forment également des chaînes.
- Les bactéries spiralées (spirilles) peuvent également varier en longueur et en La taille des coques qui varie entre 0,4 et 1,5 mm (1 mm = 0,001 mm).
- La longueur des bacilles peut varier entre 1 et 10 mm, même si quelques espèces sont plus grandes ou plus petites.

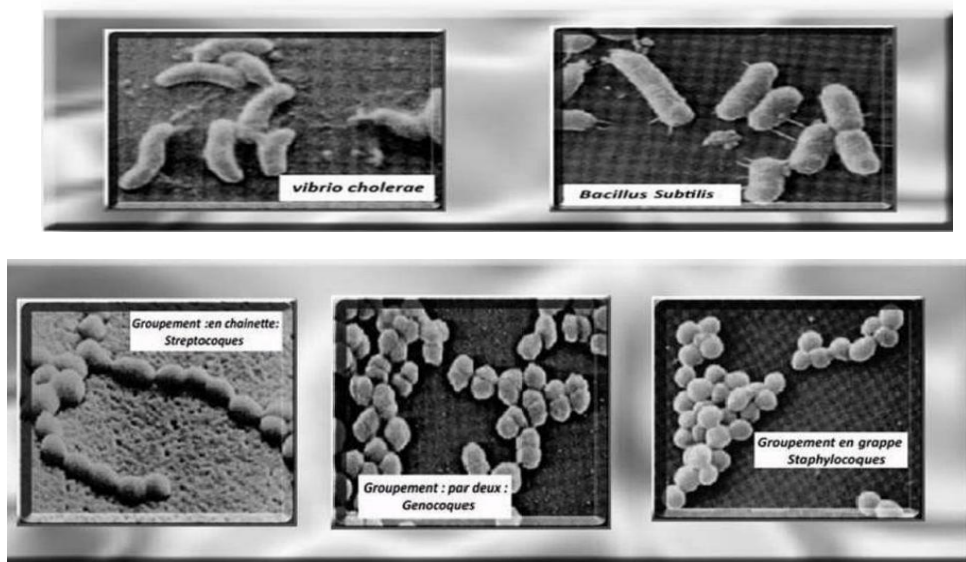


Figure 5: Différentes morphologies des bactéries (B. Y. K. SRUTHI, 2014)

## II. *Staphylocoque aureus*

*Staphylococcus aureus* est l'espèce la plus pathogène au sein du genre *Staphylococcus*. Il est un coque à Gram positif non sporulant de la famille des Staphylococcaceae (figure 2) ((**Pei Z et al., 2014** , **Couture B., 1997**). Les staphylocoques produisent tous l'enzyme catalase, mais *S. aureus* est l'un des rares à produire une coagulase.

Il est immobile, aéro-anaérobie facultatif, et il mesure de 0.5 à 1  $\mu\text{m}$  de diamètre (**Gordon R.J., F.D Lowy., 2008 ; Corne P., 2004, Couture B., 1997**). Les staphylocoques sont des germes commensaux de la peau, des muqueuses, des voies respiratoires, digestives et urogénitales des mammifères ainsi que des oiseaux. Ils se propagent facilement entre l'homme et l'animal soit de manière directe comme le contact avec la peau ou les excréments, ou de manière indirecte, par la consommation de produits contaminés d'origine animale. (**Christiane W et al., 2001**).

On le retrouve aussi bien dans les milieux communautaires qu'hospitaliers, il est au deuxième rang des infections nosocomiales derrière *Escherichia coli* et au deuxième des intoxications alimentaires après les salmonelles. Il intéresse un très grand nombre de sites infectieux et peut être isolé au laboratoire dans tous les types de prélèvements. On le retrouve dans des infections aussi bien locales qu'invasives (**Guillaume Vieu., 2014**).

*Staphylococcus aureus* est responsable majoritairement des infections bactériennes de la peau et les tissus mous et suppuratives (**Lorette G, Beaulieu P, Allaert FA, Mahmoudi A, Jarlier V., 2009**).

*Staphylococcus aureus* est le plus fréquemment identifiée chez les chats et les chiens dans les cas d'otite, pyodermite, infection de plaie et septicémie, ainsi dans des cas d'entéocolites aigues ; inflammation locales et infection cutanée muqueuse, panaris abcès du poulmon, entérites et l'inflammation de l'épithélium vulvo-vaginal (**Schijffelen MJ, Boel CH, van Strijp JA, et al., 2010**).

Chez la vache, *Staphylococcus aureus* peut être à l'origine d'une inflammation du pis (mammites bovines). Les chiens présentent quant à eux des infections de la peau. Chez la volaille, *Staphylococcus aureus* peut être incriminé dans les infections généralisées de l'organisme ou d'inflammation purulente de la peau. L'infection à *Staphylococcus aureus* touchent le monde entier, mais principalement les régions où les conditions d'hygiène sont médiocres (**Office fédéral de la sécurité alimentaire et des affaires vétérinaires OSAV**)

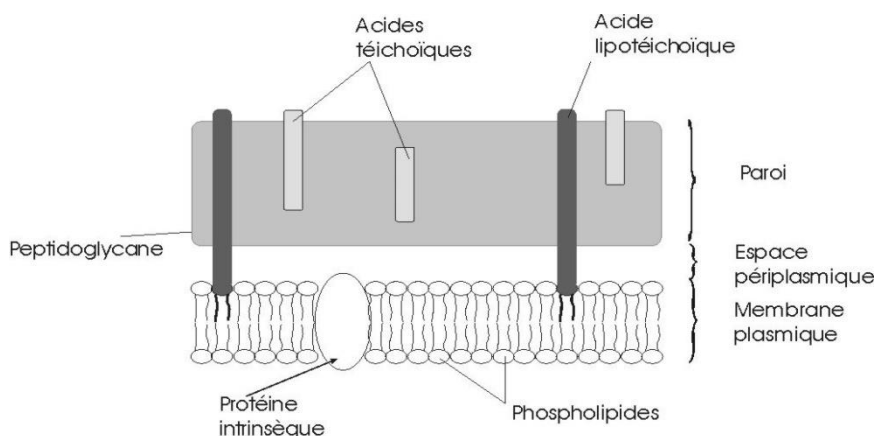


Figure 6: Schéma de la paroi des bactéries à Gram positif

### III. *Escherichia coli*

*Escherichia coli* est un bacille à Gram négatif (figure 07) aérobie-anaérobie facultatif, en forme de bâtonnet, appartenant à la famille des entérobactéries (Enterobacteriaceae) qui colonisent le tube digestif de l'homme et des animaux, la majorité des souches d'*Escherichia coli* ne sont pas pathogènes (**Jerusha Santa Packyanathan et al., 2017**).

Les souches d'*E. coli* pathogènes peuvent être scindées en deux groupes, celles causant des pathologies intestinales aussi bien chez l'homme que chez l'animal, telle que la diarrhée variable selon la souche en cause (M hakki et al, 2012).

Le deuxième groupe concerne les souches à l'origine de nombreuses pathologies extra-intestinales, telles que les infections urinaires et respiratoires, les méningites et les septicémies. Il faut savoir que ces souches touchent également l'homme ainsi que l'animal. (Louise B et al., 2011)

Le principal réservoir des *Escherichia Coli* entérohémorragique (EHEC) est le tube digestif des ruminants domestiques, et plus particulièrement des bovins. Les ruminants sont des porteurs sains, ils participent à la contamination de l'environnement par les bactéries présentes dans leurs fèces (<https://www.anses.fr> > filesPDF *Escherichia coli* entérohémorragiques (EHEC) – Anses)

Même chez la volaille, 33 à 75 % des élevages développent une pathologie appelée Colibacillose aviaire qui est causée par cette bactérie. (<https://www.inrae.fr> > actualites > vi...Des virus bactériens, auxiliaires de santé animale – INRA).

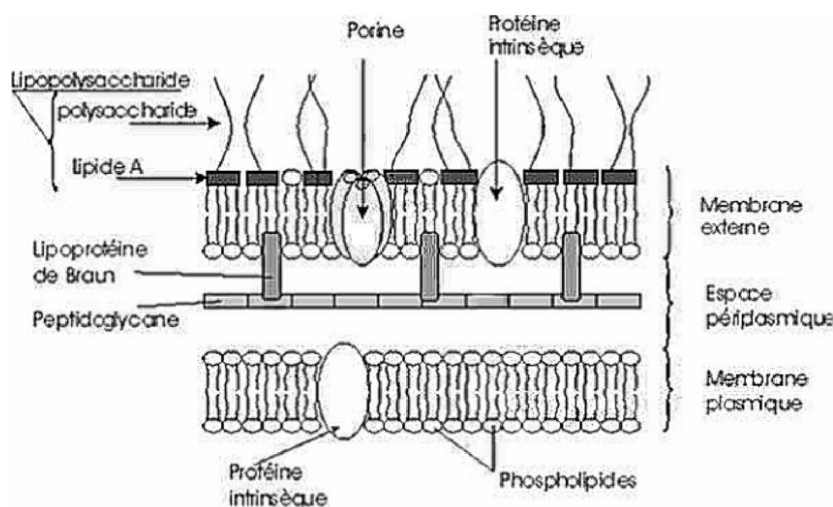


Figure 7: Schéma de la paroi des bactéries à Gram négatif

# **Partie**

# **Expérimentale**

## **Objectifs escomptés**

A la lumière de des brefs rappels bibliographiques qui ont été présentés ci-dessus, il nous est paru indispensable de nous baser sur les différentes problématiques inhérentes à l'utilisation anarchiques des antibiotiques et à l'antibiorésistance afin de réfléchir à des alternatives biologiques de lutte antibactérienne.

Les huiles essentielles, au vue, de toutes les activités biologiques qui lui ont été attribuées par les innombrables travaux de recherche, présentent une piste intéressante à explorer.

Les objectifs de ce présent travail sont donc :

- Identifier le profil des bactéries : *Staphylocoque aureus* prélevée à partir d'un abcès chez le lapin et *Escherichia coli* qui est une souche de référence ; vis-à-vis des certains antibiotiques de différents familles.
- Etudier l'activité de l'huile essentielle du clou de girofle sur *Staphylocoque aureus* et *Escherichia coli*.

Au vue de ces objectifs, nous avons établi notre travail expérimental comme décrit dans le chapitre ci-dessous.

## **I. Matériels et Méthodes**

### **1.1 Produits biologiques**

*Le clou de girofle (Syzygium aromaticum)* : ces boutons proviennent d'Inde, nous nous les sommes procurés auprès d'un fournisseur dans la région d'Akbou, dans la vallée de la Soumame à Bejaïa. Ce dernier importe sa matière première auprès d'un fournisseur en Inde.

### **1.2 Matériel microbiologique**

#### **1.2.1 Souches microbiennes**

Les deux souches bactériennes choisies pour cette étude sont à l'origine de plusieurs infections. La souche d'*Escherichia coli* provient d'une collection de culture type (ATCC) gracieusement mise à notre disposition par le Dr SAHRAOUI enseignante de Microbiologie à l'Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire d'Alger.

La souche de *Staphylococcus aureus*, quant à elle, a été prélevée à partir d'un abcès chez un lapin et a été identifiée dans le laboratoire de microbiologie de l'Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire d'Alger.

#### **1.2.2 Milieux de culture**

Au départ de la réalisation des différents tests biochimiques, nous avons procédé aux cultures bactériennes préalables en vue de préparer des suspensions.

La culture des bactéries a nécessité l'utilisation des milieux suivants :

- **Le bouillon nutritif (BN).** : Ce milieu est largement utilisé pour la culture des micro-organismes.
- **Milieu Hektoen (HK)** : Ce milieu sélectif a été utilisé pour repiquer *Escherichia coli*.
- **Le bouillon Brain Heart Infusion Broth (BHIB)** : C'est un milieu de culture utilisé pour favoriser la croissance de nos bactéries.
- **Gélose Mueller Hinton (MH)** : c'est le milieu de référence pour les tests de sensibilité des germes aux agents antimicrobiens (l'antibiogramme).

Une fois les bactéries repiquées, nous avons procédé à l'identification proprement dite.

### 1.3 Extraction de l'huile essentielle de *Syzygium aromaticum*

L'huile essentielle de *Syzygium aromaticum* est obtenue par la méthode d'hydro-distillation, dans un appareil de type Clevenger.

L'extraction de l'huile essentielle a été réalisée au niveau du laboratoire de la faculté de Bejaïa. 100g de matière végétale séchée ont été mis dans un ballon à fond rond, additionnée de 1 litre d'eau distillée, puis chauffée. Les vapeurs chargées d'huile essentielle passent à travers le tube vertical puis dans le serpentin de refroidissement où aura lieu la condensation.

Le liquide recueilli consiste en un distillat avec une couche d'huile essentielle au-dessous de l'eau. L'huile du clou de girofle, ayant une densité légèrement plus élevée que celle de l'eau, se condense en dessous puis elle est récupérée et traitée par un déshydratant, le sulfate de sodium, pour éliminer le peu d'eau susceptible d'avoir été retenue dans l'huile.

L'huile essentielle obtenue a été récupérée dans des flacons en verre brun fermé hermétiquement et à l'abri de la lumière pour éviter toute dégradation, puis gardée au réfrigérateur à +4°C.

L'opération d'extraction a duré 02 heures à partir du début d'ébullition

#### 1.3.1 Calcul du rendement d'extraction en huile essentielle

Le rendement en huile essentielle (RHE) est le rapport entre la masse de l'huile extraite (MHE) et la masse de la matière végétale sèche dont cette huile a été extraite (Ms) (AFNOR, 2000). Le rendement est calculé comme suit :

$$\text{RHE}(\%) = \text{MHE}/\text{Ms} \times 100$$

**RHE** : Rendement en huile essentielle des clous de girofle exprimée en (%).

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

**Ms** : Masse de la matière végétale sèche utilisée pour l'extraction (g).

## **1.4 Ré-identification des bactéries**

### **1.4.1 Etude microscopique des bactéries**

Réalisée pour les deux micro-organismes étudiés (*Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*) dans le but d'observer leurs caractères **Gram**, leurs morphologies ainsi que leurs modes de groupement.

1. Déposer la lame dans le **VIOLET DE GENTIANE** pendant 01 min,
2. Rincer dans l'eau distillée et égoutter,
3. Immerger le frottis dans le **LUGOL** pendant 1min,
4. Pour la décoloration, faire un jet d'alcool sur la lame,
5. Rincer immédiatement à l'eau distillée et égoutter,
6. Immerger le frottis dans la **FUSCHING** pendant 1min pour une coloration secondaire,
7. Sécher le frottis entre 02 feuilles de papier filtre,
8. Observer à l'objectif X 100 à l'immersion.

### **1.4.2 Les tests biochimiques utilisés dans la réidentification des bactéries**

Afin de procéder à l'identification des *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli* utilisées dans notre étude, nous avons effectué les tests biochimiques suivants :

#### **1.4.2.1 *Staphylococcus aureus***

##### **➤ Le test de la catalase**

La catalase est une enzyme qui décompose l'eau oxygénée en composé hydrique (H<sub>2</sub>O) et en molécule d'oxygène(O<sub>2</sub>). Dans une lame de verre, nous déposons une goutte d'eau oxygénée à laquelle nous ajoutons l'inoculum bactérien à tester.

L'apparition d'une effervescence témoigne de la présence d'une catalase et ainsi de la positivité du test.

#### **1.4.2.2 *Escherichia coli***

##### **➤ Milieu de Citrate de Simmons**

Il s'agit d'un test d'identification pour les entérobactéries, ce milieu teste la capacité des bactéries à utiliser le citrate comme seule source de carbone.

La bactérie sera dite Citrate de Simmons positive (+) si elle alcalinise le milieu, ce dernier sera de couleur bleu.



*Figure 8: Milieu de Citrate de Simmons*

##### **➤ Milieu de Kligler-Hajna**

Un milieu de culture permettant la recherche simultanée de : l'utilisation de lactose, la fermentation de glucose, la production de gaz par la bactérie et la production d' $\text{H}_2\text{S}$ .

- Une bactérie sera dite lactose positive (+) si la pente est jaune.
- Le culot jaune témoigne d'une bactérie à caractère glucose positif (+).
- La présence de précipité noir indique que la bactérie produit de Sulfate d'hydrogène ( $\text{H}_2\text{S}$ ).



*Figure 9: Milieu de Kligler-Hajna*

➤ **Milieu Mannitol-Mobilité-Nitrate**

C'est un milieu de culture permettant de mettre en évidence ; l'utilisation du mannitol, la réduction des nitrates et la mise en évidence de la mobilité bactérienne.

Une coloration jaune témoigne d'une dégradation du mannitol ainsi que la présence d'un trouble dans la gélose molle signifie que la bactérie est mobile.



*Figure 10: Milieu Mannitol-Mobilité-Nitrate*

➤ **Bouillon Clark et Lubs (RM / VP)**

Il sert à mettre en évidence les voies de fermentation des entérobactéries. La lecture des résultats se fait à l'aide des tests suivants :

- *Le test du Rouge de méthyle* ; il permet de mettre en évidence l'acidité du milieu au cours de la fermentation, il consiste en l'ajout de quelques gouttes de ce dernier sur un bouillon Clark et lubs après 48 h d'incubation.

Si la bactérie produit des acides forts au cours de la fermentation, le milieu reste acide et donc rouge.

- *Test de Vosges-proskauer* ; il permet de détecter la production d'acétoïne à partir de la fermentation du glucose.

Une coloration rouge du milieu témoigne d'une réaction positive.



Figure 11: Bouillon de Clark et lubs

➤ **Le test à l'uréase**

Dans un milieu urée indole, nous allons rechercher l'enzyme « uréase » qui dégrade l'urée en ammoniac et du CO<sub>2</sub> alcalinisant ainsi le milieu.

➤ **Recherche de l'indole**

L'objectif de ce test est la recherche de la tryptophane-désaminase qui produit de l'indole en dégradant le tryptophane.

Dans un milieu urée indole préalablement ensemencé et incubé, nous ajouterons 3 à 4 gouttes du réactif **Kovacs**. La formation d'un anneau rouge à la surface nous renseigne sur la présence de l'indole.

➤ **Le test d'Ortho-Nitrophényl-  $\beta$  -Galactoside (ONPG)**

Ce test est utilisé pour détecter l'enzyme  **$\beta$ -galactosidase** qui décompose le lactose en glucose et en galactose qui peuvent alors être métabolisés par les bactéries.

L'apparition d'une coloration jaune témoigne de la présence de l'enzyme  **$\beta$ -galactosidase**.

Pour tous les tests cités, les tubes utilisés sont incubés à 37C° pendant 24h.

### 1.5 Etude de la sensibilité des bactéries aux antibiotiques et aux huiles essentielles

L'évaluation de l'activité antibactérienne a été réalisée par la méthode de diffusion en milieu gélosé, elle a été réalisée au niveau du laboratoire de microbiologie de l'ENSV.

Le milieu de culture utilisé est **Muller-Hinton** qui est le plus employé pour les tests de sensibilité aux agents antimicrobiens.

#### ➤ Préparation de l'inoculum

La méthode consiste à préparer une suspension. Nous allons prélever à partir d'une culture pure, trois (03) colonies pour l'*Escherichia coli* et cinq (05) colonies pour *Staphylococcus aureus* bien isolées à l'aide d'une anse de platine, puis nous allons les introduire dans les tubes à essai contenant **10 ml** d'eau physiologique stérile (NaCl à 0.9 %). La suspension est bien homogénéisée et l'opacité doit être équivalente à **0.5 Mc Farland**.

#### ➤ L'Ensemencement

L'ensemencement est réalisé à l'aide d'un écouvillon stérile imbibé de la suspension bactérienne puis essoré en le pressant fermement sur les parois du tube, Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée de haut en bas, en stries serrées, trois fois en tournant la boîte de **60°** à chaque fois.

#### ➤ Application des disques d'antibiotiques

Nous avons déposé des disques d'antibiotiques (tableau ci-dessous) pour les deux boîtes de Pétri qui ont été ensemencées préalablement avec les 02 microorganismes testés. Incubation pendant 24h à 35°C.

*Tableau 4: les antibiotiques utilisés pour l'antibiogramme de staphylococcus aureus et l'Escherichia Coli.*

| les micro-organismes testés        | <i>Staphylococcus aureus</i> | <i>Escherichia coli</i> |
|------------------------------------|------------------------------|-------------------------|
| Les disques antibiotiques Utilisés | Pénicilline (P)              | Ampicilline (AMP)       |
|                                    | Oxacilline (OX)              | Cephalotine (KF)        |
|                                    | Erythromycine (E)            | Néomycine (N)           |
|                                    | Enrofloxacin (OF)            | Gentamicine (G)         |
|                                    | /                            | Flumequine (BV)         |
|                                    | /                            | Chloramphénicol (C)     |



Figure 12: Disposition des disques d'antibiotiques dans la boîte de Pétri d'*Escherichia Coli*

### 1.6 Evaluation de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de clou de girofle

La méthode des aromagrammes est la technique choisie pour évaluer l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle (le clou de girofle) vis-à-vis des souches (*Staphylococcus aureus* & *Escherichia coli*).

Cette analyse a été réalisée au niveau du laboratoire de microbiologie de l'ENSV.

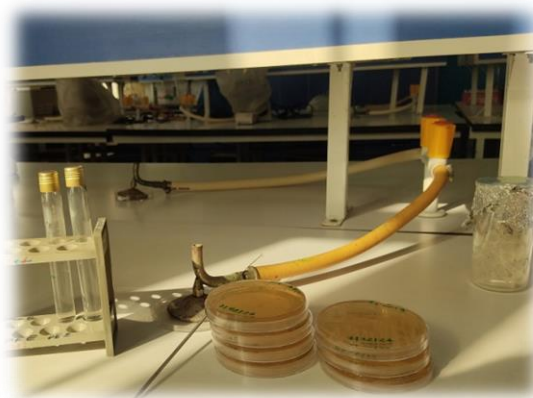


Figure 13: Préparation des boîtes pour la technique d'aromatogramme.

#### ➤ Préparation de l'inoculum

A partir des boîtes contenant les germes pathogènes (*S. aureus* et *E. coli*) nous avons préparé des suspensions pour chaque espèce étudiée. A l'aide d'une anse de platine nous avons prélevé trois (03) colonies pour *Escherichia Coli* et cinq (05) colonies pour *Staphylococcus*

*aureus* et nous les avons déposés dans un tube contenant 10 ml d'eau physiologique stérile. La concentration est équivalente à **0.5 Mc Farland**.

Le tube est porté au vortex pour une meilleure répartition de la souche dans l'eau physiologique.

➤ **L'ensemencement**

Sur des boîtes de Pétri contenant le milieu *Mueller Hinton* l'ensemencement est réalisé à l'aide d'un écouvillon stérile imbibé de la suspension bactérienne.

Nous avons répété l'opération deux fois en tournant la boîte de 60° à chaque fois puis nous avons laissé la boîte sécher pendant 5 minutes à températures ambiante.

- **Préparation des disques d'aromatogramme**

Les disques sont fabriqués à partir du papier buvard (Wattman) stérile avec un diamètre de 6 mm, l'huile essentielle est diluée dans l'éthanol, nous avons préparé trois concentrations de notre huile essentielle :

- **La 1<sup>ère</sup> concentration : 25 %**
- **La 2<sup>ème</sup> concentration : 50 %**
- **La 3<sup>ème</sup> concentration : 75 %**

➤ **L'incubation et lecture**

Les boîtes préparées sont incubées à 35°C durant 24 heures. Les résultats sont observés le lendemain des expériences, en mesurant les diamètres des halos clairs qui correspondent aux zones d'inhibition formés autour des disques à l'aide d'un pied à coulisse.

## II. Résultats et discussions

### 2.1 Extraction de l'huile essentielle du clou de girofle

Les différentes caractéristiques de l'huile essentielle de clou de girofle obtenue par hydro distillation sont résumées dans le tableau suivant :

*Tableau 5: Les différentes caractéristiques de l'HE de clou de girofle.*

| Huile essentielle étudiée | Aspect  | Couleur     | Odeur               |
|---------------------------|---------|-------------|---------------------|
| <b>Clou de girofle</b>    | Liquide | Jaune clair | Très forte (épicée) |

#### 2.1.1 Rendement d'extraction

Son rendement est exprimé en pourcentage dans le tableau suivant.

*Tableau 6: Résultat du rendement d'HE de clou de girofle.*

| Plante                | Poids de la plante (g) | Poids de l'HE (g) | Durée d'extraction | Rendement (%) |
|-----------------------|------------------------|-------------------|--------------------|---------------|
| <b>Boutons séchés</b> | 100                    | 9                 | 2h                 | <b>9%</b>     |

Le rendement après extraction par hydro-distillation de l'huile essentielle du clou de girofle est de **09%**.

Ce rendement est important comparé à celui rapporté par (**Banouh; Azzouz, 2019**) et aussi plus élevée par rapport au rendement obtenu par (**Hamadou ; Touki, 2017**) , par contre, il est faible comparativement à celui obtenu par (**Haddouche ; Dernani , 2018**). Les rendements obtenus par ces derniers sont respectivement de : 3.4%, 2.3% et 11.56%.

La différence dans le rendement de l'extraction des huiles essentielles peut être due à plusieurs facteurs dont celui de la différence de provenance du matériel végétal et des différentes techniques d'extraction, et quand il s'agit de la même méthode d'extraction comme le cas de notre étude comparée aux autres travaux, l'écart peut s'expliquer par la différence dans le temps, la durée et la température de séchage ainsi que les parties végétales utilisées pour l'extraction et la période de récolte.

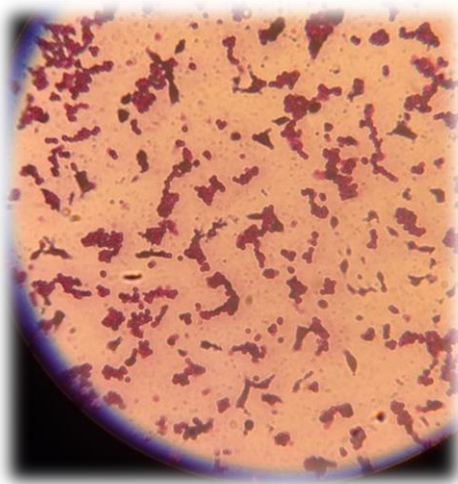
Il est à noter que les facteurs climatiques, le génotype de la plante, son origine géographique et la nature du sol peuvent interférer dans le rendement d'huile essentielle.

## **2.2 Ré-identification des bactéries**

### **2.2.1 La morphologie des bactéries**

#### **2.2.1.1 *Staphylococcus aureus***

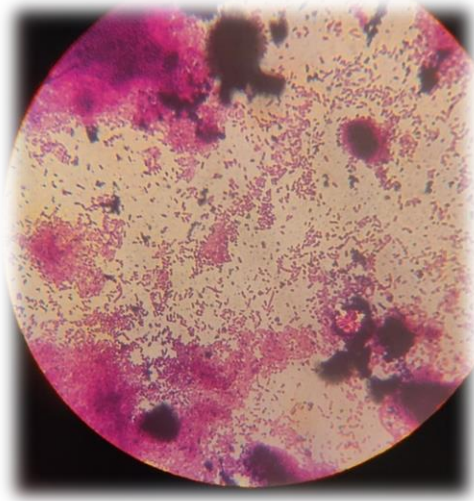
La souche de *Staphylococcus aureus* prélevée d'un abcès chez le lapin se présente comme des coques en amas de couleur violette. (figure 14).



*Figure 14: Souche Staphylococcus aureus après coloration de Gram*

#### **2.2.1.2 *Escherichia coli***

*Escherichia coli* se présente en forme de bâtonnet rose. (figure 15).



*Figure 15: Souche d'E. Coli après coloration de Gram*

## **2.2.2 Les tests biochimiques**

### **2.2.2.1 *Staphylococcus aureus***

#### **2.2.2.1.1 Test de la Catalase**

L'apparition d'une effervescence indique la présence de la catalase chez la bactérie testée (figure 16)



*Figure 16: Test de la Catalase*

### **2.2.2.2 *Escherichia Coli***

#### **2.2.2.2.1 Milieu de Citrate de Simmons**

Le milieu n'a pas changé de couleur, cela indique que notre souche n'utilise pas le citrate comme seule source de carbone

#### **2.2.2.2.2 Milieu de Kligler-Hajna**

- La bactérie fermente le glucose d'où la coloration jaune du culot.
- La pente est également de couleur jaune donc notre bactérie a utilisé le lactose.
- Absence de précipité noir donc H<sub>2</sub>S négatif
- Présence de bulles de gaz

#### **2.2.2.2.3 Milieu Mannitol-Mobilité-Nitrate**

- L'*Escherichia coli* dégrade le mannitol avec production de gaz (les bulles d'air).
- Elle est mobile.

#### **2.2.2.2.4 Bouillon Clark et Lubs (RM / VP)**

- **Test de Voges-Proskauer (VP)**

Absence de coloration dans le milieu donc notre bactérie est dite ; VP –

- **Test du rouge de Méthyle (RM)**

La bactérie produit des acides donc le milieu s'est acidifié, et vire au jaune. La bactérie est dite RM +.

#### **2.2.2.2.5 Le test d'Ortho-Nitrophényl-β-Galactoside (ONPG)**

La coloration jaune indique que la réaction est positive (ONPG+)

#### **2.2.2.2.6 Le test à l'uréase**

Pas de changement de couleur dans le bouillon indiquant ainsi l'absence de l'enzyme « uréase »

#### **2.2.2.2.7 Test de l'indole**

Formation d'un anneau rouge à la surface du tube donc la bactérie est indole +

## 2.3 Etude de la sensibilité des bactéries aux antibiotiques

### 2.3.1 *Staphylococcus aureus*

Tableau 7: Résultats de l'antibiogramme -*Staphylococcus aureus*-

| Les disques d'antibiotiques testés | Le diamètre d'inhibition (mm) | Résultat obtenu |
|------------------------------------|-------------------------------|-----------------|
| Pénicilline (P)                    | 30                            | Sensible        |
| Oxacilline (OX)                    | 28                            | Sensible        |
| Erythromycine (E)                  | 13                            | Résistante      |
| Enrofloxacin (OF)                  | 29                            | Sensible        |

En référence au manuel **National Committee for Clinical Laboratory Standards. 2002, M100\_S12. Vol. 22, N°1** et après lecture des valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition obtenues, nous concluons que la souche *Staphylococcus aureus* prélevée à partir d'un abcès chez le lapin est sensible aux antibiotiques suivants : Pénicilline, Oxacilline et Enrofloxacin mais elle est résistante à l'Erythromycine.

### 2.3.2 *Escherichia coli*

Selon le manuel Performance Standards for antimicrobial susceptibility testing ; twelfth informatinal supplement, M100\_S12. Vol. 22, N°1. 2002 Notre souche de référence *Escherichia coli* est sensible aux antibiotiques suivants : Ampicilline, Gentamicine, Chloramphénicol et Flumequine par contre elle est résistante aux antibiotiques suivants : Céphalotine et Néomycine.

Tableau 8: Résultats de l'antibiogramme -*Escherichia Coli*-

| Les disques d'antibiotiques testés | Le diamètre d'inhibition (mm) | Résultats obtenus |
|------------------------------------|-------------------------------|-------------------|
| Ampicilline (AMP)                  | 17                            | Sensible          |
| Céphalotine (KF)                   | 10                            | Résistante        |
| Néomycine (N)                      | 12                            | Résistante        |
| Gentamicine (G)                    | 15                            | Sensible          |
| Flumequine (BV)                    | 25                            | Sensible          |
| Chloramphénicol (C)                | 19                            | Sensible          |

## 2.4 Evaluation de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de clou de girofle (L'aromatogramme)

L'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de clou de girofle a été testée sur deux souches bactériennes (*Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*).

Cette activité a été étudiée par la méthode de l'aromatogramme par diffusion. Nous avons mesuré avec précision les diamètres des halos d'inhibition formés autour des disques contenant les différentes concentrations en huile essentielle.

L'estimation de l'activité antibactérienne est déterminée par mesure des diamètres des zones d'inhibition de la croissance bactérienne rapportés par (Djeddi et al., 2007; Ponce et al., 2003), les différents diamètres sont classés comme suit :

Tableau 9: Diamètres d'inhibition des croissances bactériennes et interprétation

| Activité  | Souche résistante | Souche sensibles | Souches très sensible | Souches extrêmement sensible |
|-----------|-------------------|------------------|-----------------------|------------------------------|
| Diamètres | < 8mm             | 9mm≤D≤14mm       | 15mm≤D≤19mm           | D> 20 mm                     |

Les résultats du pouvoir anti bactérien de l'HE de *Syzygium aromaticum* sur les souches étudiées sont représentés dans le (tableau 10).

Tableau 10: Sensibilités des bactéries testées vis-à-vis de l'HE du clou de girofle

| Souche bactérienne           | Concentrations de l'HE (%) | Diamètre d'inhibition (mm) | Sensibilité ou résistance de la souche |
|------------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------------------|
| <i>Staphylococcus aureus</i> | 25%                        | 22                         | <b>Extrêmement sensible</b>            |
|                              | 50%                        | 26                         | <b>Extrêmement sensible</b>            |
|                              | 75%                        | 30                         | <b>Extrêmement sensible</b>            |
| <i>Escherichia coli</i>      | 25%                        | 09                         | <i>Sensible</i>                        |
|                              | 50%                        | 12                         | <i>Sensible</i>                        |

|     |    |                      |
|-----|----|----------------------|
| 75% | 37 | Extrêmement sensible |
|-----|----|----------------------|

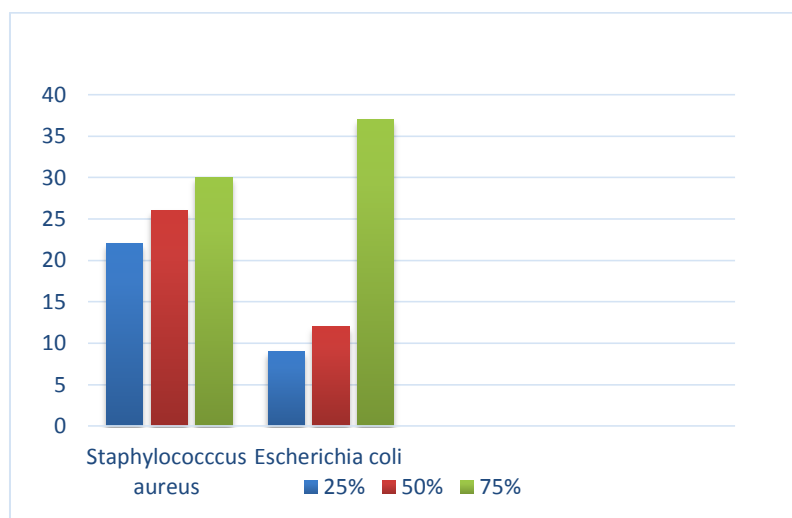


Figure 17 : les diamètres d'inhibition des bactéries testées vis-à-vis de l'huile essentielle de clou de girofle.

Comme rapporté dans le tableau 10, *Staphylococcus aureus* a présenté une **sensibilité extrême** vis-à-vis de l'huile essentielle du clou de girofle et ce pour les trois concentrations étudiées, avec des diamètres de **22mm** à 25% de l'huile essentielle, **26mm** à 50% et de **30mm** à 75%.

Ceci révèle que notre huile présente un potentiel antibactérien important vis-à-vis de cette bactérie et qui est proportionnel à la concentration, c'est-à-dire il augmente en augmentant la concentration de l'huile essentielle.

Nos résultats correspondent à ceux obtenus par **Haddouche N., et al., en 2018** qui rapportent également une forte activité antimicrobienne de l'huile essentielle du clou de girofle sur *Staphylococcus aureus* avec une CMI de **0,0625 ul/ml**.

**Atmani H., et al en 2015** ont également montré dans leurs travaux que le *staphylococcus aureus* était très sensible à l'huile essentielle du clou de girofle et avait des zones d'inhibitions plus grandes comparées aux autres bactéries Gram+.

**Jian-Guo X., et al., en 2016** ont obtenu également une activité antibactérienne intéressante de l'huile essentielle du clou de girofle avec une concentration minimale inhibitrice de **0,625mg/ml**.

Les résultats obtenus par **Dulal S., et al., en 2021** ont montré des résultats semblables aux nôtres c'est-à-dire une efficacité satisfaisante de l'huile essentielle du clou de girofle à l'égard du *Staphylococcus aureus*.

Cependant **Ouidir S., en 2018** a enregistré une résistance du *Staphylococcus aureus* prélevé à partir d'urine vis-à-vis de l'huile essentielle du clou de girofle.

Les différences dans l'activité antibactérienne de l'huile essentielle du clou de girofle contre *Staphylococcus aureus* peuvent être dues aux conditions expérimentales telles que la quantité de l'inoculum, la source de l'huile essentielle et le temps d'incubation.

Pour ce qui est de l'*Escherichia coli*, elle a présenté une sensibilité extrême seulement à 75% de l'huile essentielle avec un diamètre de 37mm. A 25 et 50%, elle a manifesté une sensibilité avec des diamètres de 9 et 12 mm respectivement.

**Atmani H., et al en 2015** rapportent dans leurs travaux des résultats similaires aux nôtres c'est-à-dire une sensibilité de L'*Escherichia coli* vis-à-vis de notre huile essentielle. Il a été également montré à l'instar de notre présent travail, une meilleure efficacité de l'huile essentielle du clou de girofle sur *Staphylococcus aureus* que sur *Escherichia coli*.

**Shraddha D., et al., en 2021** ont prouvé l'efficacité de notre huile essentielle sur les bactéries Gram + et Gram-. L'*Escherichia Coli* a présenté un diamètre d'inhibition de 22mm à 75µl de l'huile essentielle et de 20mm à 50µl. Cette étude a également démontré que *Staphylococcus aureus* présentait une plus grande sensibilité à l'huile essentielle comparé à *Escherichia coli*.

Selon **Leclerc et al ., 1995**, la sensibilité aux huiles essentielles des bactéries Gram+ comparés aux Gram- pourrait être expliquée par la membrane externe de lipopolysaccharides des bactéries à Gram (-) qui constitue une barrière d'imperméabilité aux substances hydrophobes, les rendant ainsi moins sensibles aux huiles essentielles. Cependant l'absence de cette membrane chez les bactéries Gram (+) et la présence de la couche du peptidoglycane permettent à l'huile essentielle d'agir plus facilement sur la bactérie, la rendant ainsi plus sensible (**Burt ,2004**).

Les huiles essentielles présentent une activité anti bactérienne intéressante, ceci pourrait être expliqué par leur forte teneur en *terpènes*, en composés oxygénés ainsi qu'en composés phénoliques. L'interaction de ces composés avec les polysaccharides, les acides gras ainsi que

les phospholipides membranaires est à l'origine d'une fuite du contenu cellulaire par rupture de la membrane induisant ainsi la mort cellulaire. (**Shraddha D., et al., en 2021**)

Dans notre présente étude, l'activité antibactérienne de l'huile essentielle du clou de girofle pourrait être attribuée à son composé majoritaire qui est « **l'eugénol** ». **Rhayour, en 2016** ainsi que **Valero., et al., en 2006**, ont démontré dans leur travaux que l'eugénol est à l'origine de l'inhibition de la croissance des bactéries.

## **Conclusion et perspectives**

La résistance aux antibiotiques présente une réelle menace pour la santé aussi bien en médecine humaine qu'en médecine vétérinaire. Des infections autrefois anodines et facilement traitables par les antibiotiques, semblent désormais présenter un véritable danger à cause de leurs résistances aux antibiotiques.

Les plantes médicinales semblent présenter un potentiel thérapeutique important à l'égard de différentes pathologies touchant l'homme et l'animal et pourrait ainsi réduire le recours aux produits chimiques tels que les antibiotiques, ce qui les rendrait des substituts de choix à ces derniers.

Dans ce présent travail, nous nous sommes proposé d'étudier l'activité antibactérienne de l'huile du clou de girofle sur *Staphylococcus aureus* prélevée à partir d'un abcès chez le lapin et sur une souche de référence d'*Escherichia coli*.

L'huile essentielle du clou de girofle a été extraite par la méthode d'hydrodistillation en utilisant les boutons du clou de girofle, le rendement était de **9%**. Dans un premier temps nous avons ré-identifié les souches en utilisant les différents tests biochimiques et nous avons étudié leur profil de sensibilité à différentes familles d'antibiotiques.

Dans un second temps, nous avons utilisé différentes concentrations de l'huile essentielle sur les deux souches bactériennes afin d'en apprécier la sensibilité par la méthode de l'aromatogramme.

Nos résultats ont indiqué une sensibilité des deux souches aux différentes concentrations de l'huile essentielle utilisée, avec une extrême sensibilité du *Staphylococcus aureus* qui a présenté des diamètres d'inhibition supérieurs à 22mm pour les 03 concentrations utilisées. Cependant, *Escherichia coli* a présenté une sensibilité extrême uniquement au contact de 75% de l'huile essentielle.

D'après nos résultats obtenus, l'huile essentielle du clou de girofle possède un pouvoir antibactérien important, cependant ce pouvoir d'inhibition de la croissance bactérienne varie en fonction de l'espèce bactérienne et des concentrations utilisées.

Au vu des résultats encourageants obtenus dans cette étude dans la lutte contre les bactéries en substituant les molécules chimiques par des molécules biologiques et afin d'obtenir des

résultats plus significatifs et extrapolables à large échelle, nous proposons les perspectives suivantes :

- Procéder à une chromatographie gazeuse couplée à une spectrométrie de masse afin d'identifier et de quantifier avec précision la composition de notre huile essentielle.
- Etudier l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle du clou de girofle sur un éventail plus large de pathogènes.
- Utiliser des concentrations plus faibles afin de situer les limites du pouvoir antibactérien de l'huile essentielle
- Mettre au point des procédés permettant une optimisation de l'activité de l'huile essentielle telle que l'encapsulation.
- Etudier le pouvoir antimicrobien d'autres huiles essentielles extraites à partir d'autres plantes.
- Rechercher une éventuelle synergie de l'huile essentielle du clou de girofle avec une autre huile essentielle.
- ...

## A

**Acar J et Rostel B., 2001** : Antimicrobial resistance : an overview. International office of Epizootics.20(3) : pp, 797-810.

**Alice D., 2011**: Faisabilité de la mise en place d'une Indication Géographique Sur le Clou de girofle à Madagascar Ecole supérieure d'Agro-Développement International ISTOM ; Thèse P 65 72.

**Atmani H, Baira K., 2015** : L'activité antibactérienne et antifongique et l'étude des caractères physico-chimique de l'huile essentielle de clou de girofle.

**Atsusane T., 1991** : Clove oil or dehydroeugenol for controlling oxygen in the human body.Japan Kokai Tokkyo Koho ;227,6.

## B

**B. Y. K Seuthy., B. M Gurupadaya., Venkata S. K., T Narendra., A Kumar., 2014** : development and validation of GC for estimation of eugenol in clove extract vol 6 issue (academic sciences).

**Bajpai VK., Kang SC., 2010** : Antifungal activity of leaf essential oil and extracts of *Metasequoia glyptostroboides* Miki ex Hu. J Am Oil Chem' Soc.;87:327–336.

**Bakkali F., Averbeck S., Averbeck D., Idaomar M., 2008** : Biological effects of essential oils-A review. Vol 46, pp 446-475.

**Banouh Radia., Azzouz Amel., 2019** : Evaluation de l'activité antibactérienne, antifongique et activité antioxydante de l'huile essentielle de clou de girofle.

**Barbalet S., 2015** : Le giroflier : historique, description et utilisations de la plantes et de son huile essentielle. Mémoire de fin d'étude Pour obtenir le Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie. Université de LORRAINE.

**Beloud A., 2003** : Plante médicinales d'Algérie. Offices des publications universitaires, p. 144-145.

**Bernard Poinel., 2013** : Polyculture-élevage et plantes médicinales.

**Brenes A., Roura E., 2010** : Essential oils in poultry nutrition ; main effects and modes of action. Anim. Feed Sci. Technol., 158, 1-14.

**Buchanan BB., Gruissem W., Jones RL., 2000** : Biochemistry & Molecular Biology of Plants. American Society of Plant Physiologists: Rockville, MA, p 1367 .

**Burt S.A., 2004** : Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods a review. Int. J. Food Microbiol. 94: 223-253.

## C

**Carson C.F., Mee B.J, Riley T.V., 2002** : Mechanism of action of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil on *Staphylococcus aureus* determined by time-kill, lysis, leakage and salt tolerance assays and electron microscopy. Antimicrobial Agents and Chemotherapy 46: 1914–1920.

**Chaieb K., Hajlaoui H., Zmantar T., Kahla-Nakbi A.B., Rouabhia M., Mah-Douani K., Bakhrouf A. 2007** : The chemical composition and biological activity of clove essential oil, *Eugenia caryophyllata* (*Syzygium aromaticum* L.Myrtaceae): a short review. Phytother. Res.; 21:501–506.

**Christiane Werckenthin., Marisa Cardoso., Jean Louis Martel., Stefan Schwarz., 2001** : Antimicrobial resistance in *Staphylococci* from animals with particular reference to bovine *Staphylococcus aureus*, porcine *Staphylococcus hyicus*., canine *Staphylococcus intermedius*.

**Conner D.E., 1993** : Naturally occurring compounds. In: Davidson P.M. and Brannen A.L. (eds), Antimicrobials in Foods. Marcel Dekker, New York, NY, USA, pp. 441-468.

**Corne P., 2004** : *Staphylococcus aureus* dans un service de réanimation: étude génétique, phénotypique et épidémiologique. thèse. Montpellier 1.

**Couic -Marinier F., Lobstein A., 2013** : Les huiles essentielles gagnent du terrain à l'officine. Actualités pharmaceutiques.

## Références bibliographiques

**Couture B., 1997** : Bactériologie médicale troisième édition.: Décarie éditeur Québec.

**Cox S.D., Mann C.M., Markham J.L., Bellh C., Gustafson J.E., Warmington J. R Wyllie S.G., 2000** : The mode of antimicrobial action of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil). *Journal of Applied Microbiology* 88: 170-175.

## D

**Da Cruz Cabral L., Delgado J., Patriarca A., Rodriguez A., 2013** : Differential response to synthetic and natural antifungals by *alternaria tenuissima* in wheat simulating media : Growth, mycotoxin production and expression of a gene related to cell wall integrity. Vol, 292 pp ; 48-58.

**Davet P., Rouxel F., 1997** : Detection et isolement des champignons du sol, Paris.Cedex07, p147.

**Degryse A., Delpla I., Voinier M., Risue., 2008** : bénéfices possibles des huiles essentielles, Ingénieure du Génie sanitaire, atelier santé environnement.

**Delaighe R., 1930** : les essences naturelles et parfums, Ed. *Armond colin*, paris.

**Djeddi S., Bouchenah N., Settari I., Skaltsa H. D. 2007** : Composition and antimicrobial activity of the essential oil of *rosmarinus officinalis* from Algeria. *Chemistry of Natural Compounds*, 43(4), 487–490.

## E

**Elhani D., 2011** : L'émergence de la résistance aux antibiotiques annonce-t-elle le retour des âges sombres ? *Ann Biol Clin* 2011 ; 69(6) : 637-46.

**Englebin M., 2011** : Essences et huiles essentielles: précaution d'emplois et conseils d'utilisation, centre de formation en aromathérapie.

**Eric Penot., Pascal Danthu., Karen Mahafaka Ronoarisoa., Jean Chrysostome Rakotondravelo., Isabelle Michel., Marine Tiollier., 2014** : Le giroflier à Madagascar : une « success story »... à l'avenir incertain, Bois et Forêts des Tropique.

## F

**Faucon M., 2015** : Traité d'Aromathérapie scientifique et médicale, fondements et aide à la prescription, sang de la terre Éd., Paris, 896 p.

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

**Franchomme P., Penoel D., 2001** : l'aromathérapie exactement. Encyclopédie de l'utilisation thérapeutique des huiles essentielles. Roger Jollois. 445p.

## G

**Georgetti S.R., Casagrande R., Di Mambro V.M., Azzolini Ana E.C.S., Fonseca Maria J.V., 2003** : Evaluation of the antioxidant activity of different flavonoids by the Chemiluminescence Methode. *AAPS Pharm Sci*, 5 (2) : P1-5.

**Goetz P., Jeune R., 2012** : *Syzygium Aromaticum* L, Merr and Perry (Myrtaceae) giroflier, phytothérapie, p 37-43.

**Gordon R.J., F.D Lowy., 2008** : Pathogenesis of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection. *Clinical Infectious Diseases*. 46(Supplement 5): p. S350-S359.

**Guillaume Vieu., 2014** : Diversité génétique des isolats de *Staphylococcus aureus* producteurs de toxine de Panton-Valentine isolés au CHU de Toulouse. Etude de 37 cas de patients à l'hôpital des enfants, Université Toulouse, 107p.

## H

**Haddouche Nawel., Dernani Hadjer., 2018** : Etude de l'activité antibactérienne et hémolytique de l'huile essentielle de *Syzygium aromaticum* (clou de girofle).

**Hamadou Faiza., Touki Soumia., Ghiaba Zineb., 2017** : Extraction, caractérisation des huiles essentielles des épices ; Girofle, Poivre noir.

**Helle L., Carsten O., 2007** : Unsustainable collection and unfair trade. Uncovering and assessing assumptions regarding Central Himalayan medicinal plant conservation. *Biodiversity Conservation*, vol. 16, n. 3, p. 1679-1697.

**Hikasa Y., Takase K., Ogasawara T., Ogasawara S., 1986** : Anesthesia and recovery with tricaine methanesulfonate, eugenol and thiopental sodium in the carp, *Cyprinus carpio*. *Jpn.J. Vet. Sci.*; 48: 341-351.

## J

**Jadhav B.K., Khandelwal K.R., Ketkar A.R., Pisal S.S., 2004** : Formulation and Evaluation of Mucoadhesive Tablets Containing Eugenol for the Treatment of Periodontal Disease. *Drug. Dev. Ind. Pharm.*; 30: 195-203.

**Jerusha Santa Packyanathan., Dr.Gopinath Prakasam., 2017** : Antibacterial Effect of Clove Oil against Clinical Strains of *Escherichia coli*.

## K

**Kalembe D., Kunick A., 2003** : Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Curr. Med. Chem.* 10: 813-829.

**Kaloustian J., Hahdji-Minaglou F., 2012** : La connaissance des huiles essentielles. *Qualitologie et aromathérapie*. Springer . 210p.

**Knobloch K., Pauli A., Iberl B., Weigand H., Weis N., 1989** : Antibacterial and antifungal properties of essential oil components. *Journal of Essential Oil Research*. 1(3): p. 119-128.

**Koroch A., Ranarivelo L., Behra O., Juliani H.R., Simon J.E., 2007** : « Quality Attributes of Ginger and Cinnamon Essential Oils from Madagascar » in : *Issues in new crops and new uses*. Ed by Janick and A. Whipke. ASHS Press, Alexandria, pp 338-341.

**Kozam G., 1977** : The effect of eugenol on nerve transmission. *Oral. Surg. Oral. Med. Oral. Pathol.*; 44: 799-805.

## L

**Laekeman S.M., Hoof V.L., Haemers A., Berghe V.A.D., Herman A.G., Vlietink A.K., 1990** : Eugenol, a valuable compound for in-vitro experimental research and Worth while for further in vivo investigation. *Phytother. Res.*; 4: 90-96.

**Lahlou M., 2004** : Methods to study the phytochemistry and bioactivity of essential oils. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 18(6): p. 435-448

**Lakshya Rani., Gopinath P., 2017** : *International Journal of recent scientific research*. Vol. 8, Issue, 3, pp. 16134- 16136.

**Lamaty et al., 1997** : Chemical composition and antibacterial activities of the essential oils of *Lippia chevalieri* and *Lippia multiflora* from Burkina Faso. *Journal of chemistry of naturel compound*. Vol15, P429.

**Leaman D.J., 2009** : Soulager la pression. *Planète conservation*, avril, vol. 39, n. 1, p. 8-10.

**Leclerc H., Gaillard J., Simonet M., 1995** : *Microbiologie générale : la bactérie et le monde bactérien*. Doin éditeurs-paris. 535

**Lis-Balchin M., Lavender., 2003** : *the genus Lavandula* ; CRC press .

**Lorette G., Beaulieu P., Allaert F.A., Mahmoudi A., Jarlier V., 2009** : Superficial community-acquired skin infections: prevalence of bacteria and antibiotic susceptibility in France. *J Eur Acad Dermatol Venereol* ;23(12):1423-6

**Louise Bélanger., Amélie Garenaux., Josée Harel., Martine Boulianne., Eric Nadeau., Charles M Dozois., 2011** : *Escherichia coli* from animal reservoirs as a potential source of human extraintestinal pathogenic *E. coli*.

## M

**M hakki Alma., Murat ertas., Siegfrie., Nitz., Hubert Kollmansberger., 2012** : Chemical composition and content of essential oil from the Bud of cultivated Turkish clove.

**Malecky M., 2007** : *Métabolisme des terpénoïdes chez les caprins*. Thèse de doctorat .INRA,UMR 791 physiologie de la nutrition et alimentation, F-75231 Paris, page 30-35.

**Mathieu Deshaies., 2013** : Le clou de girofle à la rescousse, 165 Boulevard Springer, 14p.

**Morin J. Malhuret R., Basted P., 1983** : Aromathérapie, Exemple de la réalisation pratique de l'utilisation des huiles essentielles en thérapeutique, ISSN 0992-9406.

**Murbach Teles Andrade., Lidiane N.B., Isabella D.S.P., Ary Fernandes J., 2014** : Antimicrobial activity of essential oils. Vol 24, pg 34.

## N

**National Committee for Clinical Laboratory Standards. 2002, M100\_S12. Vol. 22, N°1**

**Nishijima H., Uchida R., Kawakami N., Shimamura K. and Kitamura K., 1998** : Role of endothelium and adventitia on eugenol induced relaxation of rabbit ear artery precontracted by histamine. J. Smooth. Muscle. Res.; 34: 123-137.

## P

**Pauli A., 2006** : Anticandidal low molecular compounds from higher plants with special reference to compounds from essential oils. Med.Res. Rev. 26: 223–268

**Pei Z et al., 2014** : Cloning, Expression, and Purification of a New Antibacterial Substance Gene From Larvae of *Musca domestica* (Diptera: Muscidae). Journal of Insect Science, 14(1): p. 253.

**Performance Standards for antimicrobial susceptibility testing ; twelfth informational supplement, M100\_S12. Vol. 22, N°1. 2002**

**Phytoprevent A.C.A., 2004** : Contrôle de la plante. Auteur: ACA. Arommatogrammes, André Sympo Présentation Microsoft power point.

**Pierre Franchomme., Roger Jollois., Daniel Penoel., 2001**: L'aromathérapie exactement. Edition Roger Jollois.

**Ponce A. G., Fritz R., Valle C., Roura S. I., 2003** : Antimicrobial activity of essential oil on the native microflora of organic Swiss chard. Lebensm-Wiss. U.-Technol, 36, 679–684. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(03\)00088-4](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(03)00088-4) Redirecting

**Purchon N., 2001** : La bible de l'aromathérapie .Edition Marabout.

## R

**Rakotoatimanana V., 1999** : «Contribution à l'optimisation d'une unité de production d'huiles essentielles», mémoire de fin d'études, Département Génie Chimique, Ecole Supérieure Polytechnique d'Antananarivo ESPA, Université d'Antananarivo.

**Ranoarisoa K.M., 2012** : Evolution historique et état des lieux de la filière girofle à Madagascar .Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme d'Ingénieur Agronome. Antananarivo : Ecole Supérieure des Sciences Agronomiques.

**Raphael Reinert., 2013** : Office fédéral de la sécurité alimentaire et des affaires vétérinaires OSAV.

**Reddy A.C., B.R Lokesh., 1994** : Studies on anti-inflammatory activity of spice principles and dietary n-3 polyunsaturated fatty acids on carrageenan induced inflammation in rats. Annals of nutrition & metabolism. 38: pp.349– 358.

**Rhayour K, Bouchikhi T, Tantaoui-Elaraki A., Sendice K., Remmal A., 2002** : The mechanism of bactericidal action of organum and clove essential oils and of their phenolic major components on *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis*. J Essent Oil Res, 15: 356-562.

**Rhayour Khadija., 2003** : Etude du mécanisme de l'action bactéricide des huiles essentielles sur *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* et *Mycobacterium phlei* et *Mycobacterium fortuitum* Thèse Présentée en vue de l'obtention du Doctorat National.

## S

**Salze UJ., 1977** : The analysis of essential oils and extracts (oleoresins) from seasonings a critical review. C.R.C Crit. Rev. Food Sci. Nutr. 9: 345-373.

**Schijffelen MJ., Boel CH., Van Strijp JA., 2010** : Whole genome analysis of a livestock-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ST398 isolate from a case of human endocarditis. BMC Genomics ;11:376. doi: 10.1186/1471-2164-11-376

## Références bibliographiques

**Schippmann U., Leamen D., Cunningham A., 2002 :** Impact of Cultivation and Gathering of medicinal Plants on Biodiversity: Global Trends and Issues. In : FAO. Biodiversity and the Ecosystem Approach in Agriculture, Forestry and Fisheries. Satellite event on the occasion of the Ninth Regular Session of the Commission on Genetic Resources for Food and Agriculture, Rome, 12-13 October. Rome : FAO Inter-Departmental Working Group on Biological Diversity for Food and Agriculture, 21 p.

**Schippmann U., Leamen D., Cunningham A., 2006 :** A comparison of cultivation and wild collection of medicinal and aromatic plants under sustainability aspects. In : Bogers R.J., Craker L.E., Lange D. (eds.). Medicinal and Aromatic Plants. Springer. P. 75-95.

**Sell A.B., Carlini E.A., 1996 :** Anesthetic action of methyleugenol and other eugenol derivatives. Pharmacology; 14: 367-377.

**Shraddha Dudal., Sujan Chaudhary., Chiranjibi Dangi., Shiv Nandan Sah., 2021 :** Antibacterial Effect of Essential Oils (Clove oil, Castor oil and Ginger oil) against human pathogenic bacteria Vol. 9(4) : 250-255.

**Sikkema J., de Bont Jam., Pollman B., 1994 :** Interactions of cyclic hydrocarbons with biological membranes. J. Biol. Chem. 269: 8022-8028.

**Sikkema J., de Bont Jam., Pollman B., 1995 :** Mechanisms of Membrane Toxicity of Hydrocarbons. Microbiological Reviews, 59, 201-222.

**Singh A.K., Dhamanig S.S., Asad M., 2009 :** Anti-stress activity of hydro-alcoholic extract of *Eugenia caryophyllus* buds (clove). Indian. J. Pharmacol.; 41(1): 28-31.

**Sladky K.K., Swanson C.R., Stoskopf M.K., Loomis M.R., Lewbart G.A., 2001 :** Comparative efficacy of tricaine methanesulfonate and clove oil for use as anesthetics in red pacu (*Piaractus brachipomus*). Am. J. Vet. Res.; 62: 337-342.

**Sophie Barbelet., 2015 :** le giroflier : historique, description et utilisation de la plante et de ses huiles essentielles. Vol 5. P 22-26.

**Source :** Estimation France AgriMer à partir d'enquêtes d'expert.

**Souza E.L., Stamford T.L., Lima E.O., 2006 :** alternative sources of study of citrus essential oils. Flavour and Fragrance Journal. Vol. 20. Page 249-264.

**Staub H., Bayer L., 2013 :** Traité approfondi de phyto-aromathérapie avec présentation de 750 huiles essentielles connues, Grancher Éd, Paris, 750 p.

## U

**Ultee A., E. P. W. Kets., E. J. Smid., 1999 :** Mechanisms of action of carvacrol on the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. J. Appl. Microbiol. Vol 65(10). Page 4606-4610.

## V

**Valero M., Giner M.J., 2006 :** Effects of antimicrobial components of essential oils on growth of *Bacillus cereus* INRA L2104 in and the sensory qualities of carrot broth. International Journal of Food Microbiology, 106, 90-94.

## W

**Wie M.B., Won M.H., Lee K.H., Shin J.H., Lee J.C., Suh H.W., Song D.K., Kim Y.H., 1997 :** Eugenol protects neuronal cells from excitotoxic and oxidative injury in primary cortical cultures. Neurosci. Lett.; 225: 93-96.

**Willem J.P., 2002 :** Le guide des huiles essentielles pour vaincre vos problèmes de santé . Editions L'MV.

## Z

**Zheng G.Q., Kenny P.M., Lam K.T., 1992 :** Sesquiterpene from clove (*Eugenia caryophyllata*) as potential anticarcinogenic agent, J. Nat. Prod., vol 55. p 999-1003.

## Netographie

- [Http://ansm.sante.fr/var/ansm\\_site/storage/original/application/657257784ff10b16654e1ac94b60e3fb.pdf](http://ansm.sante.fr/var/ansm_site/storage/original/application/657257784ff10b16654e1ac94b60e3fb.pdf) ,  
Recommandations relatives aux critères de qualité des huiles essentielles mai 2008, consulté en mai 2016.  
[Http://corpolaseve.ugac.ca/manuel/chapitres/chap1.pdf](http://corpolaseve.ugac.ca/manuel/chapitres/chap1.pdf), Le matériel végétal et les huiles essentielles, consulté en mai 2016.
- <https://jacarandas-international.com/huile-essentielle-de-giroflier-campagne-2020/?fbclid=IwAR2YIWgilfaPzITjIKDuIhbeHBjNWU2vez7bQoDnnuRwf-bsLdrthIwwPeM>, par Audrey /30Nov 2020.
- (<https://cinier-b.com/pro/les-hydrolats-aromatiques/?fbclid=IwAR2KleWgJpmMdTcxzVTZne0eeKkJJeAR3F8SJK5kIgxpiG6O1k4uuJ7Odz9c>
- (<https://www.anses.fr> › files PDF Escherichia coli entéro-hémorragiques (EHEC) – Anses)
- (<https://www.sfm-microbiologie.org> › PDFE, Escherichia coli/ Shigelle)

## Résumé

Notre travail porte sur l'étude et la mise en évidence de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle du clou de girofle extraite par hydro distillation à partir des boutons séchés et dont le rendement obtenu était de 9%.

L'activité antibactérienne a été mise en évidence par la méthode de l'aromatogramme vis-à-vis de deux souches : *Staphylococcus aureus* prélevée à partir d'un abcès chez le lapin et sur une souche de référence d'*Escherichia coli*. Nous avons tout d'abord ré-identifié les souches en utilisant les différents tests biochimiques et nous avons étudié leur profil de sensibilité à différentes familles d'antibiotiques. Par la suite, nous avons préparé trois concentrations de l'huile essentielle à savoir : 25%, 50% et 75%.

Les résultats de nos travaux sont comme suit : *Staphylococcus aureus* a présenté une sensibilité extrême pour les trois concentrations de l'huile essentielle avec des diamètres d'inhibition de 22 mm à 25%, de 26mm à 50% et de 30 mm à 75%. *Escherichia coli* a présenté une sensibilité extrême à 75% de l'huile essentielle avec un diamètre d'inhibition de 37% et a seulement été sensible aux autres concentrations.

Les résultats obtenus dans ce présent travail démontre que l'huile essentielle du clou de girofle possède un pouvoir antibactérien important vis-à-vis des souches étudiées, rendant ainsi l'utilisation des huiles essentielles, une piste intéressante pour remédier au phénomène de l'antibio-résistance.

**Mots clés :** Huile essentielle ; Activité antibactérienne ; Clou de girofle .

## Abstract

Our work aims to study and demonstrate the antibacterial activity of clove essential oil extracted by hydro distillation from dried buds and whose yield was 9%.

The antibacterial activity was demonstrated by the "aromatogram method" against two strains: *Staphylococcus aureus* taken from an abscess in rabbits and on a reference strain of *Escherichia coli*. Firstly, we have re-identified the strains using different biochemical tests and we studied their sensitivity profile to different families of antibiotics. Subsequently, we prepared three concentrations of the essential oil namely: 25%, 50% and 75%.

The results of our work are as follows: *Staphylococcus aureus* showed extreme sensitivity for the three concentrations of the essential oil with inhibition diameters of 22 mm at 25%, 26mm at 50% and 30 mm at 75%. *Escherichia coli* showed extreme sensitivity to 75% of the essential oil with an inhibition diameter of 37% and were only sensitive to other concentrations.

The results obtained in this present work demonstrate that the essential oil of clove has an important antibacterial power against the strains studied, thus making the use of essential oils an interesting alternative to remedy the phenomenon of antibiotic resistance.

**Key words:** Essential oil; Antibacterial activity; Clove oil

## المخلص :

يهدف عملنا إلى دراسة وإثبات النشاط المضاد للبكتيريا للزيت العطري للقرنفل المستخرج بالتقطير المائي من البراعم المجففة بمردود 9%. تم توضيح النشاط المضاد للبكتيريا بواسطة طريقة **aromatogramme** ضد سلالتين *Staphylococcus aureus*: المأخوذة من خراج في أرنب وضد سلالة مرجعية *Escherichia coli* قمنا أولاً بإعادة تحديد السلالات باستخدام اختبارات كيميائية حيوية مختلفة وفحصنا ملف حساسيتها لعائلات مختلفة من المضادات الحيوية. بعد ذلك ، قمنا بإعداد ثلاث تراكيز من الزيت العطري وهي: 25% ، 50% و 75%. نتائج عملنا كانت كما يلي : البكتيريا *staphylococcus aureus* أظهرت حساسية شديدة لجميع التركيزات الثلاثة من الزيت العطري بأقطار تثبيط تبلغ 22 مم عند 25% ، و 26 مم عند 50% ، و 30 مم عند 75%. حيث أظهرت البكتيريا *Escherichia coli* حساسية شديدة لـ 75% من الزيت العطري بقطر تثبيط 37% وكانت حساسة فقط للتركيزات الأخرى. تظهر النتائج التي تم الحصول عليها في هذا العمل الحالي أن الزيت العطري للقرنفل له قوة كبيرة مضادة للبكتيريا ضد السلالات المدروسة ، مما يشير كذلك إلى استخدام الزيوت الأساسية ، التي تعتبر مساراً مثيراً للاهتمام للقضاء على ظاهرة مقاومة المضادات الحيوية.

**الكلمات الأساسية:** زيت عطري، نشاط مضاد للبكتيريا، القرنفل