

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
Département biochimie microbiologie



MEMOIRE
DE FIN D'ETUDES

EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME DE MASTER
SPECIALITE : BIOTECHNOLOGIE MICROBIENNE

THEME

**Evaluation de l'activité antibactérienne del'huile
essentielle de *Syzygiumaromaticum*vis-à-vis des
bactériesresponsable d'infections urinaires**

Réalisé par :

Melle OUIDIR Soraya..... soutenue le 18/04/2018

Devant le jury :

PRESIDENT: Mr TAZDAIT D.

Maitre de conférences B à l'UMMTO

PROMOTEUR : Mr OUELHADJ A.

Maitre de conférences A à l'UMMTO

EXAMINATRICE: Mme BENAZZOUZ K.

Maitre assistant A à l'UMMTO

Année universitaire 2017/2018

Remerciements

Je tiens à remercier,

*Mon promoteur, Monsieur **OUELHADJ A.** Maitre de conférences A à UMMTO pour avoir encadré et dirigé ce travail avec une grande rigueur scientifique, sa disponibilité et ses conseils.*

*Monsieur **TAZDAIT D.** Maitre conférence B à l'UMMTO, pour avoir accepté de présider le jury.*

*Madame **BENAZZOUZ K.** Maitre assistant A à l'UMMTO, pour avoir accepté d'examiner mon travail.*

*Monsieur **BOUDJEBLAA**, médecin biologiste pour m'avoir accepté pour un stage pratique au sein de son laboratoire.*

Dédicaces

Je dédie ce mémoire :

A mes parents avec toute ma reconnaissance.

A Mourad et Aylan

A mes frères

A ma belle famille

TABLE DE MATIERE

Liste des abréviations.

Liste des figures.

Liste des tableaux.

Introduction 1

I – Généralité sur les huiles essentielles.

1. Introduction..... 2

2. Définition..... 2

3. Répartition et localisation des huiles essentielles 3

3.1.Répartition dans le règne végétal 3

3.2.Localisation dans la plante 3

4. Rôle des huiles essentielles dans la plante 4

5. Propriétés physico-chimiques des huiles essentielles 5

6. Les méthodes d'extraction des huiles essentielles 5

6.1.Distillation..... 7

6.1. 1. Hydro distillation 7

6.1.2. Entrainement à la vapeur d'eau 8

6.1.3. Distillation par les solvants organiques..... 9

6.2. Distillation assistée par micro-ondes ou ultrasons 10

6.2.1. Extraction par micro-ondes 11

6.2.2. Extraction par ultrasons 12

6.3. Extraction par les corps gras 12

6.4. Enfleurage 12

6.5. Expression 12

6.6. Incision 13

7. Composition chimique des huiles essentielles. 13

7.1. Terpènes.....	14
7.2. Composés aromatiques.....	15
7.3. Composés d'origines diverses.....	16
8. Les schémas.....	17
9. Les facteurs influençant la composition.....	10
10. Activités biologiques des huiles essentielles	18
10.1. Activité anti-infectieuse.....	18
10.1.1. Activité antibactérienne.....	18
10.1.2. Activité antifongique.....	20
10.1.3. Activité antivirale	20
10.1.4. Activité antiseptique	20
10.1.5. Activité antiparasitaire	21
10.2. Activité insectifuge et insecticide.....	21
10.3. Activité anti inflammatoire et anti histaminique	21
10.4. Activité immun-régulatrice	22
10.5. Activité anti-oxydante.....	22
11. Conservation des H. Es.....	23
12. Toxicité des H. Es.....	23
13. Principaux domaines d'application	24
13.1. Aromathérapie.....	24
13.2. Agro-alimentaire.....	24
13.3. Cosmétologie et parfumerie	25
13.4. Pharmacie.....	25

II Description de la plante étudiée (giroflier).

1. Introduction	27
2. Etude botanique de la plante.....	27
2.1. Répartition géographique.....	28

2.2. Culture.....	28
2.3. Classification systématique.....	29
2.4. Description botanique	29
3. Usage et propriétés thérapeutiques.....	32
4. Autres utilisations	33

III Les bactéries et la résistance aux antibiotiques

1. Généralités sur le monde microbien	34
1.1. Historique	34
1.2. Les bactéries.....	34
1.2.1. Morphologie et structure	34
1.2.2. Pouvoir pathogène.....	36
1.2.3. Bactéries Gram –	36
1.2.4. Bactéries Gram	36
2. Etude des souches de bactéries testées	37
2.1. Bactéries Gram.....	37
2.1.1. Escherichia Coli	37
2.1.3. Pseudomonas aeruginosa.....	38
2.2.1. Staphylocoque aureus.....	39
3.1. Anti-microbiens et antibiotiques	40
3.3. Détermination de la sensibilité d'une bactérie.....	40
3.3.1. Concentration minimale inhibitrice	40
3.3.2. Catégorisation clinique d'une souche bactérienne.....	40
3.3.3. Concentration minimale bactéricide	42
3.4. Mécanismes de résistance	42
3.4.1. Résistance intrinsèque et acquise.....	42
3.4.2. Types de mécanismes de résistances	43
3.4.2.1. Inactivation enzymatique de l'antibiotique.....	43
3.4.2.2. Modification ou remplacement de la cible de l'antibiotique	44

3.4.2.3. Pompes à efflus	44
3.4.2.4. Perméabilité réduite.....	45
3.4.2.5. Protection de la cible de l'antibiotique	46
3.4.2.6. Piégeage de l'antibiotique	47
4.1. Méthode d'évaluation de l'activité antibactérienne	48
4.1.2. Technique en milieu liquide (technique de dilution	48
4.1. 2.1. Dilution en bouillon	49
4.1.2.2. Dilution en gélose.....	49
I. Matériel et méthode.	
1. Matériel	50
1.1. Micro-organismes testés	50
1.2. Milieux de culture utilisés	50
1.3. Les antibiotiques utilisés	50
1.4. Appareillage	50
2. Méthode	51
2.1. Examen cyto bactériologique des urines	51
2.1.1 Examen macroscopique.....	51
2.1.2. Examen microscopique du culot de centrifugation	52
2.1.3. Antibiogramme	49
II. Résultat et discussion	
1. Résultats des tests de vérification des souches bactériennes	51
2. Résultat des témoins par la méthode de diffusion sur gélose	51
2.1. Résultat des témoins positifs avec (l'antibiogramme).....	51
3. Résultats des tests de sensibilités des souches bactériennes à l'H. ES de <i>Syzygium aromaticum</i>	54

3.1. Résultat des témoins positifs avec (l'huile essentiel <i>Syzygiumaromaticum</i>)	54
Conclusion et perspectives	60
Références bibliographiques.....	61
Annexe	
Résumé	

Liste des abréviations

H .ES: l'huile essentielle.

VMHD : vacuummicrowave hydro distillation.

CMI : Concentration minimal inhibitrice.

EUCAST: Européens committé

Ph : Potentielhydrogène .

CMB : Concentration minimale bactéricide.

RCP : Résumé des caractéristiques des produits.

MLS :Macrolidelincosamidestreptogramine.

SARM : Staphilococcus aureus résistants a la methicilline .

PBP :Pinicilinbindingprotein .

SDR :Specifedrugresistance MDR :multiple –drug-resistance.

ABC :ATP –binding cassette.

ECBU : Etude cytobactériologique des urines.

UFC/ML : Unité formant colonie par millimètre.

AT P : Adénosine triphosphate.

DO : Densité optique.

ATB : Antibiotique.

O₂ : Oxygène molliculaire

Liste des figures

Figure 01 : Modes d'extraction des huiles essentielles	6
Figure 02 : Les étapes de l'obtention d'une huile essentielle	6
Figure 03 : Procédé d'hydrodistillation	8
Figure 04 : Entraînement à la vapeur d'eau	9
Figure 05 : Les différents types d'extraction par solvants volatils	10
Figure 06 : Extraction par micro- ondes et hydro distillation traditionnelle	11
Figure 07 : Structure de l'isoprène C ₅ H ₈	14
Figure 08 : Structure générale des terpènes	14
Figure 09 : Exemples de structures de mono- et sesquiterpènes	15
Figure 10 : Exemples de structures de composés dérivés du phénylpropane	16
Figure 11: Aire de culture de giroflier	27
Figure 12 : Le giroflier	29
Figure 13 : présentation de la fleur giroflier	29
Figure 14 : Clou de girofle	30
Figure 15 : Produits issus du giroflier	32
Figure 16 : Différentes morphologies des bactéries	34
Figure 17 : Schéma de la paroi des bactéries à Gram négatif	35
Figure 18 : Schéma de la paroi des bactéries à Gram positif	36
Figure 19 : L'Aromatogramme	46
Figure 20 : Schéma récapitulatif d'un examen cyto bactériologique des urines	49
Figure 21 : L'Antibiogramme	52
Figure 22 : Résultats du test de l'antibiogramme réalisé avec les six souches bactériennes ...	53
Figure 23 : Représentation graphique du test de sensibilité des souches bactériennes vis-à-vis Des six antibiotiques	54
Figure 24 : Effet de l'huile essentielle de clou de girofle sur les six souches bactériennes testées	56
Figure 25 : Représentation graphique du test de sensibilité des souches bactériennes vis-à-vis de l'huile essentielle	57

Liste des tableaux

Tableau 01 : Organes de certaines plantes riches en huiles essentielles	4
Tableau 02 : Classification systématique des clous de girofle.....	28
Tableau 03 : Tableau descriptif des différents types de bactéries utilisées en pathologies humaines	48
Tableau 04 : Caractères morphologiques étudiés pour la vérification des souches bactériennes	53
Tableau05 : Tableau récapitulatif des résultats du test de sensibilité des souches bactériennes à l'huile essentielle	56

L'homme s'est depuis toujours servi des plantes, il y a 200 ans encore, les moyens thérapeutiques naturels étaient les seuls remèdes dont disposait l'humanité. Les plantes médicinales comme les autres remèdes thérapeutiques et l'étiologie ont toujours été intégrés à la culture d'une époque, ou d'une civilisation donnée: l'histoire officielle de la phytothérapie prend ses racines il y a plusieurs millénaires.

Si on définit la phytothérapie d'un point de vue étymologique, le terme "phyto" provient du grec ancien avec le terme plus précis "phyton" et signifie "végétal". La phytothérapie est donc la "thérapie par le végétal dans un but préventif ou curatif - mais également esthétique.

Différentes plantes aromatiques sont caractérisées par la biosynthèse de molécules odorantes qui constituent ce qu'on appelle les huiles essentielles (HE) connues depuis longtemps pour leur activité antiseptique et thérapeutique dans la médecine populaire. La composition chimique des HE est assez complexe, les composés terpéniques et aromatiques représentant les principaux constituants. On y trouve également, et en faibles concentrations des acides organiques, des cétones et des coumarines volatiles. La nature de la fonction chimique du composé majoritaire (phénol, alcool, aldéhyde, cétone...) joue un rôle prépondérant dans l'efficacité de leurs activités biologiques.

Ainsi, les individus de cette famille possèdent des phénols constitués d'hydrates de carbone aromatiques. Ce type de phénol donne des propriétés antiseptiques à la plante afin de se défendre contre les infections bactériennes. De plus, la forme aromatique concède des odeurs et des goûts particuliers aux Lamiacées, l'une des raisons pour laquelle ces plantes sont souvent utilisées comme épice dans les cuisines. Elles sont très accessibles à la population générale, donc de production abordable pour les communautés locales. Un immense gisement de molécules actives d'origine végétale se retrouve dans la nature; dans le monde entier, on continue aujourd'hui à rechercher ces plantes susceptibles d'être utilisées comme base de nouveaux traitements ouvrant des perspectives extrêmement prometteuses pour l'industrie du médicament.

1. Introduction

Depuis les temps les plus reculés, le monde végétal offre les éléments nécessaires à la survie de l'espèce humaine. En effet, les plantes demeurent la principale source de principes actifs dont le rôle et l'utilisation sont très variés.

Avant d'entamer l'étude chimique et biologique de l'huile essentielle du clou de girofle, il nous est apparu nécessaire de présenter dans ce premier chapitre un rappel bibliographique sur les huiles essentielles (**EL ABED., KAMBOUCHE, 2003**).

2. Définition

Les huiles essentielles ou essences végétales sont des produits huileux, volatils, odorants et incolores ou légèrement teintés, obtenus par distillation à la vapeur d'eau, par expression, par incision ou par enfleurage du matériel végétal(**BUDAVARI et O'NEI, 1996**).

Ces essences végétales sont largement distribuées dans le règne végétal et n'existent que chez les végétaux supérieurs. En effet, elles se trouvent en quantité appréciable chez environ 2000 espèces réparties en 60 familles botaniques comme par exemple chez les Lamiacées (lavande, basilic, menthe,...), les Myrtacées (eucalyptus,...), les Lauracées(cannelle et sassafras),...et les Apiécées (coriandre, cumin, fenouil, persil,...) (**RICHTER , 1993**). Les huiles essentielles se trouvent dans tous les organes de la plante : racines, fruits, graines, fleurs, feuilles, écorces, bois, etc... Elles se forment dans des cellules spécialisées, le plus souvent, regroupées en canaux ou en poches sécréteurs et elles sont ensuite transportées dans les différentes parties de la plante, lors de la croissance de cette dernière (**BERNARD, 1988**).

Elles se différencient des huiles grasses, par leurs propriétés physiques et leur composition, du fait qu'elles se volatilisent à la chaleur et que leurs taches sur le papier sont passagères (**SALLE, 1991**). Elles se caractérisent par leurs propriétés organoleptiques (odeur, couleur et goût). A la température ambiante, elles sont généralement liquides de densité souvent inférieure à celle de l'eau. Elles sont incolores ou jaune pâle, sauf quelques exceptions comme les H.Es de la cannelle (orange), de l'absinthe (vert) ou de la camomille (bleu).

Leur indice de réfraction est élevé et le plus souvent elles sont douées de pouvoir rotatoire. On leur attribue différents indices chimiques (indice d'acide, d'ester, de carbonyle,...).

Elles sont peu solubles dans l'eau et solubles dans les solvants organiques (éther, alcool, hexane, pentane,...) (**BRUNETON , 1999**). Elles dissolvent les graisses, l'iode, le soufre, le phosphore et réduisent certains sels. En outre, elles s'oxydent et se polymérisent facilement. Pour éviter cela, il faut conserver à l'abri de la lumière et de l'air.

3. Répartition et localisation des huiles essentielles

On rencontre les huiles essentielles dans diverses familles botaniques elles se localisent dans toutes les parties vivantes de la plante et se forment dans le cytoplasme de cellules spécialisées.

3.1 Répartition dans le règne végétal

Parmi les espèces végétales, 800 000 à 1 500 000 espèces selon les botanistes, 10 % seulement sont dites aromatiques.

Les huiles essentielles n'existent quasiment que chez les végétaux supérieurs, elles sont presque exclusivement de l'embranchement des Spermaphytes.

Les genres qui sont capables de les élaborer sont rassemblés dans un nombre restreint de familles (**BENAZZEDDINE, 2010**) telles que les : Lamiacées (Labiées), Pinacées (Conifères), Rutacées, Myrtacées, Poacées, Apiacées (Ombellifères), Lauracées, Astéracées (Composées), Pipéracées et Cupressacées. Rutacées.

3.2 Localisation dans la plante

Dans les plantes, les huiles essentielles peuvent être stockées dans différents organes végétaux, variant en fonction de la zone productrice du végétal (**RAFI et al., 1995 ; LAMENDIN, 2004**): sommités fleuries (menthe, lavande), feuilles (eucalyptus, laurier), racines (vétiver), rhizomes(Gingembre), écorces (cannelier), bois, fruits (agrumes, badiane, anis), graines (muscades).(LAKHDAR, 2015).

Tableau 1 : Organes de certaines plantes riches en huiles essentielles (**GARNEAU, 2005**)

Organes	Exemples
Feuilles d'Angiospermes	Romarin, sauge, menthe
Feuille de Gymnospermes	Sapin, cèdre
Tiges	Citronnelle, lemongrass
Ecorces	Cannelier
Racines	Angelica, vetiver
Rhizomes	Acorus, gingembre
Bulbes	Oignon, ail
Bois	Santal
Fruits	Bleuet, citron
Fleurs	Jasmin, rose, jasmine
Graines	Aneth, carvi

4. Rôle des huiles essentielles dans la plante

Les essences constituent un moyen de défense contre les prédateurs en modulant les comportements de ceux-ci vis-à-vis des plantes. (**VERSCHAFFELT et TAHL , 1915**).

Les constituants des huiles essentielles sont considérés par Lutz comme des modérateurs des réactions d'oxydation intramoléculaire protégeant la plante contre les agents atmosphériques. Selon lui, certains de ces composés se comporteraient aussi comme source d'énergie à la suite d'une baisse de l'assimilation chlorophyllienne. (**LUTZ, 1940**).

Bousquet considère que certains de ces produits des composés intermédiaires du métabolisme et qu'il se trouverait à l'état libre durant certaines périodes en relation avec l'activité végétative de la plante. (**BOUSQUETT, 1972**).

Les travaux de Nicholas ont montré que les mono terpènes et sesquiterpènes peuvent jouer des rôles aussi variés qu'importants dans la relation des plantes avec leur environnement (**NICHOLAS, 1973**).

Bruneton estime que la volatilité et l'odeur marquée de ces essences en font des éléments de la communication chimique. **(BRUNETON, 1973)**.

Enfin, une mise au point de **CORTEAU** montre que les huiles volatiles auraient en réalité un rôle de mobilisateur d'énergie lumineuse et de régulateur thermique au profit de la plante. Elle régulerait la transpiration diurne en absorbant les rayons ultraviolets par leurs constituants insaturés. La présence et la teneur en huiles essentielles dans les plantes seraient donc en rapport avec la photochimie. **((NICHOLAS, 1973))**.

5. Propriétés physico-chimiques des huiles essentielles

On trouve généralement les huiles essentielles incolores ou jaune pâle à l'état liquide à température ordinaire. Toutes les huiles essentielles sont volatiles, odorantes et inflammables. Leur densité est le plus souvent inférieure à 1. De point d'ébullition toujours supérieur à 100°C. Elles sont peu solubles dans l'eau, solubles dans les alcools et dans la plupart des solvants organiques

Pour les propriétés chimiques, elles sont neutres, mais acquièrent peu à peu une acidité. Elles s'oxydent à la lumière et se résinifient en absorbant de l'oxygène en même temps que leur odeur modifie, leur point d'ébullition augmente, leur solubilité diminue. Les huiles essentielles absorbent le chlore, le brome, l'iode avec dégagement de chaleur. Elles peuvent se combiner à l'eau pour former des hydrates.

6. Les méthodes d'extraction des huiles essentielles

L'extraction des huiles essentielles de la matière végétale peut être réalisée au moyen de nombreux et divers procédés, basés sur des techniques anciennes : Distillation, Expression, Enfleurage ou Incision ou plus récentes : extraction sous irradiation micro-ondes ou par ultra-sons **(LUQUE DE CASTRO , 1999)**.

Le choix de la méthode la mieux adaptée se fait en fonction de la nature de la matière végétale à traiter, des caractéristiques physico-chimiques de l'essence à extraire, de l'usage de l'extrait et l'arôme du départ au cours de l'extraction.

La distillation reste la méthode la plus prisee du fait qu'elle est facile à mettre en œuvre. La figure 1 regroupe les différentes voies d'extraction des huiles essentielles.

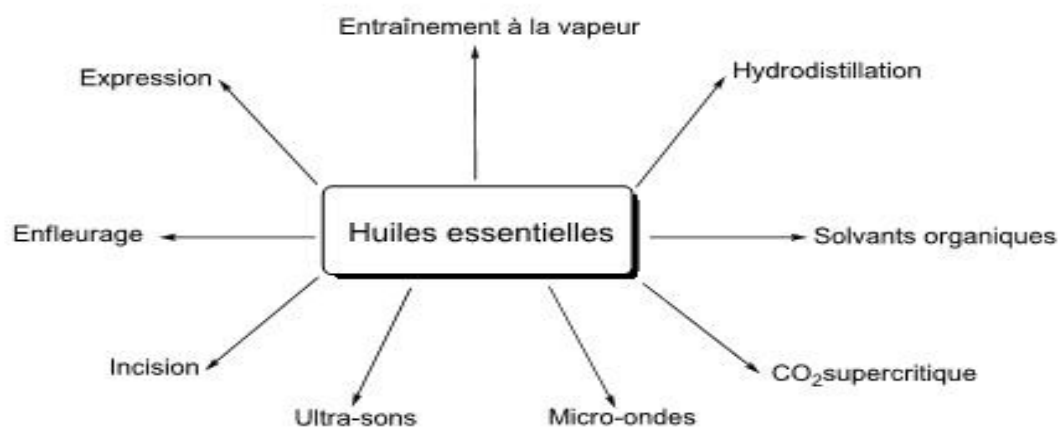


Figure 1 : Modes d'extraction des huiles essentielles (LUQUE DE CASTRO , 1999).

Les étapes de l'extraction des huiles essentielles d'origines végétales restent identiques quelque soit le type d'extraction utilisé. Il est nécessaire dans un premier temps d'extraire de la matière végétale les molécules aromatiques constituant l'huile essentielle, puis dans un second temps de séparer ces molécules du milieu par distillation comme cela est expliqué dans la (figure 2).

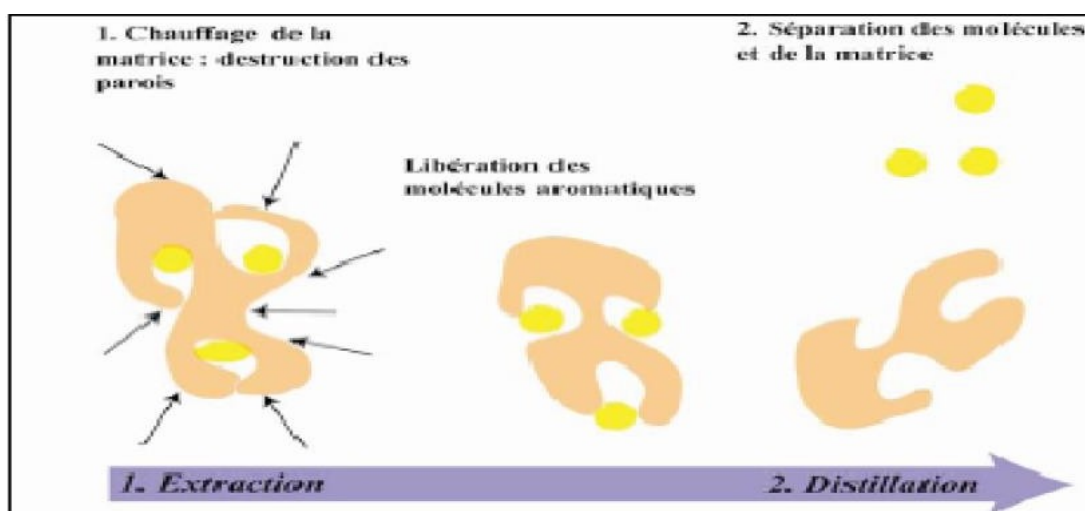


Figure 2 : Les étapes de l'obtention d'une huile essentielle (LUQUE DE CASTRO, 1999).

6.1. Distillation

6.1.1 Hydro distillation

C'est la technique la plus simple et la plus répandue. Elle consiste à immerger la matière première directement dans l'eau, puis l'ensemble est porté à ébullition. L'opération est généralement conduite à pression atmosphérique. Les vapeurs formées sont condensées par un système de réfrigération par courant d'eau.

Lors de la distillation des H.Es, plusieurs phénomènes sont à la base d'échanges de matière entre les phases solide, liquide et vapeur, d'où l'influence d'un grand nombre de paramètres sur la qualité et le rendement de la production de ces essences végétales (**HAJJI, 1985**).

Les expérimentations conduites jusqu'à épuisement du substrat en essence montrent que la durée de la distillation est plus longue pour les organes de plantes ligneuses que pour les herbacées. Cette différence est fortement liée à la localisation des systèmes d'élaboration ou de stockage des H.Es qui sont soit à la surface ou à l'intérieur des tissus de la plante. De ce fait, ces structures ont une influence sur le déroulement de l'hydro distillation, c'est-à-dire sur les mécanismes successifs mis en jeu, et par conséquent sur la durée de l'opération d'extraction.

Dans le cas où ces structures sont superficielles, la membrane externe ou la cuticule sont rapidement rompues lors de l'ébullition, les composés volatils sont immédiatement évaporés. Lorsque les H.Es sont sous-cutanées, elles doivent d'abord diffuser à travers l'épaisseur du tissu végétal avant d'entrer en contact avec l'eau ou sa vapeur pour qu'elles puissent s'évaporer comme dans les sécrétions superficielles.

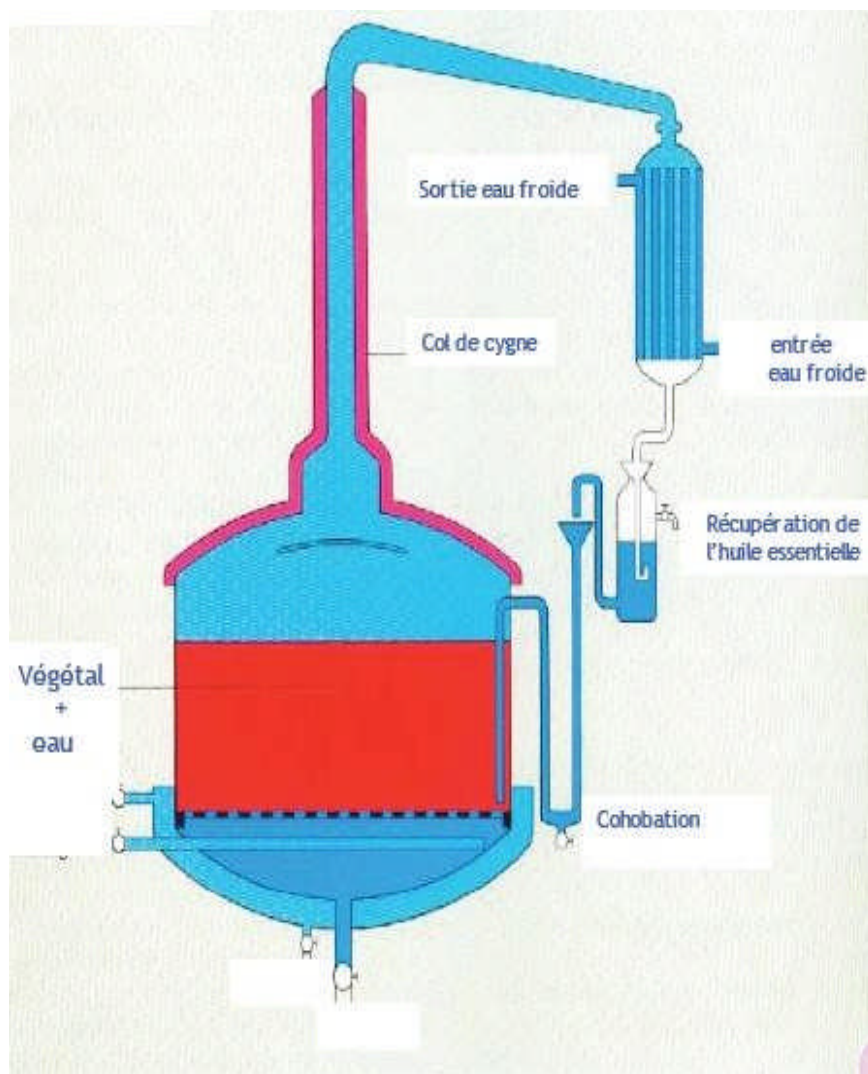


Figure 3 : Procédé d'hydro distillation (HAJJI , 1985).

6.1.2. Entraînement à la vapeur d'eau

Les méthodes d'extraction par l'entraînement à la vapeur d'eau sont basées sur le fait que la plupart des composés volatils contenus dans les végétaux sont entraînaables par la vapeur d'eau, du fait de leur point d'ébullition relativement bas et de leur caractère hydrophobe.

Sous l'action de la vapeur d'eau introduite ou formée dans l'extracteur, l'essence se libère du tissu végétal et entraînée par la vapeur d'eau (Figure 4). Le mélange de vapeurs est condensé sur une surface froide et l'huile essentielle se sépare par décantation.

En fonction de sa densité, elle peut être recueillie à deux niveaux:

- au niveau supérieur du distillat, si elle est plus légère que l'eau, ce qui est fréquent.
- au niveau inférieur, si elle est plus dense que l'eau.

Les principales variantes de l'extraction par l'entraînement à la vapeur d'eau sont l'hydro distillation, la distillation à vapeur saturée et l'hydro diffusion.

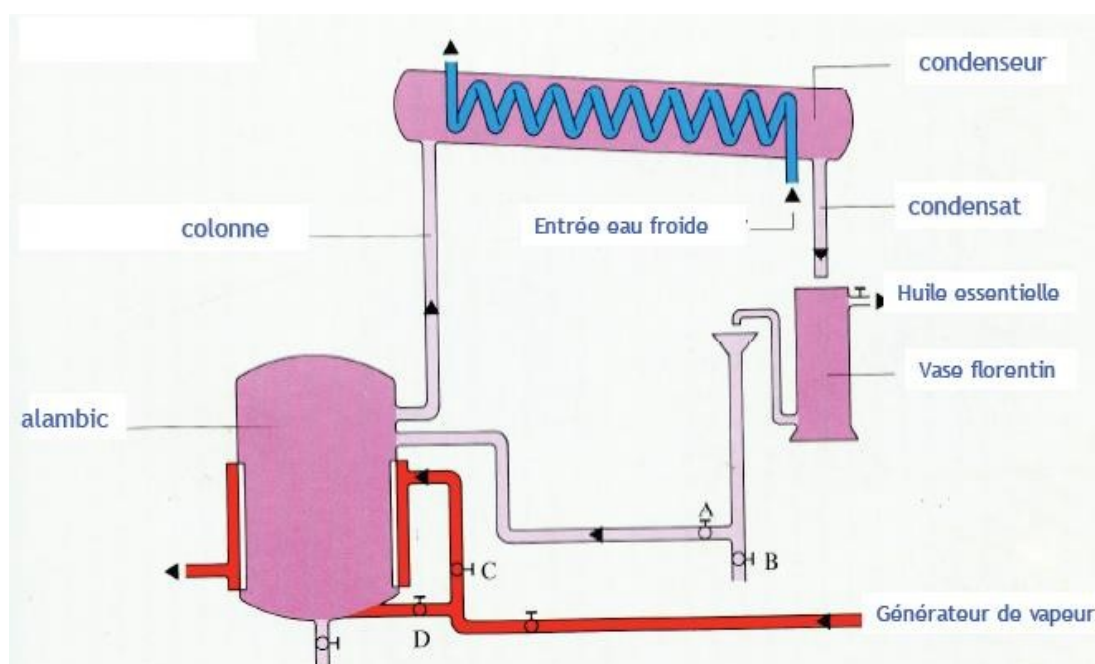


Figure 4 : Entraînement à la vapeur d'eau (HAJJI, 1985).

6.1.3. Distillation par les solvants organiques

Certaines huiles essentielles ont une densité voisine de l'eau et le procédé par distillation à la vapeur d'eau ne peut être dans ce cas utilisé. Le principe consiste à faire macérer la plante dans le solvant afin de faire passer les substances odorantes dans le solvant.

La méthode de cette extraction est basée sur le fait que les essences aromatiques sont solubles dans la plupart des solvants organiques. L'extraction se fait dans des extracteurs de construction variée, en continu, semi-continu ou en discontinu.

Le procédé consiste à épuiser le matériel végétal par un solvant à bas point d'ébullition qui par la suite, sera éliminé par distillation sous pression réduite. (figure 5)

L'évaporation du solvant donne un mélange odorant de consistance pâteuse dont l'huile est extraite par l'alcool. L'extraction par les solvants est très coûteuse à cause du prix de l'équipement et de la grande consommation des solvants.

Un autre désavantage de cette extraction par les solvants est leur manque de sélectivité; de ce fait, de nombreuses substances lipophiles (huiles fixes, phospholipides, caroténoïdes, cires, coumarines, etc.) peuvent se retrouver dans le mélange pâteux et imposer une purification ultérieure.

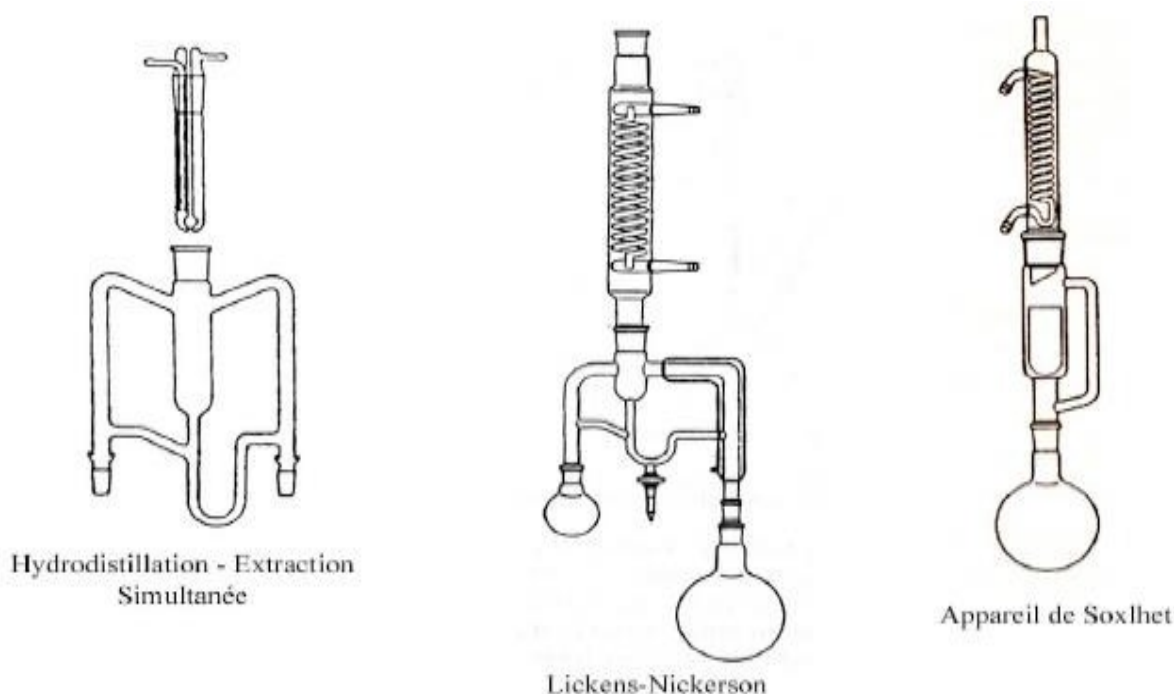


Figure5: Les différents types d'extraction par solvants volatils (PARE, 1994).

6.2. Distillation assistée par micro-ondes ou ultrasons

Ces techniques récentes offrent plusieurs avantages significatifs par rapport aux techniques classiques. En effet, elles nécessitent un volume moindre de solvant et un temps de chauffage réduit ce qui évite la perte et la dégradation des composés volatils et thermosensibles. Ainsi, elles conduisent à des rendements plus élevés (PARE, 1994).

6.2.1. Extraction par micro-ondes

Le procédé d'extraction par micro-ondes appelée (Vacuum Microwave Hydro Distillation)(VMHD) consiste à extraire l'huile essentielle à l'aide d'un rayonnement micro-ondes d'énergie constante et d'une séquence de mise sous vide. Seule l'eau de constitution de la matière végétale traitée entre dans le processus d'extraction des essences.

Sous l'effet conjugué du chauffage sélectif des micro-ondes et de la pression réduite de façon séquentielle dans l'enceinte de l'extraction (figure 6), l'eau de constitution de la matière végétale fraîche entre brutalement en ébullition.

Le contenu des cellules est donc plus aisément transféré vers l'extérieur du tissu biologique, et l'essence est alors mise en œuvre par la condensation, le refroidissement des vapeurs et puis la décantation des condensats. Cette technique présente les avantages suivants: rapidité, économie du temps d'énergie et d'eau, extrait dépourvu de solvant résiduel.

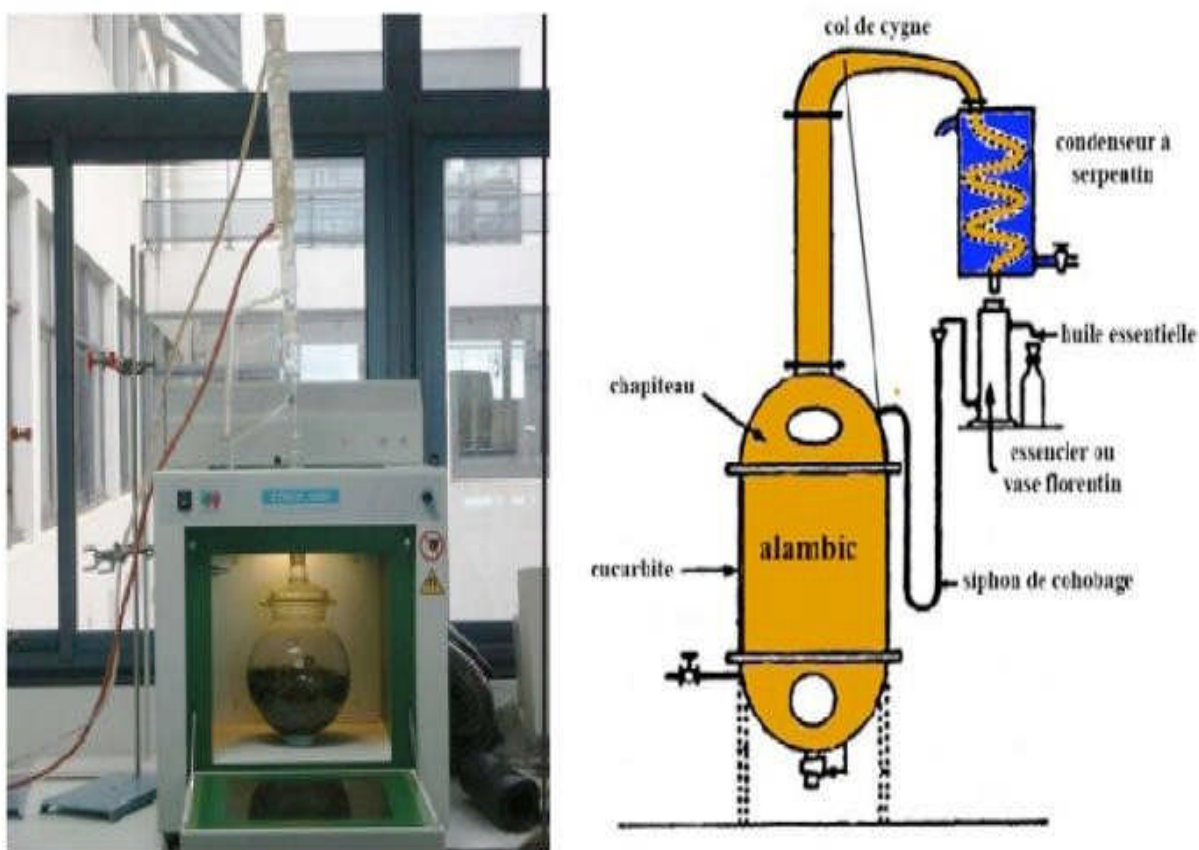


Figure 6 : Extraction par micro- ondes et hydro distillation traditionnelle (PARE, 1994).

6.2.2. Extraction par ultrasons

Le matériel végétal mis en contact avec le solvant (eau ou solvant organique) est immergé dans un bain à sonication maintenu à une agitation constante (KIMBARIS, 2006).

6.3. Extraction par les corps gras

La méthode d'extraction par les corps gras est utilisée en fleurage dans le traitement des parties fragiles de plantes telles que les fleurs, qui sont très sensibles à l'action de la température. Elle met à profit la lipo-solubilité des composants odorants des végétaux dans les corps gras.

Le principe consiste à mettre les fleurs en contact d'un corps gras pour le saturer en essence végétale. Le produit obtenu est une pommade florale qui est ensuite épuisée par un solvant qu'on élimine sous pression réduite.

Dans cette technique, on peut distinguer l'enfleurage où la saturation se fait par diffusion à la température ambiante des arômes vers le corps gras et la digestion qui se pratique à chaud, par immersion des organes végétaux dans le corps gras.

6.4. Enfleurage

L'enfleurage est une technique assez difficile. Elle date de l'antiquité égyptienne et est basée sur la forte affinité des molécules odorantes pour les graisses. Elle est réservée principalement aux organes fragiles que sont les fleurs (violette, tubéreuse, jasmin,...). Celles-ci sont étalées délicatement sur des plaques de verre enduites d'une mince couche de graisse et l'on superpose ces plaques sur des châssis de bois. Les substances volatiles diffusent et sont absorbées par la couche de graisse. Ensuite ces graisses sont épuisées à l'alcool. Ce procédé a tendance à disparaître car il nécessite une forte main-d'œuvre (SEU-SABERNO, 1984).

6.5. Expression

L'expression ou pression à froid est spécifique à l'extraction des huiles essentielles des agrumes : citrons, oranges, mandarines, etc... C'est une méthode assez simple qui consiste à briser mécaniquement par abrasion les poches à essence localisées au niveau de l'écorce ou du péricarpe du fruit pour en recueillir le contenu (WILLEM, 2004).

6.6. Incision

C'est une opération peu fréquente. Il suffit de fendre l'écorce des arbres pour en recueillir le suc comme par exemple le caoutchouc de l'arbre hévéa.

7. Composition chimique des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont composées uniquement de molécules aromatiques et volatiles et ne contiennent aucun corps gras, malgré leur appellation (**COUIC-MARINIER et LOBSTEIN, 2013**).

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

- dans une même plante selon l'organe distillé (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).

Une huile essentielle pure renferme plusieurs substances chimiques complexes. On retrouve plus d'un millier de composants chimiques dans les huiles essentielles.

Le nombre de molécules chimiquement différentes qui constituent une huile essentielle est variable. A côté des composés majoritaires, on retrouve des composés minoritaires et un certain nombre de constituants sous forme de traces, de masse moléculaire relativement faible, ce qui leur confère un caractère volatil et est à la base de leur propriété olfactive (**BENAZZEDDINE, 2010**).

Les H.Es sont un mélange de constituants qui appartiennent à trois catégories de composés : terpéniques, aromatiques et variés.

7.1. Terpènes

Les terpènes sont des hydrocarbures formés par assemblage de deux ou plusieurs unités isopréniques. Ce sont des polymères de l'isoprène de formule brute $(C_5H_8)_n$.



Figure 7 : Structure de l'isoprène C₅H₈ (BENZAZZEDDINE, 2010).

Selon le nombre d'unités associées, on distingue : les mono- en (C 10); les sesqui- en (C 15); les di- en (C 20) ; les tri- en (C 30); les tétraterpènes en (C 40) et les polyterpènes.

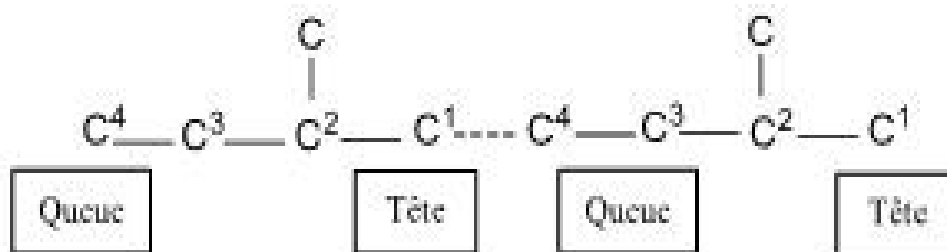


Figure 8 : Structure générale des terpènes (DALE POULTER, 1977).

Ces unités peuvent se lier entre elles par des liaisons dites irrégulières de type artémésyl, santolinyl, lavandulyl et chrysanthémyl (DALE POULTER, 1977).

Les huiles essentielles contiennent particulièrement des monoterpènes, des sesquiterpènes et peu souvent de diterpènes (FINAR, 1994).

Les terpènes sont de structures très diverses (acycliques, monocycliques, bicycliques,...) et contiennent la plupart des fonctions chimiques des matières organiques. A titre indicatif, quelques structures de monoterpènes et de sesquiterpènes sont représentées sur la figure 8.

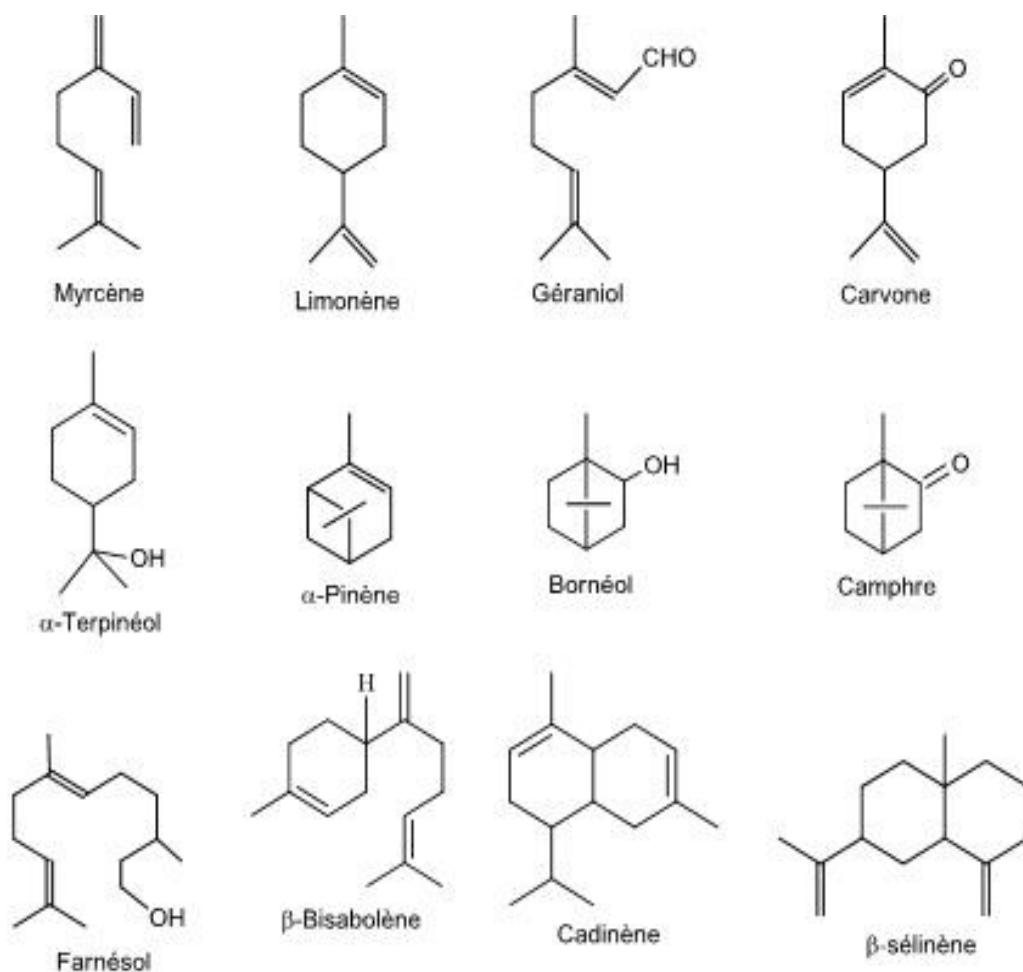


Figure 9 : Exemples de structures de mono- et sesquiterpènes **FINAR,1994**).

7.2. Composés aromatiques

Les composés aromatiques dérivent du phénylpropane (C₆-C₃). Ils sont moins fréquents que les terpènes. Cette classe comprend des composés odorants comme la vanilline, l'eugénol, l'anéthole, l'estragole,...(Figure 9). Ils sont fréquemment rencontrés dans les H.Es d'Apiaceae (anis, fenouil, persil, etc...) et sont caractéristiques de celles de la vanille, de l'estragon, du basilic, du clou de girofle,... Ils se distinguent entre eux par :

- Le nombre et la position des groupements hydroxyle et méthoxy;
- La position de la double liaison de la chaîne latérale, allylique ou propénylique;
- Le degré d'oxydation de la chaîne aliphatique (alcool, aldéhyde, cétone ou acide...).

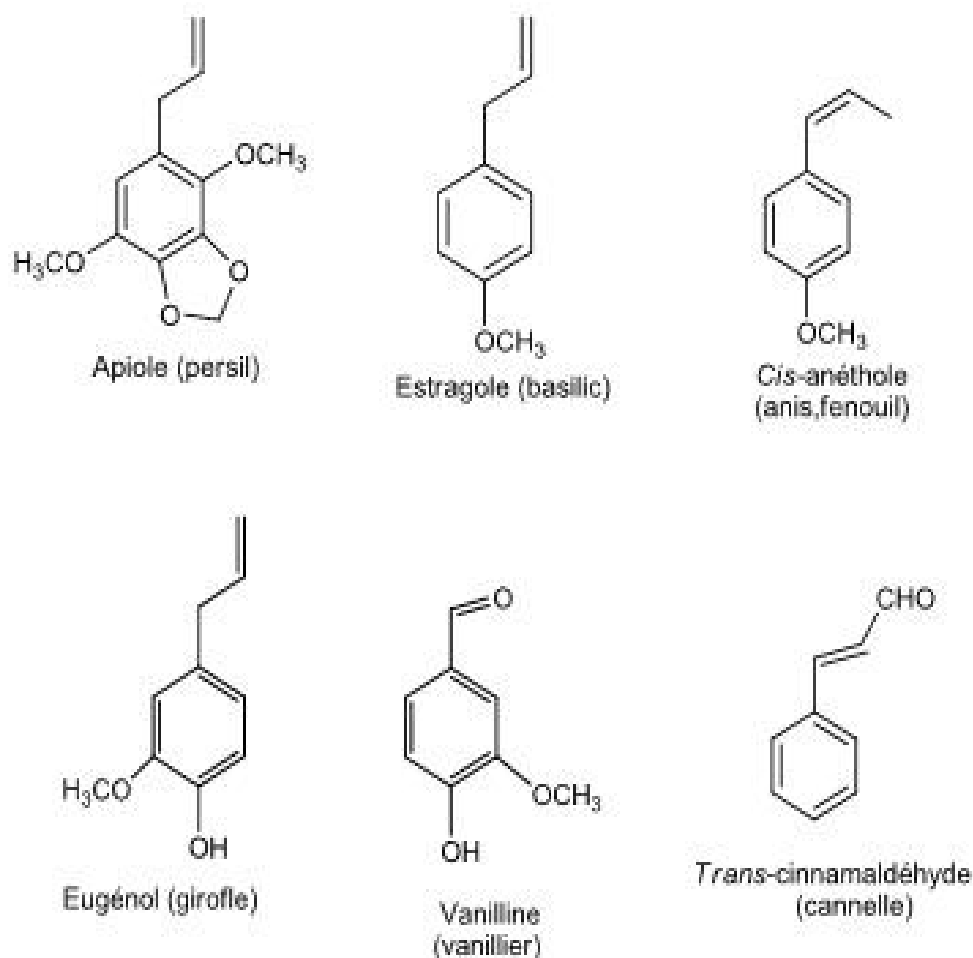


Figure 10 : Exemples de structures de composés dérivés du phénylpropane (BRUNTON, 1999).

7.3. Composés d'origines diverses

Certains composés aliphatiques de faible poids moléculaire sont entraînés lors de l'hydro distillation des huiles essentielles à savoir les carbures, acides, alcools, aldéhydes, esters.

En général, les composés d'origine variée de faible masse moléculaire, entraînaient lors de l'hydro distillation, sont des hydrocarbures aliphatiques à chaîne linéaire ou ramifiée porteurs de différentes fonctions. A titre indicatif, on peut citer :

- L'heptane et la paraffine dans l'essence de camomille;
- Des acides en C 3 et C 10;

- Des esters acycliques présents surtout dans les fruits : acétate de butyle (pomme), acétate d'isoamyle (banane);
- Des aldéhydes comme l'octanal et le décane des Citrus;
- Des alcools comme le 1-octène-3-ol de l'essence de lavande,...

8. Les chémotypes

Au sein d'une même espèce de plante, la composition de l'huile essentielle des divers individus peut présenter des profils chimiques ou chémotypes différents. L'exemple le plus marquant est celui de l'espèce sauvage *Thymus vulgaris* présente dans le sud de la France. Il existe en effet six chémotypes différents pour cette seule espèce. Ces différences sont au niveau de la nature du monoterpène majoritaire de l'huile essentielle qui peut être soit le géraniol, l' α -terpinéol, le thuyanol-4, le linalool, le carvacrol ou le thymol (**TOMPSON *et al.*, 2003**). Ce polymorphisme chimique existe aussi pour bien d'autres espèces: *Origanum vulgare* (**MOCKUTEETAL *et al.*, 2001**), *Mentha spicata* (**EDRIS *et al.*, 2003**) en sont des exemples. Il est important de noter que des huiles essentielles à chémotypes différents présenteront non seulement des activités différentes mais aussi des toxicités très variables. Ainsi, la méconnaissance des chémotypes peut parfois être à l'origine d'accidents graves. L'absinthisme (intoxication à l'absinthe) en est un exemple frappant: l'*Artemisia absinthium* qui était récolté dans la région parisienne dans le but de confectionner le fameux apéritif contenait l' α -thujone, molécule fortement neurotoxique, comme composé majoritaire à 45%, alors que celle présente dans les régions alpines (d'où, d'ailleurs, la boisson est originaire) ne présentait qu'un taux de 3% en α -thujone. L'alcool préparé avec cette dernière était sans danger pour l'organisme (**FRANCHOME *et al.*, 1990**).

9. Les facteurs influençant la composition chimique

Il existe beaucoup de facteurs externes pouvant influencer la composition chimique de l'huile essentielle. La température, le taux d'humidité, la durée d'ensoleillement, la composition du sol sont autant de facteurs d'ordre environnemental susceptibles d'exercer des modifications chimiques. Chez la *Mentha piperita* par exemple, les nuits froides favorisent la formation de menthol alors que les nuits tempérées favorisent celle du menthofuranne (**BRUNETON, 1999**).

Les études portant sur la variation de la composition chimique des huiles en fonction du cycle circadien et des saisons nombreuses (**ASSAD *et al.*, 1997, LOPES *et al.*, 1997**).

L'heure de la récolte du matériel végétal ainsi que le moment dans l'année sont en effet des facteurs importants. À titre d'exemple, il a été démontré que, la composition de l'huile essentielle de feuilles d'*Ocimum gratissimum*, varie considérablement en fonction de l'heure de la récolte (Tableau 1) (VASCONCELOS *et al.*, 1999).

Outre la composition, ces facteurs peuvent également avoir un impact sur la teneur en huile essentielle. Les Citrus par exemple ont une teneur plus importante en huile essentielle lorsque la température est élevée (BRUNETON, 1999). Les fleurs de *Chrysanthemum coronarium* sont plus riches en huile essentielle sous l'effet de fertilisants (ALVAREZ-CASTELLANOS *et al.*, 2003).

10. Activités biologiques des huiles essentielles

10.1. Activité anti-infectieuse

10.1.1. Activité antibactérienne

Il s'agit du domaine le plus étudié, car cette propriété des huiles essentielles est la seule vraiment bien connue et régulièrement utilisée. La capacité des huiles essentielles à neutraliser les bactéries est aujourd'hui indiscutée. Les travaux expérimentaux de Chamberland en France, de Cadiac et Meunier, de Gattefossé ont permis de publier des résultats dans ce sens. Le Dr Jean Valnet, grâce à ses études, a permis de développer d'avantage la technique anti infectieuse.

Les huiles essentielles ont un spectre plus ou moins large en fonction de leur tropisme dans le corps humain. Elles ont une action sur les bactéries Gram +, Gram – et les entérocoques.

La connaissance des molécules porteuses de l'activité antibactérienne est de première importance. Elles appartiennent, entre autre, au groupe des phénols. Les molécules possédant le coefficient antibactérien le plus élevé sont : le carvacrol, le thymol et l'eugénol. Par exemple, dans l'huile essentielle de sarriette des montagnes, *Satureja montana*, le carvacrol est la molécule agissante. L'aldéhyde cinnamique possède une activité anti infectieuse égale à celle des phénols. Les alcools à dix atomes de carbone (géraniol, linalol, terpinéol, menthol...) ont un large spectre antibactérien. De nombreuses autres molécules comme les aldéhydes (néral, citral), les cétones

(bornéone du camphre), les éthers, les oxydes, les phtalides et les terpènes ont des activités antibactériennes non négligeables. (FRANCHOMME et PENOEL , 1990).

D'autres chercheurs de l'Université d'Esparta en Turquie se sont intéressé au potentiel antibactérien d'hydrolats issus d'épices abondamment utilisées en alimentation pour aromatiser Ses préparations culinaires (SAGDIC *et al.*,2003). Plusieurs hydrolats d'épices de Turquie ont été testés tels que ceux de romarin (*Rosmarinus officinalis*L.), de basilic (*Ocimum basilicum*L.), d'origan (*Origanum vulgare*L.) ou encore d'anis (*Pimpinella anisum*L.). L'étude a été réalisée sur plusieurs bactéries pathogènes (*Escherchia coli* ATCC 25922, *Salmonella Enteritidis*, *Staphilococcus Aureus* ATCC 2392, etc.). Les hydrolats d'origan et de sarriette ont montré une activité bactériostatique très intéressant. Les hydrolats de thym « noir » (*Thymus braspicata*L.), de cumin (*Cuminum cyminum* L) puis d'anis (*Pimpinella anisum*L.) ont également montré une activité intéressante contre certaines bactéries. La forte activité bactériostatique des hydrolats de sarriette et d'origan est due à la présence de carvacrol et de thymol, qui comme vu précédemment, sont deux phénols mono terpéniques connus pour leur activité antibactérienne (FARAG *et al.*,1989 ;DEANS, 1990).

10.1.2. Activité antifongique

Les groupes moléculaires, cités en priorité pour leur action antibactérienne, se révèlent également actifs sur les champignons. Les huiles essentielles ont une activité au niveau cutanée sur les mycoses mais également en usage interne sur les muqueuses. Elles sont actives sur les levures, les dermatophytes et les filamenteux. On peut citer quelques exemples de champignons comme *Trichophyton*, *Candida*, *Microsporum* ou *Epidermophyton*. Le traitement sera de plus longue durée que pour un usage antibactérien. (PHYTOPREVENT ,2004).

10.1.3. Activité antivirale

Les huiles essentielles sont très intéressantes pour traiter les troubles d'origine virale. Des molécules appartenant à de nombreuses familles chimiques ont révélés in vitro leur activité antivirale : monoterpénols, monoterpénal, etc. Les huiles essentielles issues des Myrtacées (le coupe cinéole-monoterpénol) sont connus pour le traitement des infections respiratoires.

Les cétones, les aldéhydes et les éthers ont également des activités intéressantes en virologie.

Les virus sont souvent très sensibles aux molécules aromatiques et certaines pathologies virales comme la bronchite, l'angine, le zona, la rhinopharyngite et la grippe sont susceptible d'être nettement améliorées grâce à elles. Des études ont démontrées que les cellules saines des patients soumis aux traitements aromatiques semblent acquérir une résistance particulière vis-à-vis de la pénétration virale. **(BELAICHE ,1979 ; LECLERC ,1918).**

10.1.4. Activité antiseptique

On peut noter dans ce cas l'activité désinfectante atmosphérique des terpènes ainsi que l'utilisation de l'huile essentielle d'Eucalyptus radié, *Eucalyptus Radiata*, pour l'assainissement de l'air des habitations. Cette utilisation est très répandue.

10.1.5. Activité antiparasitaire

Comme c'est le cas dans la lutte contre les bactéries, le groupe des phénols possède une action puissante contre les parasites. Les vers oxyures, ascaris et taenias sont sensibles à certaines huiles essentielles comme celle du thym vulgaire, *Thymus Vulgaris*(**CARILLON , 1987**).

Les alcools monoterpéniques, certains oxydes (ascaridol dans le Boldo, *Boldeafragrans*) et les cétones ont des activités antiparasitaires.

10.2. Activité insectifuge et insecticide

Une dizaine d'HEs. Sont répertoriées comme ayant des activités insecticides ou insectifuges sur les moustiques et autres insectes. On peut citer le citronnellal de l'Eucalyptus citronné, *Eucalyptus citriodora*, et de la citronnelle de Ceylan, *Cymbopogonnardus*, le camphre du bois de camphrier, *Cinnamomumcamphora*, et les citrals de la bergamote, *Citrus bergamia*(**SHIRNER , 2004**).

10.3. Activité anti inflammatoire et anti histaminique

Les molécules aromatiques sont susceptibles d'agir de différentes manières sur l'inflammation. Les aldéhydes sont utiles par voie externe, ils interviennent par

action hyperémiane en favorisant les défenses anti-inflammatoires naturelles de l'homme. Le chamazulène et le bisabolol de la Matricaire, *Chamomilla recutita*, possèdent des vertus anti-inflammatoires. Les mécanismes d'action ne sont pas toujours élucidés, le chamazulène inhiberait la synthèse de leucotriènes qui sont des facteurs de l'inflammation et bloquerait la peroxydation de l'acide arachidonique. Les acides sont également des anti-inflammatoires puissants mais sont souvent des composants minoritaires dans les huiles essentielles.

Par voie interne, les aldéhydes comme les citrals (*Bergamote*, *Citrus bergamia*), le citronnellal (*Citronnelle de Ceylan*, *Cymbopogon nardus*, *Eucalyptus globuleux*, *Eucalyptus globulus*) et le cuminal sont doués de propriétés immunomodulantes secondairement actives dans la lutte contre les états inflammatoires.

Le chamazulène (*Matricaire*, *Chamomilla recutita*) et le dihydrochamazulène possèdent des propriétés antihistaminiques, ils sont utiles dans certaines formes d'allergie (asthme). (BAUDOUX D., 2001).

10.4. Activité immuno-régulatrice

Les composés aromatiques ont montré une action sur le système immunitaire, la complexité de cette activité ne permet pas de le résumer ici. Les alcools mono- et sesquiterpéniques présents dans les huiles essentielles de l'Origan, *Origanum heracleoticum*, et le Ravintsara, *Cinnamomum camphora*, seraient immunostimulants. (BAUDOUX, 2003).

10.5. Activité anti-oxydante

Le pouvoir antioxydant de ces huiles est développé comme substitut dans la conservation alimentaire. Ce sont surtout les phénols et les polyphénols qui sont responsables de ce pouvoir (RICHARD, 1992).

Lorsque l'on parle d'activité anti-oxydante, on distingue deux sortes selon le niveau de leur action : une activité primaire et une activité préventive (indirecte). Les composés qui ont une activité primaire sont interrompus dans la chaîne auto catalytique de l'oxydation (MULTON, 2002). En revanche, les composés qui ont une activité préventive sont capables de retarder l'oxydation par des mécanismes indirects tels que la complexation des ions métalliques ou la réduction d'oxygène... etc (MADHAVI *et al.*, 1996).

Des études de l'équipe constituant le Laboratoire de Recherche en Sciences Appliquées à l'Alimentation, ont montré que l'incorporation des huiles essentielles directement dans les aliments (viandes hachées, légumes hachés, purées de fruit, yaourts.) ou l'application par vaporisation en surface de l'aliment (pièce de viande, charcuterie, poulet, fruits et légumes entiers.) contribuent à préserver l'aliment des phénomènes d'oxydation (**CAILLET et LACROIX, 2007**).

11. Conservation des H. ES.

La conservation des huiles essentielles nécessite de respecter obligatoirement certaines règles

- Les huiles essentielles se conservent bien à condition de ne pas les exposer à la lumière, c'est pourquoi il est recommandé de les stocker dans des flacons en verre ambre ou foncé.
- Il faut les tenir loin des sources de chaleur.
- L'espace d'air dans un bocal favorise leur oxydation, c'est pour cela qu'on préfère plusieurs petits contenants lors de l'embouteillage et l'achat.
- Il faut bien refermer les flacons après usage, car les huiles essentielles sont volatiles, par conséquent elles s'évaporent dans l'atmosphère et perdent progressivement leurs propriétés et leur arôme.
- Les flacons doivent être stockés en position verticale, car en position horizontale il y a un risque que le bouchon soit attaqué par l'huile (les huiles essentielles ont une action corrosive sur le plastique).

Dans ces conditions, les huiles essentielles se conservent plusieurs années, elles ont même tendance à se bonifier avec le temps, à l'exception des huiles essentielles extraites des zestes d'agrumes qui ne se conservent pas plus de deux ans (**BAUDOUX, 2002 ; ABADLIA et CHEBBOUR, 2014**).

L'addition de groupements alkyls au noyau benzène du phénol augmente le caractère antifongique. Par conséquent, un certain degré d'hydrophobicité des composés phénoliques ou aldéhydes aromatiques paraît donc requis pour exprimer une caractéristique antifongique optimale. L'activité des terpènes des huiles essentielles est en corrélation avec leur fonction chimique.

12. Toxicité des H. ES.

Les H.Es sont des substances puissantes et très actives. Elles représentent une source inépuisable de remèdes naturels. Néanmoins, il est important de souligner que l'automédication fréquente et abusive surtout en ce qui concerne le dosage ainsi que le mode d'application interne ou externe par les essences est nocive. Elle engendre des effets secondaires plus ou moins néfastes dans l'organisme (allergies, coma, épilepsie, etc...) principalement chez les populations sensibles (enfants, femmes enceintes et allaitantes, personnes âgées ou allergiques) (**DEGRYS , 2008**).

L'accumulation des essences dans l'organisme par des prises répétées peut conduire à des nausées, des céphalées,...L'ingestion de plus de 10 ml d'huile essentielle est neurotoxique et épiléptogène par inhibition de l'apport d'oxygène au niveau des tissus encéphaliques (**BAUDOUX, 1997**).

13. Principaux domaines d'application

En raison de leurs diverses propriétés, les H.Es sont devenues une matière d'importance économique considérable avec un marché en constante croissance. En effet, elles sont commercialisées et présentent un grand intérêt dans divers secteurs industriels comme en pharmacie par leurs pouvoirs antiseptique, analgésique, antispasmodique, apéritif, antidiabétique..., en alimentation par leur activité anti-oxydante et leur effet aromatisant, en parfumerie et en cosmétique par leur propriété odoriférante.

13.1. Aromathérapie

L'aromathérapie est une forme de médecine alternative dans laquelle les H.Es ont une grande importance car elles induisent de nombreux effets curatifs. Ainsi elles s'utilisent de plus en plus dans diverses spécialités médicales telles que : la podologie, l'acupuncture, la masso-kinésithérapie, l'ostéopathie, la rhumatologie ainsi que dans l'esthétique (**SALLE J. L. ,1991**).

13.2. Agro-alimentaire

En vertu de leurs propriétés antiseptiques et aromatisants, les H.Es sont employées quotidiennement dans les préparations culinaires (ail, laurier, thym,...). Elles sont également très prisées en liquoristerie (boissons anisées, kümmel) et en confiserie (bonbons,

chocolat,...). Leur pouvoir antioxydant leur permet de conserver les aliments en évitant les moisissures, conservation du smen par exemple par le thym et le romarin (**BENJILALI ,1990**).

13.3. Cosmétologie et parfumerie

Les H.Es sont recherchées dans l'industrie des parfums et des cosmétiques en raison de leurs propriétés odoriférantes. L'industrie de la parfumerie consomme d'importants tonnages d'essences (60%) en particulier celles de rose, de jasmin, de violette, de verveine,... Les H.Es sont aussi consommées en cosmétologie pour parfumer les produits cosmétiques : les dentifrices, les shampoings, les crèmes solaires, les rouges à lèvres, les savons, etc ...(**SEU-SABERNO, 1984**).

Les produits d'hygiène, détergents et lessives par exemple, consomment eux aussi beaucoup d'H.Es pour masquer les odeurs (souvent peu agréables) des produits purs.

13.4. Pharmacie

Les essences issues des plantes sont utilisées en grande partie dans la préparation d'infusion (menthe, verveine, thym,...) et sous la forme de préparations galéniques (**SALLE ,1991**). Plus de 40% de médicaments sont à base de composants actifs de plantes, par exemple la gastralgine est un digestif anti-acide qui se compose d'H.E de carvi (**PHARMACOPEE EUROPEENNE, 1999**).

De même, elles permettent par leurs propriétés aromatisantes de masquer l'odeur désagréable de médicaments absorbés par voie orale. Aussi beaucoup de médicaments vendus en pharmacie sont à base d'H.Es comme par exemple les collyres, les crèmes, les élixirs,... (**RICHARD, 1999**).

1. Etude botanique de la plante

La famille des myrtacées (*Myrtaceae* Juss.) regroupe des plantes dicotylédones ; elle comprend environ trois mille espèces d'arbres et d'arbustes, réparties en 48 à 134 genres. Ce sont souvent des producteurs d'huiles aromatiques. On les rencontre dans des zones tempérées, sub-tropicales à tropicales, mais ils poussent principalement en Australie et en Amérique tropicale.

Beaucoup d'espèces appartenant à cette famille sont une source d'huiles essentielles pour la parfumerie ou pour l'usage thérapeutique. On rencontre aussi des espèces dont les fruits sont comestibles (genres *Feijoa*, *Eugenia*, *Campomanesia*). Il existe aussi une espèce de figuier étrangleur en Nouvelle-Zélande (*Metrosideros robusta*). Le clou de girofle fait partie de cette famille.

1.1. Répartition géographique

Originaire de Madagascar, la Réunion, les Antilles, le giroflier est également cultivé en Indonésie et en Tanzanie. Les clous de girofle américains sont réputés être de qualité inférieure à cause de leur plus faible teneur en huile essentielle. (ALICE, 2011)

La superficie couverte par les girofliers à Madagascar s'élève à environ 37 000 hectares, superficie variant sensiblement d'une année à l'autre.

Les tonnes produites et la superficie couverte par les girofliers dans chaque zone productrice sont résumées dans la figure 11.



Figure11: Aire de culture de giroflier à Madagascar superficie et production productrice des zones Superficie et production des zones productrices

1.2. Culture

Le giroflier est surtout cultivé pour ses "clous" qui servent d'aromates dans l'alimentation d'un grand nombre du pays. On cultive également le giroflier pour ses feuilles dont on extrait une essence très riche en eugénol. Accessoirement, on utilise les fruits de giroflier ou antofles pour la confiserie.

L'eugénol sert à fabriquer la vanilline artificielle. Les essences des clous de girofle, des feuilles, de branches et d'antofles servent également en pharmacie pour la préparation de divers médicaments, en parfumerie, en savonnerie, pour la préparation de pâtes dentifrices, pour la préparation de certaines peintures et vernis, en chirurgie (propriétés bactéricides et anesthésiant), en droguerie.

1.3. Classification systématique

Le tableau 2 représente la classification du giroflier selon **L. Merrill & Perry**.

Tableau 2 : Classification systématique des clous de girofle (AFLATUNI, 2005).

Sous royaume	Trachéophytes
Embranchement	Spermatophytes
Sous embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Famille	Myrtaceae
Genre	<i>Syzygium</i>
Espèce	<i>Syzygium aromaticum</i>

1.4. Description botanique

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 11). Il présente un port érigé et pyramidal (**DAVET et ROUXEL, 1997**). Son feuillage est aromatique, coriace, persistant vert sombre et vernissé au revers plus clair. Ses feuilles sont opposées, entières, elliptiques, d'environ 10-12 cm à nervure médiane marquée et parsemées de glandes sur le revers.



Figure 12 : Le géroflie (DAVET et ROUXEL , 1997).

Les fleurs sont disposées en cymes terminales (figure 12) de 25 fleurs environ, formant 3 fourches (figure 13). 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 13: Présentation de la fleur girofler (RAKOTOATIMANA *et al.*, 1999).

Ce sont les boutons floraux cueillis avant épanouissement que l'on appelle les clous de girofle et l'huile essentielle qui est utilisés pour leurs vertus thérapeutiques ; Les fruits du girofler sont des baies pourpres comestibles. (RAKOTOATIMANA *et al.*, 1999).

La récolte des clous de girofle se fait au moment où ils contiennent le plus d'essence (lorsqu'ils sont roses et les pétales pas encore ouverts). Ces clous sont récoltés, après 6 à 8 ans de culture de l'arbre, 2 fois par an. Ce sont des boutons auxquels on ôte le pédicelle manuellement et que l'on met sécher au soleil jusqu'à ce qu'ils deviennent brun rouge. Boutons floraux appelés « clous ».

Les racines, les rameaux, les feuilles les fleurs et les fruits contiennent tous une H. Es. dont la composition diffère. Par exemple l'H. Es. des feuilles contient seulement 2 à 3 % d'eugénol. L'huile essentielle de girofle provient de la distillation des boutons de girofler traités à lavapeur (KOROCH, 2007).

Le clou de girofle (*Syzygium aromaticum*): Il s'agit des boutons floraux qui sont récoltés une à deux fois par an, avant l'épanouissement, lorsque les sépales deviennent rouge vif, on les sèche au soleil jusqu'à obtenir une coloration brune. (figure 14)



Figure14 : Clou de girofle (KOROCH , 2007)

Un clou de girofle de qualité supérieure, à l'état de matière première doit avoir les caractéristiques suivantes :

- Présence de la tête du clou (forme de dôme);
- Sec ;

- De grande taille ;
- Couleur rouge brune.

L'huile essentielle se présente sous la forme d'un liquide huileux de couleur jaune fonçant au brun à la lumière. Elle est obtenue par hydro distillation

L'huile essentielle des clous de girofle contient principalement de l'eugénol, de 75 à 85 % de l'acétate d'eugénol ,4 à10 % du β -caryophyllène, de 7 à 10 % et de faibles quantités d'autres produits (dont un peu de vanilline).

Le principe actif d'eugénol

L'eugénol est le composant principal de l'essence de clou de girofle, *Eugénol* ou 4-allyl-2- méthoxyphénol , liquide pratiquement incolore, brunissant à l'air à une formule brute $C_{10}H_{12}O_2$, est une molécule possédant un cycle aromatique, ce qui est caractéristique des composés d'origine naturelle. C'est pourquoi cette molécule peut être obtenue au moyen d'extraction à partir d'huile essentielle de clou de girofle.

2. Usage et propriétés thérapeutiques

Traditionnellement, les clous de girofle étaient utilisés pour le traitement des maux de dents, de la bouche, de la gorge, de l'inflammation de la muqueuse buccale et de la mauvaise haleine. En usage externe contre le rhumatisme, les myalgies (douleurs musculaires), la sciatique et anesthésiant local dans les soins des plaies. Par voie orale, les clous de girofle sont utilisés dans le traitement des troubles digestifs: ballonnement épigastrique, lenteur à la digestion (**MILLENIUM CHALLENGE ACCOUNT, 2000**).

Son H. Es. Possède différentes caractéristiques, on cite:

- Elle a un pouvoir Anti-infectieux ; antibactérien puissant à large spectre d'action, utile par exemple lors de colite bactérienne ; mais aussi antivirale lors par exemple d'hépatite virale antifongique, antiparasitaire.(**KOROCH, 2007**).

- Un pouvoir Antiseptique et antalgique dentaire : infections dentaires, odontalgie.
- Un pouvoir Anesthésique local : l'eugénol inhibe la conduction nerveuse.
- Un pouvoir Anti-inflammatoire : l'eugénol inhibe la synthèse des prostaglandines.

- Un pouvoir Stimulant général: neuro-tonique, utéro-tonique, aphrodisiaque légère :

Utilisée en cas d'asthénie

- Un pouvoir Stomachique, antispasmodique et carminative.

- Anti-infectieux majeur, l'eugénol possède des propriétés antibactériennes et inhibitrices du transit et des sécrétions intestinales anti-agrégant plaquettaire par l'action de l'eugénol qui inhibe la cyclo oxygénase, inhibe la synthèse de prostaglandines, notamment par la muqueuse
- Troubles digestifs : il possède des propriétés antispasmodiques (du fait de la présence d'acétyl eugénol soulageant les troubles digestifs et la toux
- Elle est employée pour cautériser la pulpe dentaire, et, combinée à l'oxyde de zinc pour former des eugénates servant de pansements dentaires provisoires ; elle entre aussi dans les mixtures odontalgiques
- Stimulant physique et intellectuel.

3. Autres utilisations

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

Les clous de girofle entiers, mais aussi en poudre, servent à aromatiser les conserves de légumes, le chou rouge ou la choucroute, les compotes de pommes et autres fruits. (**GEORGETTI, 2003**).



Figure 15 : Produits issus du giroflier (GEORGETTI, 2003).

1. Généralités sur le monde microbien

1.1. Les bactéries

L'infection engendrée est la conséquence du développement, d'un microorganisme pathogène dans un organisme sain : bactérie, parasite, **(DAVET et ROUXEL, 1997)** virus ou autres. Elle résulte de la rupture d'équilibre qui existe entre le germe et l'homme (hôte). Ce déséquilibre provient donc soit d'une diminution des défenses du sujet (congénitale ou acquise), soit d'un accroissement de virulence de germes.

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

- ingestion d'eau ou d'aliments contaminées (voies digestive)
- inhalations d'aérosols ou des particules associés à des bactéries (voies respiratoires).
- inoculation cutanées par contact direct ou indirecte (voies cutanées).
- inoculation muqueuse directe par la salive ou la sécrétion sexuelle
- inoculation transcutanées par les insectes (*Yersinia pestis*, *Rickettsia*, *Borrelia*...) par traumatisme ou manipulation iatrogènes **(RAKOTOATIMANANA et al., 1999)**

1.1.1. Morphologie et structure

On peut distinguer trois formes caractéristiques : les sphériques, les allongées et les spiralées (figure 16). La position des bactéries les unes par rapport aux autres est également une caractéristique distinctive importante **(SRUTHI, 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 épaisseur. La taille des coques varie entre 0,4 et 1,5 μm .
- La longueur des bacilles peut varier entre 1 et 10 μm , même si quelques espèces sont plus grandes ou plus petites.

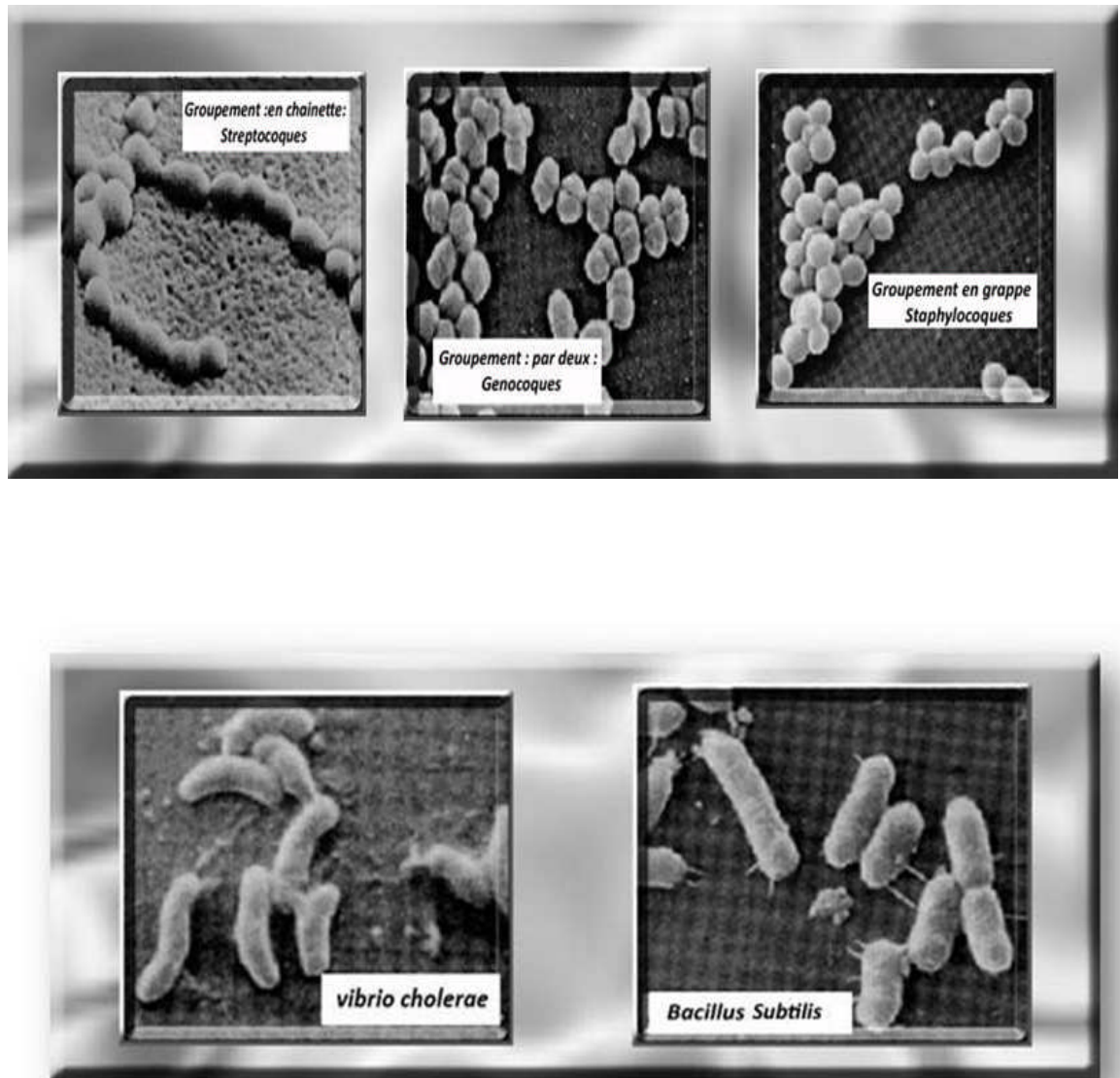


Figure16 : Différentes morphologies des bactéries (B. Y. K. SRUTHI, 2014).

1.1.2. Pouvoir pathogène

La plupart des bactéries étudiées ont un pouvoir pathogène naturel et sont résistantes naturellement à certains antibiotiques.

1.1.3. Bactéries Gram –

Les bactéries Gram négatifs ont adopté une solution différente pour protéger leur Membrane cytoplasmique (figure 17), ils fabriquent une structure particulière, la membrane externe, située à l'extérieur de la muréine.

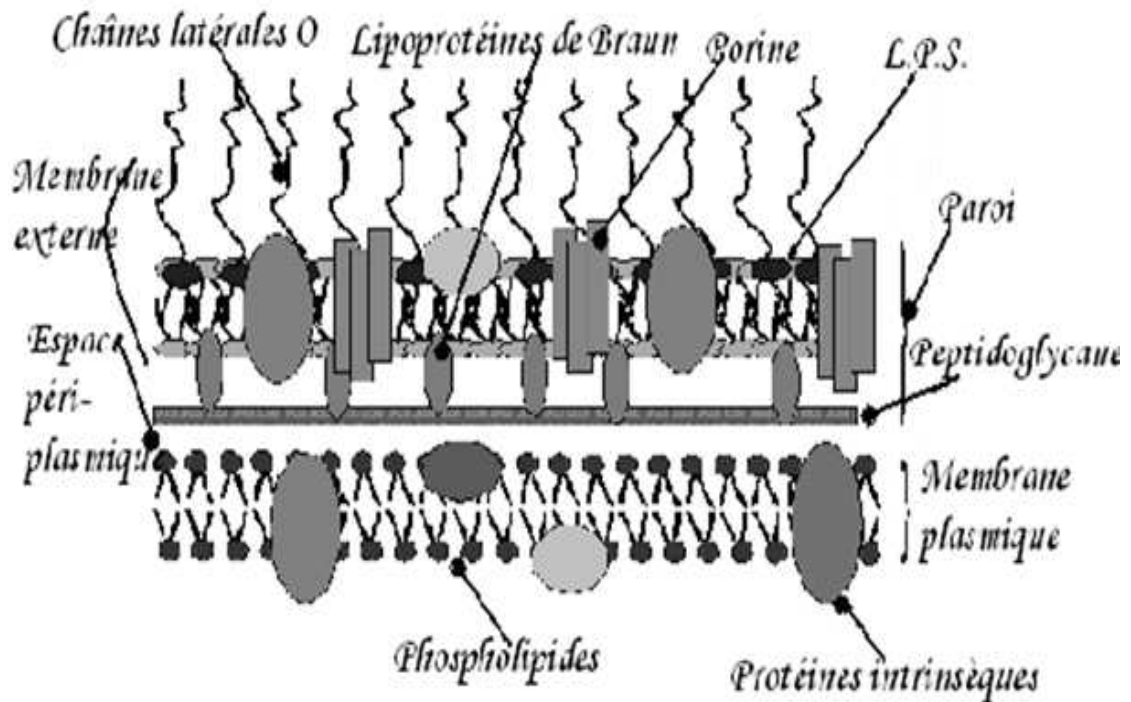


Figure 17: Schéma de la paroi des bactéries à Gram négatif (M. HAKKI ALMA et MURAT ERTAS)

1.1.4. Bactéries Gram +

Les bactéries Gram positif protègent leur membrane avec une paroi épaisse, le composant majeur de la paroi est un polymère complexe de sucres et d'acides aminés, appelé muréine ou peptidoglycane (figure 18).

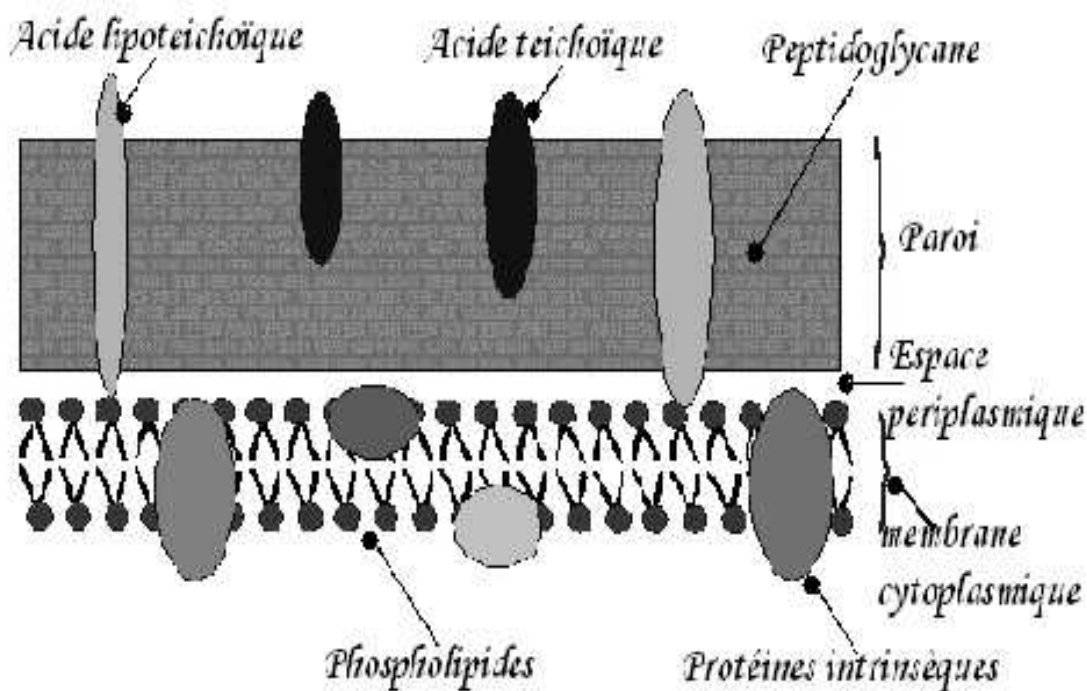


Figure 18: Schéma de la paroi des bactéries à Gram positif (BRUNETON, 1999)

2. Etude des souches de bactéries testées

2.1. Bactéries Gram -

2.1.1. *Escherichia Coli*

Bacille a gram négatif ; elle provoque des infections urinaire ; génitales ; hépatobiliaires ou digestives méningites chez les nourrissons, infection alimentaires, manifestation intestinales telles que des diarrhées variables selon la souche en cause: diarrhées des voyageurs ou turista grève destruction des globules rouge et lésions rénales due à la souche sécrétant une puissante toxine appelée toxine Véro vomissement (**HAKKI ALMA et MURAT ERTAS**)

2.1.2. *Proteus sp*

Les *Proteus sp* sont des bacilles à Gram négatif, répandues dans la nature et elles sont l'espèce la plus fréquemment isolée des prélèvements cliniques. Chez l'homme, les infections les plus fréquentes concernent l'appareil urinaire (**DAVET ROUXEL, 1997**).

Les *Proteus sp.* sont également responsables d'infections diverses : infections cutanées, infections de l'œil, infections de l'oreille... et, plus rarement (**M. HAKKI ALMA ., MURAT ERTAS**), de septicémies et de méningites particulièrement graves chez les

nourrissons. Leur rôle dans des gastro-entérites infantiles et dans des gastro-entérites succédant à l'ingestion d'aliments contaminés a été évoqué.

2.1.3. *Pseudomonas aeruginosa*

Il s'agit d'un petit bacille gram positif ; Cette bactérie préfère les milieux humides et on la trouve quelquefois au niveau de la peau, de l'appareil respiratoire supérieur, de l'oreille externe et du tube digestif chez l'individu sain. Ce sont essentiellement les individus qui ont reçu des antibiotiques. **(BENACHI, 2004).**

Les infections sont le plus souvent des infections d'origine nosocomiale. Ce terme concerne tout ce qui est relatif aux hôpitaux. Plus généralement, il est employé pour une maladie contractée lors d'une hospitalisation. **(DAVET et ROUXEL , 1997).**

2.1.4. *Acinetobacter*:

Les *Acinetobacter* sont des bacilles immobiles, souvent groupés en diplobacilles courts, aérobies stricts, oxydase négatif, habituellement saprophytes. Ils jouent un rôle d'opportuniste mineur en milieu hospitalier. Ces espèces jouent un rôle important dans les infections nosocomiales et sont volontiers multi-résistantes aux antibiotiques (résistance naturelle et acquise), ce qui en rend le traitement difficile. **(HAKKI ALMA ., MURAT ERTAS).**

2.2. Bactérie Gram +

2.2.1. *Staphylocoque aureus*

Ce sont des coques gram positif arrondis d'environ 1µm de diamètre immobiles dépourvus de spores et de capsules responsable de septicémie , infection alimentaire et entérocolites aigue ; inflammation locales et infection cutané muqueuse ,panaris abcès du poumon ,entérites ,inflammation de épithélium vulvo-vaginal.

3. Généralités sur les antibiotiques et la résistance

3.1. Anti-microbiens et antibiotiques

Sur base de l'étymologie du mot « antimicrobien » (du grec anti : contre, mikros : petit et bios : vie), on définit un composé de ce type comme toute substance capable d'agir contre la vie des microorganismes. L'adjectif antibiotique (du grec anti : contre, biotikos : concernant la vie) utilisé pour la première fois en 1889, en référence à une substance synthétisée par un

organisme pour en détruire un autre, se précisera plus tard, comme une substance chimique produite par un microorganisme et disposant en solution diluée de la capacité d'inhiber sélectivement la croissance voir même de détruire d'autres microorganismes.

Les composés utilisés à des fins thérapeutiques lors de maladies bactériennes chez l'homme et les animaux sont fréquemment appelés, par les professionnels de la santé ainsi que par les profanes, antibiotiques. Pourtant, ce terme est bien souvent utilisé de façon erronée et subit régulièrement un élargissement de son sens. En effet, la définition du mot antibiotique réfère strictement aux substances antimicrobiennes d'origine naturelle, et selon cette notion, ce terme ne devraient donc pas être employé pour qualifier des substances synthétiques telles que les sulfamidés et les quinolones, ou semi-synthétiques telles que l'amoxicilline et l'amikacine (**GUARDABASSI et COURVALIN, 2006**). Par souci de facilité dans la suite de ce chapitre, le terme antibiotique fera néanmoins référence à ces trois catégories de composés.

3.2. Résistance aux antibiotiques

La résistance aux antimicrobiens est un terme tout à fait relatif. En effet, il existe un grand nombre de définitions pour l'expression « résistance bactérienne aux antibiotiques », qui sont basées sur différents critères (génétiques, biochimiques, microbiologiques et cliniques) et qui ne se recoupent pas forcément. Les définitions les plus fréquemment employées se fondent sur les critères microbiologiques (résistance *in vitro*) et sur les critères cliniques (résistance *in vivo*). Selon la définition microbiologique du terme, une souche est dite résistante lorsqu'elle se cultive en présence de concentration plus élevée en antibiotique comparativement à d'autres souches qui lui sont phylogénétiquement liées. Par conséquent, la résistance est une propriété qui ne peut être étudiée que par comparaison d'au moins deux souches, dont l'une de référence souvent appelée souche sauvage et développée en laboratoire à partir d'individus prélevés dans la nature, d'une même espèce ou d'un même genre, cultivées dans les mêmes conditions. Selon la définition clinique, une souche est qualifiée de résistante lorsqu'elle survit à la thérapie antibiotique mise en place. En outre, il est important de signaler, qu'en conditions *in vivo*, la capacité de résistance ou de sensibilité de la souche à la thérapie antimicrobienne mise en place sera dépendante de différents paramètres, tels que la localisation de la bactérie, le dosage et le mode d'administration de l'antibiotique, et l'état du système immunitaire de l'individu traité. Et nombreuses sont les situations où le composé ne pourra pénétrer ou agir au niveau du site infectieux, créant de la sorte un état de résistance

clinique : citons pour exemples les abcès fibrotiques ou les conditions de pH ou de pression partielle en oxygène trop faibles (**GUARDABASSI et COURVALIN, 2006**).

3.3. Détermination de la sensibilité d'une bactérie

3.3.1. Concentration minimale inhibitrice

La concentration minimale inhibitrice (CMI) d'un antibiotique correspond à la plus faible concentration capable d'inhiber toute croissance visible des bactéries d'un inoculum dont la taille est prédéfinie (10⁴ à 10⁵ bactéries) dans un milieu de croissance spécifique et en conditions de culture standardisées 18 à 24 heures d'incubation, à pression atmosphérique et à une température comprise entre 35 et 37°C pour les bactéries aérobies et aéro-anaérobies selon les conditions standardisées de l'EUCAST (European Committee on Anti microbial Susceptibility Testing) (**ANDREWS, 2001**). En outre, on définit deux paramètres supplémentaires, lorsqu'au cours d'une épreuve de sensibilité à un antibiotique, un grand nombre de bactéries d'une même espèce sont testées. Ainsi, la CMI₅₀, médiane d'une distribution des valeurs de la CMI, correspond à la concentration la plus faible qui inhibe la croissance d'au moins 50 % des souches de l'espèce bactérienne testée. Alors que la CMI₉₀, 90e percentile d'une distribution des valeurs de la CMI, correspond à la concentration la plus faible qui inhibe la croissance d'au moins 90 % des souches de l'espèce bactérienne testée (**SCHWARZ et al. , 2010**).

3.3.2. Catégorisation clinique d'une souche bactérienne

La catégorisation clinique d'une souche bactérienne au sein du système SIR pour «Sensible, intermédiaire, résistante » vis-à-vis d'un antibiotique repose sur, d'une part, la détermination in vitro de sa CMI, et d'autre part, la confrontation de la valeur de la CMI mesurée à deux valeurs de concentrations critiques proposées par des comités d'experts nationaux et internationaux. On établit une concentration critique inférieure « c » et une concentration critique supérieure « C » à partir de différentes données dont: les critères pharmacocinétiques et pharmacodynamiques spécifiques de chaque antibiotique utilisé aux doses recommandées et aux doses maximales autorisées, la répartition des valeurs des CMI de souches sauvages de la même espèce et une confrontation des résultats obtenus lors d'essais cliniques in vivo et in vitro. Une souche sera déclarée sensible à l'antibiotique lorsque sa CMI est inférieure à c, résistante si la CMI est supérieure ou égale à C et intermédiaire si elle est comprise entre ces deux valeurs (mais supérieure ou égale à c). Ainsi, le groupe des souches dites sensibles se compose de bactéries pour lesquelles la probabilité d'un succès

thérapeutique est élevée lors d'un traitement systémique à une posologie habituelle recommandée dans le résumé des caractéristiques du produit (RCP), alors que le groupe des souches dites résistantes se compose de bactéries pour lesquelles la probabilité de succès thérapeutique est nulle quel que soient le mode d'administration et le schéma posologie que utilisé (CAVALLO et MERENS, 2008).

3.3.3. Concentration minimale bactéricide

La concentration minimale bactéricide (CMB) d'un antibiotique correspond à la plus faible concentration capable de tuer 99,99 % des bactéries d'un inoculum prédéfini dans un milieu de croissance spécifique et en conditions de culture standardisées (18 à 20 heures d'incubation, à pression atmosphérique et à une température comprise entre 35 et 37°C pour les bactéries aérobies et aéro-anaérobies) (ANDREWS, 2001).

3.4. Mécanismes de résistance

3.4.1. Résistance intrinsèque et acquise

Une résistance intrinsèque se définit comme une caractéristique fonctionnelle ou structurale conférant une certaine tolérance, voir une insensibilité totale, à tous les membres d'un groupe de bactéries (une espèce, un genre ou parfois un groupe plus grand), vis-à-vis d'une molécule particulière ou vis-à-vis d'une classe d'antimicrobiens.

L'absence ou la réduction de sensibilité à un antibiotique peut être due à :

- Un manque d'affinité du composé pour la cible bactérienne (par exemple, la faible affinité de l'acide nalidixique pour la gyrase des entérocoques),
- Une inaccessibilité de la molécule à la cellule bactérienne (imperméabilité de la membrane externe des bactéries gram négatives aux glycopeptides comme la vancomycine),
- Une expulsion de l'antibiotique par des pompes à efflux chromosomiques (résistance aux tétracyclines, au chloramphénicol et aux quinolones chez *Pseudomonas aeruginosa*, ou encore
- une inactivation enzymatique innée de l'antibiotique (la production d'une bêta-lactamase AmpC chez certains membres de la famille Enterobacteriaceae).

Contrairement à la résistance intrinsèque, la résistance acquise se définit comme une caractéristique propre à quelques souches bactériennes d'un genre ou d'une espèce particulière, provoquant l'émergence et la diffusion de résistances au sein de populations de germes normalement sensibles. On décrit deux phénomènes majeurs à la base de l'acquisition de résistances par modifications du génome bactérien, à savoir, les mutations responsables des résistances endogènes, et l'acquisition horizontale de matériel génétique étranger responsable des résistances exogènes. En outre, certaines résistances résultent de l'association d'une mutation et d'un transfert horizontal de gène, comme par exemple les événements conduisant à l'élargissement du spectre des bêta-lactamases ou qui leur confèrent une résistance aux inhibiteurs de bêta-lactamases (**GUARDABASSI et COURVALIN, 2006**).

3.4.2. Types de mécanismes de résistances

Les bactéries ont développé différents mécanismes afin de neutraliser l'action des agents antibactériens, les plus répandus étant l'inactivation enzymatique de l'antibiotique, la modification ou le remplacement de la cible de l'antimicrobien, l'efflux actif ou encore la pénétration réduite de la molécule. D'autres mécanismes tels que la protection ou la surproduction de la cible de l'antibiotique sont également décrits. Ils sont, cependant, plus rares et surtout associés à certaines classes de composés (**GUARDABASSI et COURVALIN, 2006**).

3.4.2.1. Inactivation enzymatique de l'antibiotique

L'inactivation enzymatique de l'antibiotique représente le principal mécanisme de résistance des bêta-lactames, des aminoglycosides et des phénicolés. On décrit également ce type de résistance pour le groupe MLS (macrolides, lincosamides, streptogramines), pour les tétracyclines, pour la fosfomycine et plus récemment pour les fluoroquinolones, bien que cette inactivation ne représente pas le mécanisme de résistance qui prévaut pour ces molécules. L'enzyme en modifiant le noyau actif de l'antibiotique par clivage ou par addition d'un groupement chimique, empêche la fixation de l'antimicrobien sur sa cible et provoque une perte d'activité. Parmi les réactions biochimiques catalysées par ces enzymes bactériennes, on peut citer des hydrolyses, des acétylations, des phosphorylations, des nucléotidylations, des estérifications, des réductions et des réactions d'addition d'un glutathion. Ces enzymes

sont généralement associées à des éléments génétiques mobiles (**GUARDABASSI et COURVALIN, 2006 ; ALEKSHUN et LEVY, 2007 ; NIKAIDO, 2009**).

3.4.2.2. Modification ou remplacement de la cible de l'antibiotique

La cible de l'antibiotique peut être structurellement modifiée ou remplacée, de telle sorte que le composé antibactérien ne puisse plus se lier et exercer son activité au niveau de la bactérie. La modification de la cible, mécanisme de résistance décrit pour presque tous les antibiotiques, est particulièrement importante pour les résistances aux pénicillines, aux glycopeptides et aux molécules du groupe MLS chez les bactéries gram positives, et pour les résistances aux quinolones chez les bactéries gram positives et gram négatives. Ce type de résistance peut être la conséquence de l'acquisition de matériel génétique mobile codant pour une enzyme modifiant la cible de l'antibiotique, ou peut résulter d'une mutation au niveau de la séquence nucléotidique de la cible. Le remplacement de la cible de l'antibiotique est, quant à lui, un mécanisme décrit pour les sulfamidés, les di-amino-pyrimidines (triméthoprine) et les bêta-lactames dont les *Staphylococcus aureus* résistants à la méthicilline (SARM) ainsi qu'à toutes les bêtalactames d'usage vétérinaire sont un exemple remarquable par la synthèse d'une nouvelle PBP (Penicillin Binding Protein) possédant une affinité moindre pour la méthicilline (**GUARDABASSI et COURVALIN, 2006 ; ALEKSHUN et LEVY, 2007 ; NIKAIDO, 2009**).

3.4.2.3. Pompes à efflux

L'efflux actif, médié par des protéines transmembranaires connues sous le terme de pompes à efflux ou transporteurs actifs, est un mécanisme nécessitant de l'énergie et utilisé par les bactéries, par les cellules eucaryotes dont notamment les protozoaires, pour expulser à l'extérieur des métabolites et des composés toxiques étrangers tels que des antibiotiques et d'autres médicaments. Ces pompes à efflux ont généralement une spécificité de substrats assez large, et seulement certaines d'entre elles confèrent une résistance aux antibiotiques. La résistance provient de la réduction de concentration en antimicrobien dans le cytoplasme de la bactérie, ce qui prévient et limite l'accès de l'antibiotique à sa cible. On classe ces pompes à efflux sur base notamment de leur spécificité de substrats et de la source d'énergie employée. Certains de ces transporteurs sont très spécifiques et on les appelle pompes SDR (pour Specific Drug

Resistance), alors que d'autres agissent sur une multitude de molécules et on les nomme pompes MDR (pour Multiple Drug Resistance).

Les pompes SDR, généralement responsables de hauts niveaux de résistance et dont les gènes sont portés par des éléments génétiques mobiles, représentent un important mécanisme de résistance aux tétracyclines essentiellement parmi les bactéries gram négatives, aux composés du groupe MLS et aux phénicolés. Les pompes MDR (dont notamment MexAB-OprM chez *P. aeruginosa*, AcrAB-TolC chez *Escherichia coli*, QacA chez *S. aureus*, VceAB chez *Vibrio cholerae*, MdrL chez *Listeria monocytogenes* et MreA chez *Streptococcus agalactiae*) (**POOLE, 2001 ; LI et NIKAIDO, 2004 ; KUMAR et SCHWEIZER, 2005**), généralement responsables de bas niveaux de résistance et dont les gènes sont fréquemment chromosomiques, sont classées en deux groupes sur base de la source d'énergie utilisée : les transporteurs ABC (pour ATP-binding cassette) utilisant l'hydrolyse de l'ATP et plutôt spécifiques de certains composés comme le groupe MLS, et les transporteurs secondaires exploitant le gradient électrochimique transmembranaire de protons et d'ions sodium pour expulser la molécule à l'extérieur de la cellule et responsables de résistances multiples aux antibiotiques (**GUARDABASSI et COURVALIN, 2006 ; ALEKSHUN et LEVY, 2007 ; NIKAIDO, 2009**).

3.4.2.4. Perméabilité réduite

Contrairement aux bactéries gram positives, dont la structure enveloppante est assez simple, composée d'une paroi externe épaisse de peptidoglycanes que les antibiotiques traversent par simple diffusion, les bactéries gram négatives jouissent quant à elles d'une enveloppe plus complexe et plus difficilement franchissable.

Ainsi, au sein des bactéries gram négatives, les antibiotiques hydrophiles pénètrent dans la bactérie via des protéines transmembranaires nommées porines, alors que les molécules hydrophobes diffusent simplement à travers la couche phospholipidique. La membrane externe de certaines bactéries telles que *P. aeruginosa* est moins perméable que celle d'autres espèces, ce qui lui confère un niveau moins élevé de sensibilité aux antimicrobiens. En outre, des mutations au niveau des gènes qui codent pour les porines et qui conduisent à leur perte, ou à la réduction de leur taille ou encore à une diminution de leur expression, se traduiront par l'acquisition de bas niveaux de résistance vis-à-vis de nombreux antibiotiques. Citons comme exemple, la réduction

de l'expression de la porine OmpF chez *E. coli* qui entraîne une réduction de sensibilité aux quinolones, aux bêta-lactames, aux tétracyclines et au chloramphénicol.

La diminution de la perméabilité est donc un mécanisme de résistance cliniquement très important chez les bactéries gram négatives et plus précisément chez *P. aeruginosa* et les *Enterobacteriaceae*, étant donné le large spectre d'antibiotiques qu'elle cible. En outre, on décrit également ce type de phénomène pour expliquer la résistance aux aminoglycosides parmi les germes anaérobies ainsi que le faible niveau de sensibilité clinique (résistance intrinsèque à bas niveau) observé vis-à-vis de cette famille de composés parmi les bactéries anaérobies facultatives telles que les entérocoques et les streptocoques. En effet, cette famille d'antibiotiques pénètre à l'intérieur des cellules bactériennes via un mécanisme de transport dépendant d'un métabolisme aérobie (**GUARDABASSI et COURVALIN, 2006 ; ALEKSHUN et LEVY, 2007 ; NIKAIDO, 2009**).

3.4.2.5. Protection de la cible de l'antibiotique

La protection de la cible de l'antibiotique est un mode de résistance bien connu pour la famille des tétracyclines et plus récemment décrit pour les quinolones et les fluoroquinolones. Ainsi, on ne dénombre pas moins de huit protéines de protection ribosomiale qui confèrent une résistance aux tétracyclines en les déplaçant de leur site de fixation par la création d'un encombrement stérique au niveau du ribosome. Depuis quelques années, des souches présentant des résistances sub-cliniques dites à bas niveau aux fluoroquinolones ont été observées.

Ces résistances sont notamment dues à la présence de gènes plasmidiques *qnr* (pour quinolone résistance) dont 5 groupes existent. Ce mécanisme a été rapporté parmi différentes bactéries gram négatives à travers le monde, et des analogues de ces gènes ont également été décrits chez des bactéries gram positives (**RODRIGUEZ MARTINEZ et al., 2008**). Les protéines *qnr* en se fixant sur les topoisomérases, cibles des fluoroquinolones, réduisent l'affinité de la famille d'antibiotiques pour leurs cibles (**ROBICZEK et al., 2006 ; CAVACO et al., 2009 ; WANG et al., 2009**).

3.4.2.6. Piégeage de l'antibiotique

Les bactéries sont capables de piéger un antibiotique en augmentant la production de sa cible ou en produisant une autre molécule possédant une affinité pour ce dernier.

Il en résulte une diminution de l'antibiotique à l'état libre au niveau de la cible. Ainsi des mutations chromosomiques responsables d'une surproduction des cibles des sulfamidés et du triméthoprimé ont été décrites chez de nombreuses espèces bactériennes. Ce mécanisme est également impliqué dans des bas niveaux de résistance aux glycopeptides chez certaines souches de *S. aureus*, et à la tobramycine chez *E. coli* (**GUARDABASSI et COURVALIN, 2006**).

4. Mode d'action des H. ES.

Le mode d'action des huiles essentielles sur les cellules bactériennes n'est pas clairement élucidé. Compte tenu de la diversité des molécules présentes dans les huiles, l'activité antibactérienne semble résulter d'une combinaison de plusieurs modes d'action (**VERNON et RICHARD, juillet 1976**), impliquant différentes cibles cellulaires.

Le mode d'action est assez complexe et difficile à cerner du point de vue moléculaire, d'une manière générale, leur action se déroule en trois phases:

- 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.

4.1. Méthode d'évaluation de l'activité antibactérienne

La technique utilisée pour déterminer le pouvoir antimicrobien des H.ES a une grande influence sur les résultats. Des difficultés pratiques viennent de l'insolubilité des constituants des HE dans l'eau, de leur volatilité et de la nécessité de les tester à faibles concentrations. A l'heure actuelle, l'activité antimicrobienne in vitro d'une substance peut être mise en évidence par un grand nombre de techniques classiques, aussi bien en milieu solide qu'en milieu liquide. (**WRIGHT, KEELE et NEIL, 1998**)

4.1.1. Technique en milieu solide (Aromatogramme)

L'aromatogramme est basée sur une technique utilisée en bactériologie médicale, appelée antibiogramme ou méthode par diffusion en milieu gélosé ou encore méthode des disques. (figure 19).

Cette méthode a l'avantage d'être d'une grande souplesse dans le choix des H.E testées, de s'appliquer à un très grand nombre d'espèces bactériennes, et d'avoir été largement évaluée par 50 ans d'utilisation mondiale (**BELOUD, 2003**) Il s'agit d'une Méthode en milieu gélosé à l'agar1 réalisée dans une boîte de Pétri.

Le contact se fait par l'intermédiaire d'un disque de papier sur lequel on dispose une quantité donnée d' H.E.

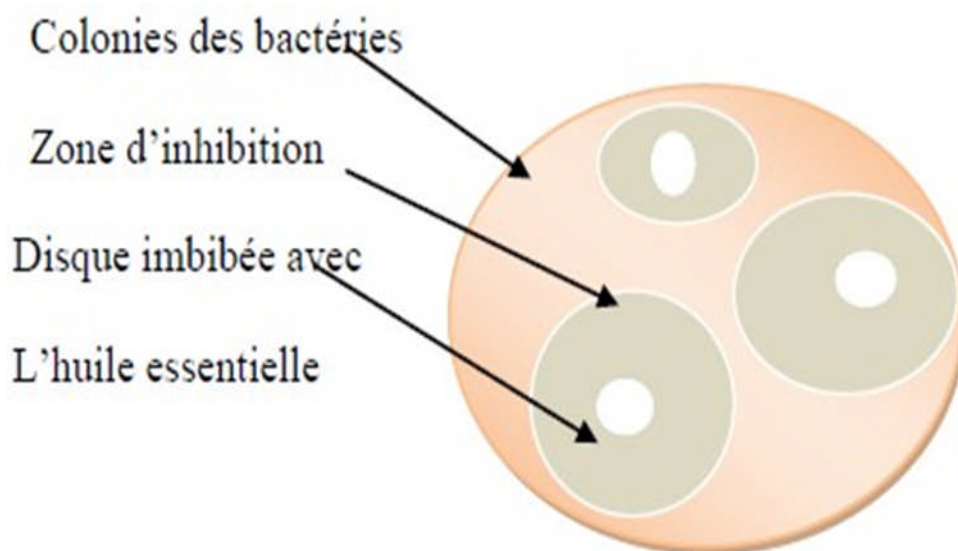


Figure 19: L'Aromatogramme (BELOUD, 2003)

4.1.2. Technique en milieu liquide (technique de dilution)

Le but des méthodes de dilution en bouillon et en gélose est de déterminer la concentration la plus faible de l'antimicrobien testé qui inhibe la croissance de la bactérie testée (la CMI) habituellement exprimée en mg/ml ou mg/litre

4.1.2.1. Dilution en bouillon

La dilution en bouillon est une technique dans laquelle une suspension bactérienne (à une concentration optimale ou appropriée prédéterminée) est testée contre des concentrations variables d'un agent antimicrobien dans un milieu liquide.

La méthode de dilution en bouillon peut être effectuée dans des tubes contenant un volume minimum. L'utilisation de ces plaques avec un protocole documenté, y compris les précisions sur les micro-organismes de référence approprié, peut faciliter la comparaison des résultats entre analyses.(BASSET, 1995)

4.1.2.2. Dilution en gélose

La dilution en gélose implique l'incorporation d'un agent antimicrobien dans un milieu gélifié à des concentrations variables, en général une dilution en série de 2 en 2, suivie de l'ensemencement d'un inoculum bactérien défini à la surface de la gélose de la boîte. (BASSET, 1995).

Matériel et méthode

1. Matériels

1.1. Micro-organismes testés

Le choix des bactéries s'est porté sur 6 souches responsables d'infection urinaires fréquentes en pathologie humaine.

Nous avons sélectionnés deux groupes de bactéries, des bactéries à Gram positif et des bactéries à Gram négatifs (voir tableau 03).

Tableau 03 : Tableau descriptif des différents types de bactéries isolées en pathologies humaines

Souches bactérienne	Types de gramme	Provenance
<i>Pseudomonas</i>	Gram négatif	Laboratoire boudjebblaa
<i>Escherichia coli</i>	Gram négatif	Laboratoire boudjebblaa
<i>Proteus</i>	Gram négatif	Laboratoire boudjebblaa
<i>Staphylocoque</i>	Gram positif	Laboratoire boudjebblaa
<i>Klebsiella</i>	Gram négatif	Laboratoire boudjebblaa
<i>Acenitobacter</i>	Gram négatif	Laboratoire boudjebblaa

1.2. Milieux de culture utilisés

- Gélose nutritive, gélose au sang, Mueller Hinton

1.3. Les antibiotiques utilisés

- Ciprofloxacin (CIP) de 5 ug/disque ;
- Dexycycline (DO) de 30 ug/disque ;
- Gentamycine (GEN) 10 ug/disque ;
- Amoxicilline (AMX) 25 ug/disque ;
- Chloramphenicol (C) de 30 ug/disque ;
- Amoxicilline – Acide clavulanique (AMC) de 30 ug/disque ;
- Cefalexine (CN) de 30 ug/disque ;
- Bactrine (COT) 25 ug/disque ;
- Céfoxime (CX) de 30 ug/disque ;
- Erythromycine (E) de 15 ug/disque .

1.4Appareillage

- Etuve : NAHITA
- Autoclave : NAHITA
- Bain marie : FIRLAB. France.
- Réfrigérateur : ENIEM. Algérie.

2. Méthode

L'ECBU : représente une étape importante avant l'application de l'antibiogramme sur les bactéries responsables d'infection urinaire

2.1. Examen cyto bactériologique des urines

L'ECBU est un examen microbiologique permettant de documenter l'infection urinaire en < identifiant le(s) germe(s) responsable(s), et de fournir des données (antibiogramme) permettant d'optimiser le traitement (KUBAB *et al.*, 2009).

Les différentes étapes d'un ECBU sont résumées dans schéma suivant :

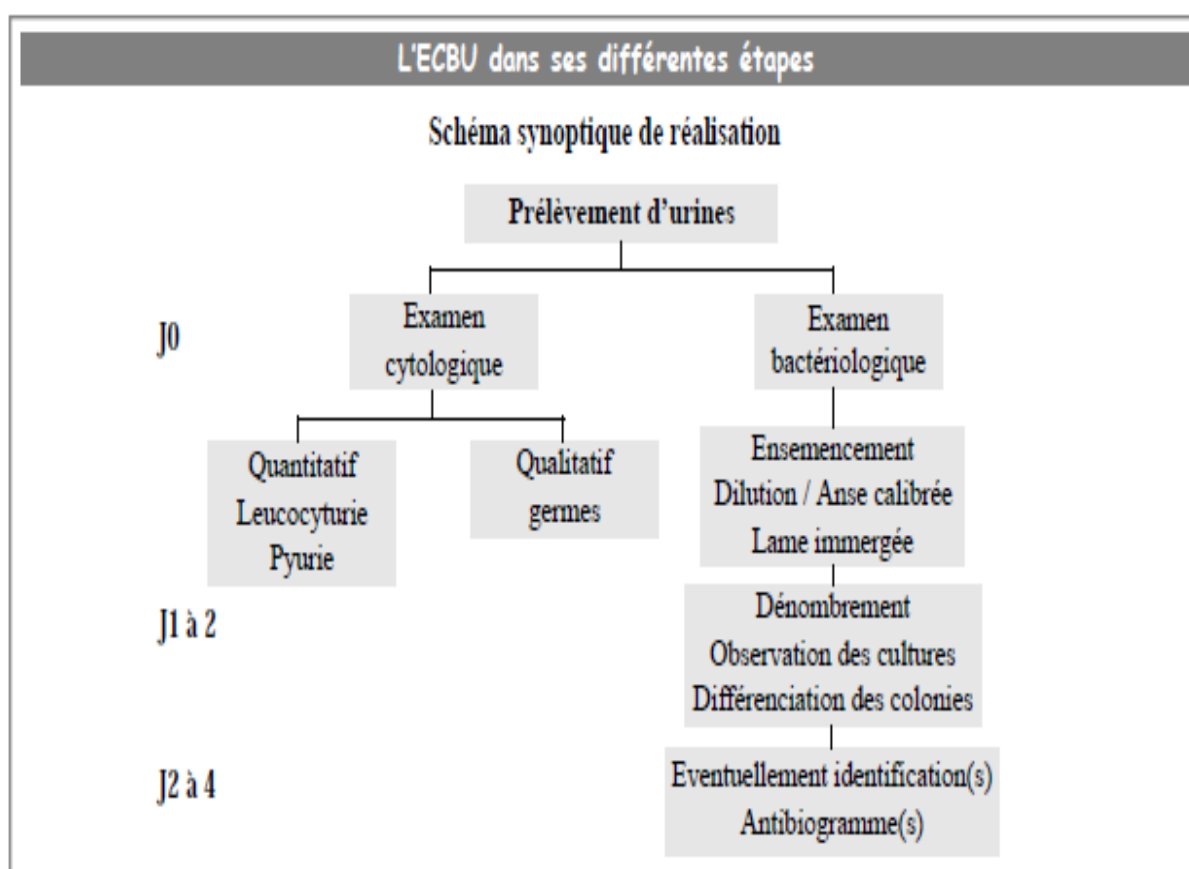


Figure 20 : Schéma récapitulatif d'un examen cyto bactériologique des urines (KUBAB *et al.*, 2009)

L'infection urinaire est confirmée par l'association d'une leucocytaire à une bactériurie $\geq 10^5$ germes /ml (KUBAB *et al.*, 2009).

2.1.1 Examen macroscopique

Lors d'une infection urinaire, l'urine peut changer de couleur, d'aspect et même d'odeur (DARBAS, 2007) :

- **La couleur:** jaune paille (foncé), couleur hématique.
 - **L'aspect :** trouble dont le degré est proportionnel à la densité microbienne.
 - **Odeur:** nauséabonde surtout si le germe en cause est pyogène.
 - **Corps étrangers :** présence de sédiments de couleur variable (blanchâtre pour les phosphates, rouge brique pour l'acide urique, et rose pour l'urate).

2.1.2. Examen microscopique du culot de centrifugation

L'analyse d'un prélèvement effectué dans un but diagnostique est, en règle générale, une analyse à la fois cytologique et bactériologique. Ainsi, l'examen microscopique est une étape clé dans la démarche diagnostique des infections bactériennes (FRANÇOIS *et al*.,2007).

a- Examen cytologique : L'examen cytologique des urines comporte (RICHET, 1988)

➤ **Analyse quantitative :** La quantification des éléments est effectuée manuellement ou bien, en utilisant des systèmes automatiques de comptage (FRANÇOIS *et al*.,2007).

➤ **Analyse qualitative :**

✓ **Eléments organisés (DARBAS *et al*.,2007)**

- **Des leucocytes**, dont on appréciera grossièrement l'abondance en notant le nombre par champ microscopique ;
- **Des hématies ;**
- **Des cellules épithéliales ;** proviennent de la vessie ou de l'urètre ;
- **Des cylindres**, éléments allongés en ruban (HAMBURGER ,1979)

✓ **Eléments non organisés (HAMBURGER ,1979)**

- **Des cristaux** dont la forme permet parfois de préciser la nature :
phosphates,
oxalates de calcium, urates, acide urique ;
- **Des bactéries**

✓ **Autres éléments (DARBAS *et al*.,2007)**

- Des spermatozoïdes ;
- Des levures ;
- Des parasites ;

b- Examen bactériologique : L'examen bactériologique des urines repose sur **(RICHET, 1988)**

- L'examen direct : Il est rare qu'il soit négatif lorsque la bactériurie est égale ou supérieure à 10^5 germe /ml.
- La coloration de Gram : permet de différencier entre bactérie Gram+ et bactérie Gram-.
- La culture des urines : La culture des urines permet de quantifier la bactériurie et d'identifier les germes infectant les urines, elle consiste à dénombrer les unités formant colonies (UFC) par ml d'urine.

L'ensemencement doit répondre au double but, de dénombrer les bactéries, et d'isoler la ou les bactéries en cause en obtenant des colonies bien distinctes les unes des autres **(MARCHAL, 1992)**.

Les milieux utilisés doivent permettre la culture des bactéries les plus fréquemment rencontrées, c'est-à-dire les Entérobactéries, les Pseudonymes, les Staphylocoques et les Entérocoques qui sont toutes des bactéries peu exigeantes et à culture rapide.

Si on suspecte des bactéries de croissance difficile, d'autres méthodes de culture devront être utilisées **(PAUL, 2004)**.

2.1.3. Antibiotogramme

L'antibiogramme est peut être demandé en direct au moment de la mise en culture des urines si l'infection urinaire est compliquée. Il permet de connaître dans les infections récidivantes la sélection des germes résistants ou l'apparition de germes mutants. En effet, il permet de suspecter les infections récidivantes par réinfection ou les infections urinaires à rechute **(RICHET, 1988)**.

Un antibiogramme permet de tester sur milieu de culture, l'action de molécules antibiotiques sur une souche bactérienne. Il donnera donc des indications sur l'efficacité invitro de ces antibiotiques.

a. Principe général

Pour réaliser l'antibiogramme par la méthode des disques, la culture bactérienne est ensemencée à la surface d'une gélose spécialement étudiée, la gélose de Mueller-Hinton. Des disques pré-imprégnés d'une dose connue d'antibiotique sont déposés à la surface de la gélose. L'antibiotique diffuse à partir du disque en créant un gradient de concentration. La détermination du diamètre de la zone d'inhibition permet une estimation de la concentration minimale inhibitrice. Les caractères de sensibilité ou de résistance de la souche bactérienne en seront déduits.

b. Technique

En pratique, on réalise à partir de l'isolement (souche pure) un ensemencement en tapis sur le milieu. On dispose ensuite les disques d'antibiotiques et on place à l'incubateur. Au bout de 24 h, on lit les différents diamètres d'inhibition et on peut conclure en comparant ceux-ci aux abaques de lecture.

c. Interprétation

Les abaques de lecture se présentent sous forme de bandes présentant deux données qui délimitent la zone sensible, intermédiaire et résistante. Un report du diamètre mesuré sur la boîte permet de conclure rapidement.

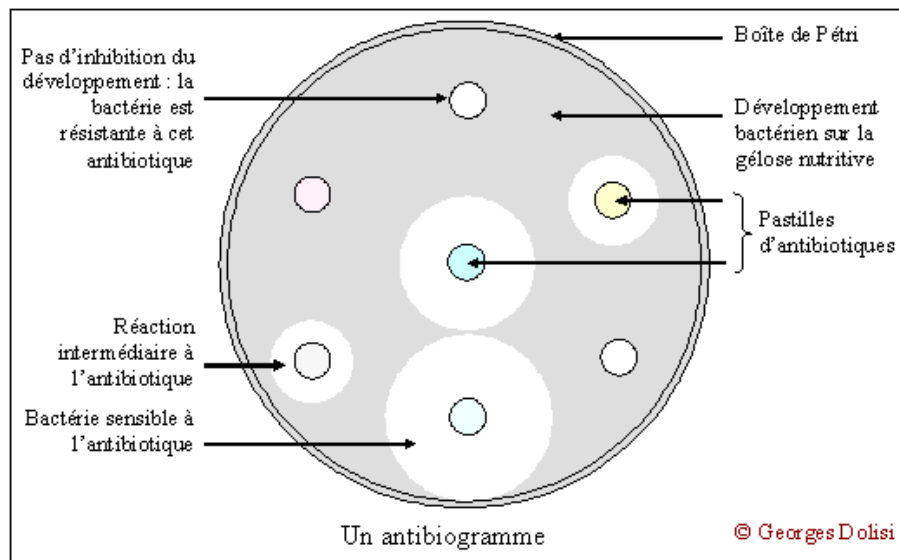


Figure 21 : L'Antibiogramme

1. Résultat des témoins positifs par la méthode de diffusion sur gélose (RICHET, 1988).

1. Résultats des tests de vérification des souches bactériennes

Les caractères morphologiques des bactéries testées sont résumés dans le tableau suivant.

Tableau 04 : Caractères morphologiques étudiés pour la vérification des souches bactériennes

Espèce bactérienne	Milieu de culture	Gram	Aspect microscopique
<i>E. coli</i>	Gélose Heckton	Négatif	Coccobacille
<i>S. aureus</i>	Gélose shapman	Positif	Cocci engrppede reaisin
<i>Proteus</i>	Gélose nutritive	Négatif	Nappe, odeur désagréable
<i>Kleisbsiella</i>	Gélose nutritive	Négatif	Colonie muqueuses larges
<i>Pseudomonas</i>	Gélose nutritive	Négatif	Bacille, diplobacille
<i>Acenitobacter</i>	Gélose nutritive	Négatif	Convexese circulaire, odeur fruité



Protéus



E. coli



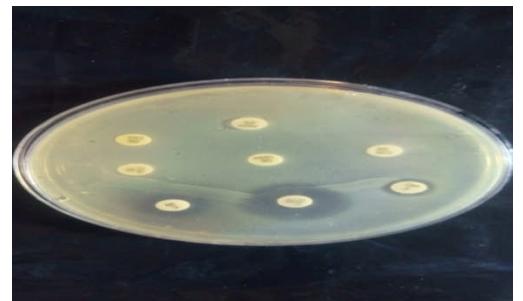
Klebsiella



Pseudomonas



Staphylocoque



Acinéto bacter

Figure 22 : Antibiogramme réalisé avec les six souches bactériennes testées.

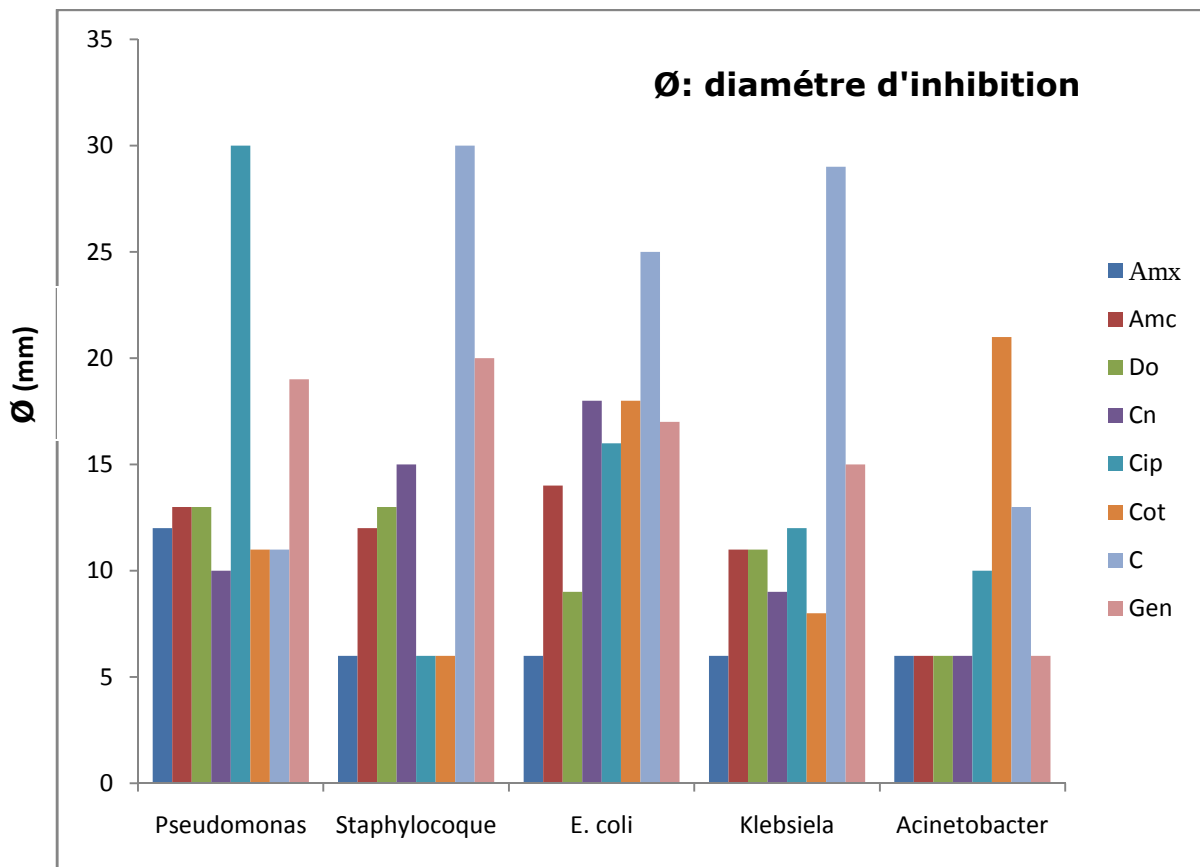


Figure 23 : Représentation graphique des résultats du test de sensibilité des souches bactériennes vis-à-vis a des antibiotiques.

D'après l'histogramme représenté dans la figure ci-dessus, on constate que les bactéries ont des sensibilités différentes vis-à-vis des antibiotiques utilisés.

Pour l'**AMX**. Toutes les bactéries sont résistantes, et pour **AMC** *Protéus* est sensible alors que toutes les autres bactéries sont résistantes, pour **DO** *Staphylocoque* est intermédiaire alors que les autres bactéries sont résistantes, pour **CN** *Staphylocoque*, *Klebsiella* et *Protéus* sont sensibles alors que les autres sont résistantes, pour **Cip** *Pseudomonas* et *protéus* sont sensibles, *E.Coli* est intermédiaires alors que les autres bactéries sont résistantes, pour **COT** *E.Coli*, *Acinéto*bacter et *Protéus* sont sensibles, *Pseudomonas* est intermédiaires alors que les autres bactéries sont résistantes, pour **C** *Pseudomonas* est résistante, *Acinéto*bacter est intermédiaire et les autres bactéries sont sensibles, pour **Gent** *Acinéto*bacter est résistantes et les autres bactéries sont sensibles.

3. Résultats des tests de sensibilités des souches bactériennes à l'H.ESde *Syzygium aromaticum*

3.1 Résultats des témoins positifs avec H. ES *Syzygium aromaticum*

On réalise l'application des huiles essentielles de la même manière que l'antibiotique.

-A Partir d'une suspension bactérienne on prélève des bactéries d'une façon homogène dans 1 ml d'eau physiologique de densité optique 10^6 UFC

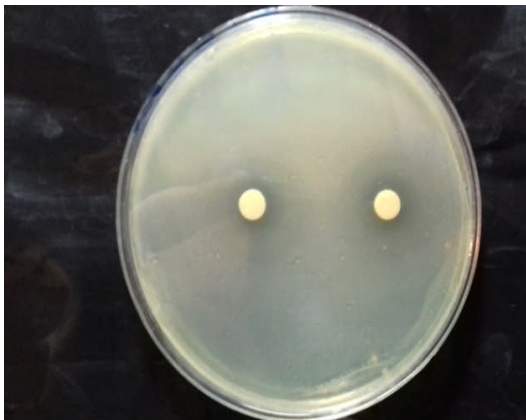
- Ensemencer sur un milieu Mueller Hinton

- Secouer la boîte de pétri puis nous patientons 15 min afin que les bactéries se déposent au fond de la boîte de pétri.

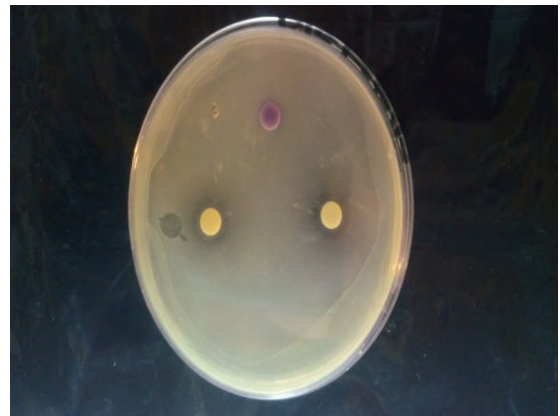
Placer les disques imprégnés d'huiles de *Syzygium aromaticum* à l'aide d'une pince stérile, suffisamment séparées les unes des autres.

Nous refermons la boîte et les mettront dans un étuve à 37C pendant 24 h.

La figure 24 montre l'effet de l'H.ES de *Syzygium aromaticum* vis-à-vis des six souches bactériennes étudiées.



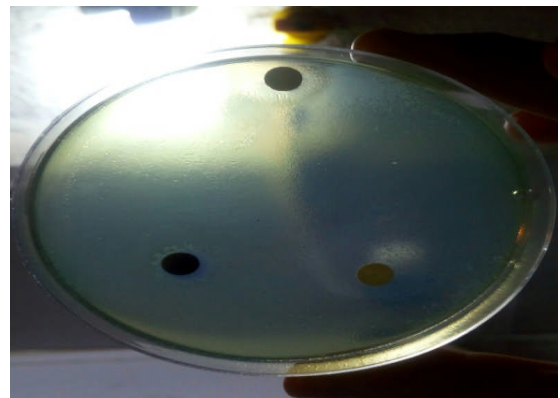
Escherichia Coli



Klebsiella



Protéus



Pseudomonas



Staphylocoque



Acinetobacter

Figure 24 : Effet de l'H. ES du clou de girofle sur les six souches bactériennes testées.

La lecture a été effectuée par mesure du diamètre de la zone d'inhibition autour de chaque disque à l'aide d'une règle en (mm). Selon PONCE *et al.*, 2003 la sensibilité des souches vis-à-vis des H.ES est déterminée comme suit :

- Non sensible (-) ou résistante, si le diamètre est inférieur à 08 mm ;
- Sensible (+) si le diamètre est compris entre 09 mm et 14 mm ;
- Très sensible (++) si le diamètre est compris entre 15 mm et 19 mm ;
- Extrêmement sensible (+++) si le diamètre est supérieur à 20 mm.

Tableau 05 : Tableau récapitulatif des résultats du test de sensibilité des souches bactériennes à l'huile de *Syzygium aromaticum*:

Souches bactérienne	Syzygium aromaticum	
	Diamètre d'inhibition en (mm) et en moyenne des trois essais ⁺ l'écart type	Sensibilité
<i>Proteus</i>	22 ⁺ 2	(+++)
<i>Pseudomonas</i>	18,5 ⁺ 0.2	(++)
<i>Acinetobacter</i>	19,5 ⁺ 0.5	(++)
<i>klebsiella</i>	10,5 ⁺ 0.1	(+)
<i>Staphylocoque</i>	06 ⁺ 00	(-)
<i>E. coli</i>	15,5 ⁺ 0.5	(++)

*Les diamètres des disques (06 mm) sont inclus dans les mesures des diamètres des zones d'inhibition.

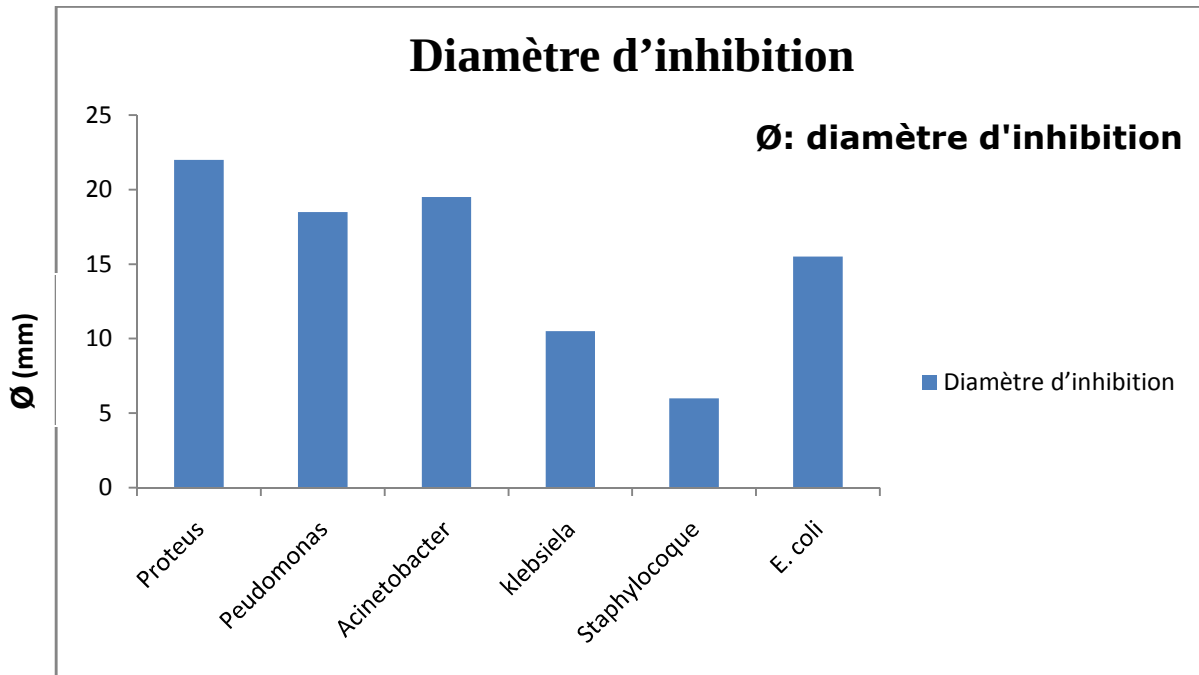


Figure 25 : Représentation graphique des résultats du test de sensibilité des souches bactériennes vis-à-vis de l'huile de *Syzygium aromaticum*

D'après l'histogramme représenté dans la figure 25, nous constatons que toutes les souches bactériennes sont sensibles à l'H. ES de *Syzygium aromaticum* à l'exception du *Staphylocoque aureus* qui n'a montré aucun diamètre d'inhibition vis-à-vis de l'H. ES.

Nous remarquons des diamètres d'inhibition élevés chez *Protéus*, *Acinéto bacter* et *Pseudomonas*, elles ont montré une grande sensibilité vis-à-vis de l'H. ES.

L'huile essentielle étudiée a montré des degrés d'activité antimicrobienne variable en fonction de la bactérie cible.

La bactérie à Gram positif testée, *S. aureus* est résistante à l'H. ES comparée aux antibiotiques utilisés, cette souche est sensible à **CN**, **C**, **Gen**.

En ce qui concerne les bactéries à Gram négatif *E. coli*, *Protéus*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter* et *Klebsiella* ; elles sont toutes sensibles à l'H. ES *Syzygium aromaticum* en

précisant que *Protéus* est la plus sensible avec un diamètre de 22 mm, suivie de *Acinéto*bacter avec un diamètre de 19,5 mm puis *Pseudomonas* avec un diamètre de 18,5 mm.

Il faut noter que *Protéus* est aussi sensible à tous les antibiotiques testés sauf à **AMX**, par contre *Acinéto*bacter est résistant à tous les antibiotiques testés sauf à **COT** ; et *Pseudomonas* résiste à quatre des antibiotiques testés sauf à **Cip** et **Gen**.

On déduit que l'huile essentielle *Syzygium aromaticum* a manifesté une activité antimicrobienne importante.

Des études récentes, ont démontré que les huiles essentielles des Clou de Girofle sont fortement antibactériennes. Cette activité pourrait être attribuée à son composé majoritaire qui est « l'eugénol ». Les travaux de (**VALERO et GINER ,2006**) ont prouvé que l'eugénol parmi d'autres composés a provoqué l'inhibition de la croissance des bactéries.

Selon l'étude de (**RAHYOUR ,2006**) qui a montré que l'huile essentielle du Clou de Girofle exerce son activité bactéricide principalement grâce à son constituant majoritaire qui est l'eugénol qui appartient à la faille des phénols. Il semble donc que l'activité bactéricide des H. E. débiterait par une fixation de ces molécules sur les membranes bactériennes provoquant des altérations de structure et de perméabilité, conduisant à la perte de constituants cellulaires due à une lyse importante des cellules bactériennes.

A la lumière de tous ces travaux et recherches, l'extrait des « clous de girofle » présente un large spectre d'activité antimicrobienne d'où l'importance de cette huile comme étant un conservateur, antiseptique très efficace pour empêcher le développement microbien surtout quand il s'agit de protéger la santé vis-à-vis de la présence des pathogènes.

Aujourd'hui les études peuvent prouver le pouvoir antibactérien de l'huile essentielle du clou de girofle la première étude de (**BARTEL, 1947**)HA : the effect of eugenol and oil cloves or the growth of the microorganismes).

D'autres études ont été menées depuis, notamment sur des bactéries résistantes comme *staphylococcus aureus*, pour traiter une infection avec des antibiotiques est compliqué puisque des souches résistantes ont fait leur apparition.

Dans l'étude de **YADAVMK** et al. l'eugénol est efficace d'une manière identique sur les *Staphylococcus* résistante ou bien des cas rares ou elles sont sensibles.

L'étude réalisée par **OUSSALAH** permis de déterminer un pouvoir important bactéricide sur quatre bactéries pathogènes parmi elles on a *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*. .

(**SELADJI ,2014**) a évalué la sensibilité de quelques bactéries vis-à-vis de l'huile essentielle du clou de girofle, les résultats ont montrés que les souches bactériennes Gram(-) testées sont très sensibles a l'huile essentielle du clou de girofle notamment *Proteus*,

Pseudomonas, *Acinetobacter*, *Klebsiella* et *Escherichia coli*, en revanche l'huile essentielle du clou de girofle n'a pas révélé une activité antibactérienne contre *Staphylococcus aureus*.

Les travaux de **(BENFEKIH,2015)** ont montrés une activité moyenne vis-à-vis des bactéries Gram (-) zone d'inhibition (10.5mm et 15mm) pour l'huile essentielle du clou de girofle et aucune activité vis-à-vis de la bactérie *Staphylococcus*.

Selon le même auteur l'activité antibactérienne de l'huile essentielle du clou de girofle est évaluée contre quatre souches parmi elles *Pseudomonas* et *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus* en utilisant la méthode de diffusion sur disque. L'huile essentielle du clou de girofle a montrée une forte activité contre *Acinetobacter*, *Pseudomonas* et *Escherichia coli*.

Toutes les études effectuées par ses auteurs concordent avec nos résultats sauf *Staphylococcus aureus* qui a montré une résistance vis à vis de l'huile essentielle du clou de girofle.

Les résultats de **(BEN HASOUNA et HAMDI,2012)** ont montrés que l'huile essentielle du clou de girofle a un grand potentiel d'activité antimicrobienne contre le micro-organisme. Le maximum de diamètre de zone d'inhibitions pour les souches bactériennes qui étaient sensibles se trouvent dans la gamme de (10.5mm et 22 mm), il est noté chez les bactéries Gram (-) des diamètres 13 et 14 mm pour *Klebsiella*, effectivement ça concorde avec nos résultats à l'exception de *Staphylococcus* qui est résistante.

L'étude de **(GHANNADI et al .,2012)**, a montré que toutes les souches bactériennes testées sont sensibles vis-à-vis de l'huile essentielle du clou de girofle, toutes ses souches sont également sensibles vis-à-vis des antibiotiques utilisés dans notre travail à l'exception de *Staphylococcus aureus* qui est résistante.

Selon **(CARMEN et HANCU ,2014)**, l'intensité de l'effet de l'huile essentielle du clou de girofle est variable selon les souches étudiées toutes les bactéries Gram(-) sont sensibles elles ont montrées le plus grand diamètre de zone d'inhibition qui est 19.5mm.

Toutes ces études sont en accord avec nos études pour l'huile essentielle du clou de girofle qui ont révélées des zones d'inhibitions différentes envers toutes les souches Gram (-) et résistante envers les bactéries Gram (+) telle que *Staphylococcus aureus*.

Les bactéries Gram (-) résistent à l'effet inhibiteur des huiles essentielles et leur composants. Cette résistance peut s'expliquer du fait que la paroi cellulaire d'une bactérie, les Gram (-) a une membrane extérieure qui recouvre la couche peptidoglycane qui est mince coincée entre la membrane plasmique et une assise de couche de lipopolysaccharides et de protéine.

Selon **(LECLERC et al ., 1995)**, la membrane externe de lipopolysaccharides des bactéries à Gram (-) constitue une barrière d'imperméabilité aux substances hydrophobes,

susceptible la croissance bactérienne .cependant l'absence de cette membrane chez les bactéries Gram (+) du fait que la couche de peptidoglycane se situe à l'extérieur ce qui permet à la bactérie d'être plus sensible à entrer en contact avec les H .ES(**BURT ,2004**). De plus, comme propriété très répandue chez les bactéries à Gram (-),elles présentent aussi des protéines membranaires appelées pompes à efflux qui expulsent l'agent antimicrobien hors de la cellule avant qu'il puisse agir(**LOUCIF ,2011**).

Exemple : L'activité antibactérienne s'exerce de 2 manières différentes :

- ❖ Activité létale bactéricide : elle rend perméable la membrane du micro – organisme, provoquant une fuite d'ion K^+ , ce qui implique la perte de l'osmose de la cellule suivi de la mort du micro-organisme
- ❖ Activité inhibitrice ou bactériostatique : empêche la croissance du micro-organisme.

Les mécanismes par lesquels les H.ES exercent leur activité antimicrobienne sont mal connus. Du fait de la complexité de leur composition chimique, il est difficile de donner une idée précise sur le mode d'action des H. ES. il est probable que leur activité antibactérienne ne soit attribuable à un mécanisme unique, mais plusieurs sites d'action au niveau cellulaire (**DORMAN AND DENS ,2000**).

Selon (**BENAYAD, 2008**) les phénols possèdent le coefficient antibactérien le plus élevé d'aldéhydes.

(**BURT ,2004**) a avancé que la caractéristique importante des H.ES. est attribuée à l'hydrophobicité de certains de ses composants qui leur permet de traverser facilement la bicouche phospholipidique de la membrane cellulaire en altérant sa perméabilité et entraînant des pertes anormales d'ions, voir même des macromolécules.

Selon **DELAQUIS et al**, il est très difficile de faire généralisation du fait que chaque essence est unique de sa composition de chaque bactérie diffère considérablement l'une de l'autre en structure et en fonctionnalité.(**FERAH et al ., 2002**) ont rapporté que l'efficacité microbienne d'une huile essentielle est due à la nature et à la teneur de ses différents constituants qui peuvent agir en synergie.

La nature des composés très volatils et instables, surtout s'ils sont riches en hydrocarbures insaturés, les huiles essentielles doivent être stockées dans des conditions adéquates, permettant de conserver leurs propriétés chimiques ainsi que physiques. La chaleur, la lumière (UV solaires) et l'O₂ de l'air favorisent l'oxydation des huiles essentielles ce qui entraîne une dénaturation de leurs molécules actives notamment polyinsaturées, et donc une perte réelle d'activité.

Conclusion et perspectives

Ce travail a été mené dans le cadre de l'étude de l'activité antibactérienne des huiles Essentielles de clou de girofle.

Les résultats indiquent cette dernière a exercé une activité antibactérienne importante à l'encontre des six bactéries étudiées : *Escherichia coli*, *Proteus*, *klebsiela*, *Acenitobacter*, *Pseudomonas*, à l'exception de *Staphylococcus aureus* qui a révélé une résistance vis-à-vis de l'huile essentielle clou de girofle.

L'ensemble des résultats obtenus *in vitro* ne constituent qu'une première étape dans la Recherche de substances de source naturelle biologiquement actives. Il serait donc intéressant de continuer ces travaux par :

- ❖ Une analyse de la composition chimique des deux huiles essentielles par différentes techniques d'extractions.
- ❖ Une étude de l'effet de huiles essentielles clou de girofle.
- ❖ L'application de huiles essentielles clou de girofle sur des bactéries et de champignons.
- ❖ L'étude de la toxicité de ces huiles essentielles.

Références bibliographiques

- **ABADLIA M. et CHEBBOUR A. H. (2014)** . Etude des huiles essentielles de la plante mentha piperita et tester leurs effets sur un modèle biologique des infusoires. Université Constantine 1.
- **ALEKSHUN M. N., LEVY S.B.** Molecular mechanisms of antibacterial multidrug resistance.
- **AFLATUNI, (2005).** *Caractérisations chimiques et biologiques d'extraits de plantes aromatiques oubliées de Midi-Pyrénées*

- 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.

- ALVAREZ-CASTELLANOS et al.,(2003).** *L'aromathérapie chez le nourrisson et le petit enfant.* Université de Nantes faculté de Pharmacie.

- **ANDREWS J. M. (2001)** . Determination of minimum inhibitory concentrations. J. Antimicrob. Chemother, 48 Suppl 1, 5-16.

- ASSAD, LOPES.(1997).** *Extraction des plantes aromatique médicinales cas particulier de l'entraînement à la vapeur d'eau et ses équipements. Manuel pratique. Huiles essentielles : de la plante à la commercialisation.*
- **B. Y. K. SEUTHY, B. M. GURUPADAYYA, VENKATA S. K., T. NARENDRA KUMAR. (2014).**development and validation of GC for estimation of eugenol in clove extract vol 6 issue (academic sciences).
- BAKKALI F., AVERBECK S., AVERBECK D., IDAOMAR M.(2008)** . Food and Chemical Toxicology, 46, 446-475.
- **BASSET F. (1995).** Huile essentielle : un marché et une problématique mondiale, parfums cosmétiques, Arômes, 121, p.51-58.
- **BAUDOUX D. (2002).**L'Aromathérapie. Se soigner par les huiles essentielles (Amyris, Bruxelles ed.).

- BAUDOUX D.** (1997). «Aroma News», Lettre d'information de N.A.R.D.: Natural Aromatherapy Research and Development, Belgique.
- **BAUDOUX D.(2001).** pharmacien aromathologue. Les cahiers pratiques d'aromathérapie selon l'école française, Vol 1: Pédiatrie, Collection « l'aromathérapie professionnellement ». Edition AMARYS, Belgique.
- **BAUDOUX D. (2003)** pharmacien aromathologue. Le formulaire d'aromathérapie pratique pour le prescripteur et le conseil pharmaceutique. Ed Inspir-Development, Luxembourg, Nouvelle édition.
- **BELAICHE P. (1979)** Traitement du Zona in Annales de médecine de Terrain, 1er semestre.
- **BELOUD A.(2003).** Plante médicinales d'Algérie. Offices des publications universitaires, p.144-145.
- **BEN HSOUNA A. HAMDI N.(2012).** Phytochemical composition and antimicrobial activities of the essential oils and organic extracts from pelargonium graveolens growing in Tunisia. *Hosanna and Hamdi Lipids in Health and Disease*. 11-167.
- **BENAZZEDDINE S. (2010).** Effet insecticide de cinq huiles essentielles vis-à-vis de *Sitophilus oryzae* (Coleoptera; Curculionidae) et *Tribolium confusum* (Coleoptera; Curculionidae). Ecole nationale supérieure agronomique El- Harrach d'Alger, Memoire Online.
- BENJILALI B. (2004).**Extraction des plantes aromatiques et médicinales cas particulier de l'entraînement à la vapeur d'eau et ses équipements. Manuel pratique. Huiles essentielles: de la plante à la commercialisation.
- BERNARD T. ; PERINEAU F. , BRAVO P. , Delmas M. et GASET A.(1996)** «Informations chimie», Oct., n° 298, 179.
- **BINACHI.(2004) :** Chemical composition and fungicidal activity of commercial essential oils of *thymus vulgaris* L J. *Essent Oil Res* 16(1),p 69-7.
- BRUNETON J.(1999)** « Pharmacognosie », Plantes médicinales, Ed. Lavoisier, Techniques et documentation, Paris, 405.
- **BRUNETON J. (1999)** Pharmacognosie «Phytochimie Plantes» médicinales 3^{eme} éd, Tec et Doc, Paris- pp 484-540 (livre).
- BUDAVARI S. , O'NEIL M. J. , SMITH A. , HECKELMAN P. E. , KINNEARY J. F.** (1996) The Merck Index-Twelfth edition, Whitehouse Station : Merck and Co, INC , 2350.
- **BURT S. A.(2004).** Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods. A review. *Int. J. Food Microbiol.* 94, 223-253.

- **CAILLET et LACROIX, (2007).** *Aromatic and medicinal plants—their agricultural and medicinal products*

- **CARILLON A. (1987)** Pour un bon usage des plantes, phytothérapie, aromathérapie ... comprendre et agir: des médecines familiales efficaces au service de votre santé. Edition Vie et Santé, , Dammarie les Lys.
- **CARMEN G. HANCU G.(2014).** Antimicrobial and antifungal activity of *Pelargonium roseum* Essential Oils. *Adv Pharm Bull*, 4(Suppl 2), 511-514.
- CAVACO L. M., HASMAN H., XIA S., AARESTRUP F. M. (2009)** D, a novel gene conferring transferable quinolone resistance in *Salmonella enteric* sérovar Kentucky and *Bovismorbificans* strains of human origin. *Antimicrob. Agents Chemother*, 53, 603-608.
- CAVALLO J. D. MERENS A.(2008)** Antibacterial spectrum of an antibiotic and clinical categorization. *Pathol. Biol.*, , 56, 300-304.

- CORTEAU, (1988)** Caractérisations chimiques et biologiques d'extraits de plantes aromatiques p .70-71.

- **COUIC -MARINIER F. et LOBSTEIN A. (2013).** Les huiles essentielles gagnent du terrain à l'officine. *Actualités pharmaceutiques*.
- DALE POULTER C., MARSCLE L., HUGHES J. M. et ARGYLE J. C. J. (1977)** *Am. Soc.* 99, 3823.
- **DANIELLE C.; 2011.** Fiche Technique Bactériologie: *Enterobacter cloacae*. Laboratoire de Bactériologie Hygiène Toulouse. pp1-2.
- **DARBAS H. (2007).** Diagnostic et suivi des infections urinaires: le bon usage de l'examen cytobactériologique des urines. Faculté de Médecine Montpellier-Nîmes. France.
- **DAVET P. ROUXEL F. (1997).** Détection et isolement des champignons du sol, Paris.Cedex07, p147.
- DEGRYSE A. C .,DELPLA I. , VOINIER M .A(2008).** «Atelier Santé Environnement, risques et bénéfices des huiles essentielles», IGS. EHESP.
- **DELAQUIS P.J., STANICK K., GIRARD B., MAZZA G., 2002.** Antimicrobial activity of individual and mixed fraction of Dill, Cilantro, Coriander and Eucalyptus Essential oils. *IntJ of Food Micro.* 74, 101-109.

- DEANS. (1990),FARAG (1989).** *L'aromathérapie, santé et bien être par les huiles essentielles* (Albin Michel, Paris ed
- DORMAN H. J. D., DEANS S. G.,(2000).** Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *J. Appl. Microbiol.* 88(2), 308-16.
- EDRIS et al .,(2003)** «Opportunités de marché. Filière Huiles Essentielles Région Atsinana».
- EL ABED. KAMBOUCHE N. (2003).** Les huiles essentielles gagnent du terrain à l'officine. *Actualités pharmaceutiques*
- FARAH A. SATRANI B. FECHTAL M. ABDELAZIZ CHAOUCH A. TALBI M. (2001).** Composition chimique et activités antibactérienne et antifongique des huiles essentielles extraites des feuilles d'Eucalyptus camaldulensis et de son hybride naturel (clone 583). *Acta Botanica Gallica.* 148 (3), 183-190.
- FARAG et al.,(1989) ,DEANS,(1990** Volatile constituents of needles of five *Pinus* species grown in Greece. *Phytochemistry.*
- FINAR I. L.(1994)** «Organic chemistry», Ed. Longman Scientific et Technical 1994, Vol. II, 354.
- FRANCHOMME P. et PENOEL D. (1990)** L'aromathérapie exactement, encyclopédie de l'utilisation thérapeutique des huiles essentielles. Ed Jollois, Limoges.
- GARNEAU F. X., (2005).** Le matériel végétal et les huiles essentielles (Laseve-UQAC, Chicoutimi ed.)
- 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
- GHANNADI A. BAGHERINEJA D. ABEDI D. JALALI M. ABSALAN. SADEGHI N. (2012).** Antibacterial activity and composition of essential oils from *Pelargonium graveolens* L'Her and *Vitex agnus-castus* L. *Iranian J of Micro.* 4 ,171-176.
- GUARDABASSI L. COURVALIN P.(2006)** Modes of antimicrobial action and

mechanisms of bacterial resistance. In: Aarestrup F.M. (Ed.), Antimicrobial resistance in bacteria of animal origin. ASM Press: Washington.

-**GUIGNARD J. L.** (2000),; « Biochimie végétale », Masson, Paris, 166.

-**HAJJI S., BELIVEAU J., SIMON D.**(1985) Actes - Colloq. Int. Plant. Aromat. Med. Maroc, 229-230.

- **M.hakki Alma. Murat ertas.** Siegfrie; Nitz and Hubert Kollmansberger

Chemical composition and content of essential oil from th Bud of cultivated Turkish clove (*syzygium aromaticum L*).

- **HAMBURGER J.**(1979). Petite encyclopédie médicale. Guide de pratique médicale, 15ème edition; Edition Flammarion. PP: 713-1402.

- **KHADIJA RHAYOUR, 2006.** Etude du mécanisme de l'action bactericide des huiles essentielles sur *Escherichia coli*. These présentée en vue de l'obtention du Doctorat National.

-**KIMBARIS A. C., SIATIS 3N. G., DAFERERA D. J., TARANTILIS P. A., PAPPAS C. S., POLISSIOU M. G.**(2006) Ultrasonics Sonochem. 13, 54-60.

- **KOROCH A. RANARIVELO L. BEHRA O. JULIANI H. R. et 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. Whipkey. ASHS Press, Alexandria, VA, pp 338-341.

- **KUBAB N. (2009).** MEM Examens biologiques. Edition Lamare; France. PP: 123-124.

-**KUMAR A., SCHWEIZER H. P. (2005)**Bacterial resistance to antibiotics: active efflux and reduced uptake. Adv. Drug Deliv. Rev., 57, 1486-1513.

-**LAKHDAR L. (2015).**Evaluation de l'activité antibacterienne d'huiles essentielles Marocaines sur *aggregatibacter actinomycetemcomitans* : étude in vitro. Faculté de médecine dentaire de Rabat, centre d'études doctorales des sciences de la vie et de la santé

-**LAMENDA H. (2004).** Huiles essentielles en diffusion atmosphérique.

- **LECLERC H. GAILLARD J. SIMONET M.**(1995).Microbiologie générale : la bactérie et le monde bactérien. Doin éditeurs-paris. 535.

-**LI X. Z., NIKAIDO H. (2004)** Efflux-mediated drug resistance in bacteria. Drugs, , 64, 159-204.

- **LOUCIF K.**(2011). Recherche de substances antibactériennes à partir d'une collection de

souches d'actinomycètes. Caractérisation préliminaire de molécules bioactives. Université Mentouri Constantine Algérie.

. **VERSCHAFFELT et TAHL. (1915)** Les huiles essentielles ça marche ! Avec 78 formules à commander en pharmacie,

LEDUC.S EDITION,

-LUQUE DE CASTRO M. D., JIMENEZ-CARMONA M. M. et FERANDEZ-PEREZ (1999) V.Trends Anal. Chemical, p18, 708.

-(MADHAVI et al (1996). Microbiologie générale : la bactérie et le monde bactérien. Doin éditeurs-paris. 222.

- **M. HAKKI ALMA, MURAT ERTAS, SIEGFRIE, NITZ et HUBERT KOLLMANSBERGER;** Chemical composition and content of essential oil from the Bud of cultivated Turkish clove (*syzygium aromaticum L*).

- **MARCHAL N.(1992).** Initiation à la microbiologie. Dunod, Paris.

- **MILLENIUM CHALLENGE ACCOUNT (MCA)(2000).** «Opportunités de marché. Filière Huiles Essentielles Région Atsinana», Madagascar. .

MOCKUTE ETAL et al., (2001). Laboratory Methods of Organic Chemistry, New York, the Macmillan Company.

MULTON (2002) Evaluation of the Antioxidant Activity of Different Flavonoids by the Chimiluminescence Method. AAPS. *Journal of Pharmaceutical Science*.

-NIKAIDO H.(2009) Multidrug resistance in bacteria. Annu. Rev. Biochem 78, 119-146.

- **OUSSALAH M ,CAILLETS S ,SAUCIER .(2007)** inhibitory effects of selected essential oils on the growth of four pathogenic bacteria : *Escherichia coli* .

-PARE J. R. J. (1994) CA Pat. 2055 390.

-PHARMACOPEE EUROPEENNE, 3Ed. 1999, 103-130.

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

- **PONCE A.G. FRITZ R. DEL VALLE C. CARLOS CAVALEIRO. LIGIA SALGUEIRO. (2003).** Antifungal activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *Leben-Wissen and tech.* 36,679-684.

- POOLE K.(2001)** Multidrug resistance in gram-negative bacteria. *Curr. Opin. Microbiol.*, 4, 500-508.

- RHAYOUR (2006):** Bactériologie générale et médicale.Elleipsesedition Marketing.

- **RAFI A., TASNEEM U. S. et ASHFAQ A.; (1995).**The essential oils. Hamdard Medicus(Hamdard Medicus ed.).
- RAKOTOATIMANANA B. 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.
- RICHARD J. A. (1992)** Toxicology Brief.
- **RICHET G.(1988).** Néphrologie. Edition Ellipses; Paris. PP: 211-227.
- RICHTER G.(1993)** « Métabolisme des végétaux », Physiologie et Biochimie. Presses polytechniques et universitaires, Romandes, , 292.
- ROBICSEK A., JACOBY G. A., HOOPER D. C. (2006)**The worldwide emergence of plasmid-mediated quinolone resistance. *Lancet Infect. Dis.*, a, 6, 629-640.
- RODRIGUEZ-MARTINEZ J. M., VELASCO C., BRIALES A., GARCIA I., CONEJO M.C., PASCUAL A.(2008)** Qnr-like pentapeptide repeat proteins in gram-positive bacteria. *J. Antimicrob. Chemother*, 61, 1240-1243.
- SAGDIC et al., (2003).** Efflux-mediated drug resistance in bacteria. *Drugs*, 2000, 64, 120-300.

- SALLE J. L. (1991)** «Les huiles essentielles : Synthèse d'aromathérapie et introduction à la sympathicothérapie», Edition Frison – Roche, Paris k21.
- SCHWARZ S. SILLEY P. SIMJEE S. WOODFORD N VAN DUIJKEREN E. JOHNSON A. P. GAASTRA W.(2010)** Editorial: assessing the antimicrobial susceptibility of bacteria obtained from animals. *J. Antimicrob. Chemother.* , 65, 601-604.

- **SELADJI D. (2014).** Compositions chimiques, propriétés antimicrobiennes et antioxydantes des huiles essentielles des racines de trois *pinaceae* d'Algérie. Mémoire de Master en Chimie. Université de Tlemcen, Algérie.
- SEU-SABERNO M., BLAKEWAY J.(1983)** « La mousse de chêne, une base de la parfumerie », Pour la science, Edition Française de Scientific American, 83.
- **SHIRNER M (2004)** Les huiles essentielles: description et utilisation de plus de 200 huiles essentielles et huiles végétales. Guy Trédaniel Editeur. Paris, p. 324.

- SRUTHI. B. Y. K. (2014)** development and validation of GC for estimation of eugenol in clove extract vol 6 issue (academic sciences) .

- TOMPSON et al.,(2003).** Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in food and biological systems. *Food Science and Technology International*.

- VASCONCELOS et al., (1999)** Néphrologie. Edition Ellipses; Paris. PP: 350-411.

- VERNON F. et RICHARD H; Juillet (1976).** «Quelques épices et aromates et leurs huiles essentielles», vol 2, série synthèses bibliographiques N°10, Centre de documentation internationale des industries utilisatrices de produits agricoles (C.D.I.U.P.A.).
- WANG M., GUO Q., XU X., WANG X., YE X., WU S., HOOPER D. C.(2009)** New plasmid mediated quinolone resistance gene, qnrC, found in a clinical isolate of *Proteus mirabilis*.Antimicrob. Agents Chemother 53, 1892-1897.
- WILLEM C. T., 2004** ; « Les huiles essentielles, médecine d'avenir », Ed : Estem, Paris.

- WILLEM J. P. (2004)** « Les huiles essentielles, médecine d'avenir », Ed : Estem, Paris, 318.
- WRIGHT S., KEELE C. A. et NEIL E. (1998).** Physiologie appliquée à la médecine. Edition Flammarion Médecine-Sciences.
- YADAZ MK. (2015)** MK.chae j.e genol a compound effective against mitchicillin resistant and sensitive *Streptococcus aureus* clinical strains biofilms .

Annexe : Composition des solutions et milieux de culture utilisés

- **Eau physiologique stérile**

Composition en g/l :

Chlorure de sodium (NaCl) 9g

Eau distillée 1000ml

pH=7

Stérilisation à 121°C/15min.

- **Gélose Mueller Hinton (MH)**

Composition en g/l

Extrait de viande.....3g

Hydrolysate acide de caséine17,5g

Agar18g

pH=7,4

Stérilisation à 120°C/15 min

- **Gélose nutritive (GN)**

Composition en g/l

Peptone10g

Extrait de viande.....3g

Extrait de levure3g

Chlorure de sodium5g

Agar18g

pH=7,2±0,2

Stérilisation à 120°C/15 min

- **Gélose Chapman**

Composition en g/l

Extrait de viande.....1g

Extrait de levure3g

Tryptone5 g

Peptone bactériologique10g

Mannitol	10g
Rouge de phénol.....	0,025g
Agar	15g

pH=7,4
Stérilisation à 120°C/15 min

• **Gélose Hecktoen**

Composition en g/l

Peptone pepsique de viande	15g
Extrait de viande.....	3g
Extrait de levure	3 g
Lactose.....	3
Salicine	2g
Saccharose	12g
Chlorure de sodum	5g
Thiosulfate de sodum	5g
Citrate de fer ammoniacal	1,5g
Sels biliaires	4g
Bleu de bromothymol.....	0,064g
Fuschine acide	0,1g

pH=7,4
Stérilisation à 120°C/ 15 min

Résumé

- L'huile essentielle, occupe une place de plus en plus importante, pour leurs nombreuses propriétés médicinales et à sa composition en substances de compositions chimiques très diverses.
- Au terme de mon étude effectuée sur les six souches bactériennes :
- L'étude de l'activité antibactérienne en utilisant les antibiotiques sur six souches bactériennes suivantes : *staphylococcus*–*Escherichia coli* -*Pseudomonas*-*Acinetobacter* -*klebsiella*- *Proteus*.
- L'étude de l'activité antioxydante : Certains constituants des huiles essentielles présentent un pouvoir antioxydant très marqué et sont aujourd'hui commercialisés.
- L'huile essentielle extraite de clou de girofle possède un pouvoir inhibiteur sur certaines bactéries.

Les mots clés : l'huile essentielles –activité antioxydante –activité antibactérienne.

Summary

The essential oils are occupying an important place for their several properties, their composition

With diverse chemical substances, in terms of study done on bacterial strains :

- The study of the antibacterial activity by using antibiotics on bacterial strains.
- The study of the antioxidant activity : the constituent of essential oil presents a powerful antioxidant and they are commercialized.
- The essential oil extracted from clove has a great power on some bacteria

Key – word : essential oils - the antioxidant activity –antibacteria