

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
REpubLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

جامعة 20 اوت 1955- سكيكدة

UNIVERSITE 20 AOUT 1955- SKIKDA



Faculté des Sciences
Département des Sciences de la Nature et de la Vie

Mémoire Présenté en Vue de l'Obtention du Diplôme de Master

Filière : Sciences Biologiques
Spécialité : Microbiologie appliqué
Intitulé

Étude de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle du
clou de girofle (*Syzygium aromaticum*) contre les bactéries
impliquées dans les infections urinaires.

Présenté par :

- Ali Laouar Aya
- Boukandoura Sirine
- Boulfissene Amira
- Hassaine Maria

Membre de Jury:

Mr. Laib Messoud (MCA)	Président	Univ. du 20 Août 1955 – Skikda
Mme. Heni Sonia (MCA)	Promoteur	E.N.S.E.T– Skikda
Mme. Becheker Imen (MCA)	Examinatrice	Univ. du 20 Août 1955 – Skikda

Année universitaire 2022/2023

Remerciements

*D'abord Nous Remercions Dieu Tout Puissant, Maitre Des Cieux Et De Terre, Qui Nous A
Permis de mener à bien ce travail.*

*Nos vifs remerciements vont également aux membres du jury de soutenance composés du président
Mr. **Laïb Messoud** et Examinatrice Mme. **Becheker Imen** Pour l'intérêt qu'ils ont porté à notre
recherche en acceptant d'examiner notre travail et de l'enrichir par leurs propositions.*

*Nous tenons à remercier notre encadreur Mme **Heni . Sonia** ; Tout au long de ce processus, votre
engagement à nous guider et à nous conseiller a été d'une importance capitale. Vos connaissances
approfondies dans le domaine, votre passion pour la recherche et votre capacité à transmettre vos
idées de manière claire et concise ont grandement enrichi nos expériences.*

*Je tiens également à souligner votre disponibilité et votre patience à répondre à nos questions, à
discuter de nos idées et à me fournir des commentaires constructifs.*

*Votre conseil et son aide durant toute la période du travail. Pour l'orientation, la confiance, la
patience qui a constitué un apport considérable sans lequel ce travail n'aurait pas pu être menée
au bon part. Qu'il trouve dans ce travail un hommage vivant à votre haute personnalité.*

*Nos remerciements s'étendent également à tous nos enseignants durant les cinq (5) années des
études, en particulier Mme **Machia. Leila** Un grand merci à vous pour avoir eu la patience de
répondre à nos questions, votre collaboration a été précieuse et a enrichi nos recherches, Vos
commentaires éclairés et vos suggestions constructives m'ont permis d'améliorer la qualité de notre
travail.*

*Enfin nous tenons à remercier également les personnes administratives et tous ceux qui contribuer
de près ou de loin à l'élaboration de ce thème.*

♥ *Sirine, Aya, Maria, Amira* ♥

♥ Dédicace ♥

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude à ♥Allah le Tout Puissant ♥ qui m'a tracé le chemin de ma vie, pour m'avoir accordé la force et la patience nécessaires tout au long de mon parcours. Sa guidance et Sa miséricorde ont été des sources inépuisables de soutien et de motivation.

♥ A mon père Mr. *Hafid*. B ♥

J'ai vécu dans l'admiration de ta grande personnalité et de ta bonté, pour ta sagesse, tes conseils avisés et ton amour inconditionnel. Tu as été mon roc, mon modèle et mon guide tout au long de ma vie. Tes encouragements et ta confiance en moi m'ont donné la force de persévérer et de réaliser mes rêves. Je te suis infiniment reconnaissant pour tout ce que tu as fait et continue de faire pour moi.

♥ A ma mère Mme. *Hayat*. B ♥

Je suis rempli d'une gratitude immense pour ton amour infini, ta patience Tu as été mon pilier de force, tu as toujours cru en moi lorsque je doutais de moi-même. Tes prières et ton soutien constant ont été des bénédictions dans ma vie et je te remercie du fond du cœur pour tout ce que tu as sacrifié pour mon bonheur et ma réussite.

Dieu le tout puissant, te protège et t'accorde meilleure santé et longue vie,

J'ai la fierté d'être ta fille

♥ À mon cher frère *Islem* et ma chère sœur *Rayane* ♥

Je suis extrêmement reconnaissant pour votre amour fraternel, votre soutien, vous avez été mes compagnons de route, mes confidents et mes plus grands partisans. Je suis honoré d'avoir des frères aussi formidables que vous.

À ma famille ♥.....

Chaque moment partagé ensemble est précieux je suis profondément reconnaissante d'avoir une belle famille, aimante et attentionnée que vous, votre présence illumine ma vie et. Je vous porte dans mon cœur et je suis bénie de faire partie de cette belle famille.

*À mes amis *Ikram, Aya, Khawla, Nihel, Ines, Aya, Rihab, Maria, Amira, Khouloud**

Chacun de vous a apporté une couleur unique à ma vie, des moments de joie partagés, des éclats de rire inoubliables et des moments de complicité qui resteront gravés dans ma mémoire pour toujours. Que notre lien demeure fort et que nous continuions à toute la vie.

♥ ♥ Mes trinômes de ce travail *Aya, Maria, Amira*

Nous avons vécu des moments inoubliables, et je suis heureuse de connaître des amies comme vous. Je vous souhaite un avenir plein de joie, de bonheur et de succès

♥ *Sirine* ♥

Je remercie tout d'abord « Allah » le tout puissant de m'avoir donné, la patience et la volonté pour réaliser ce modeste travail. Du profond du mon cœur, je dédie ce travail à tous ceux qui me sont chers.

À mon très cher PAPA qui a toujours cru en moi et mis à ma disposition tous les moyens nécessaires pour que je réussisse, aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours eu pour lui. Je le remercie vivement pour son soutien. J'espère que je suis à la hauteur de ce qu'il attend de moi.

À ma chère MAMAN qui aurais été fière de ma réussite. Tous les mots du monde ne sauraient exprimer l'immense amour que je vous porte.

Maman, ni la profonde gratitude que je vous témoigne pour tous les efforts et le Sacrifices que vous n'avez jamais cessé de consentir pour mon instruction et mon Bien-être. Je vous rends hommage par ce modeste travail en guise de ma Reconnaissance éternelle et de mon infini amour.

À mes frères, aucune dédicace ne saurait exprimer tout l'amour que j'ai pour Vous, Votre joie me comble de bonheur. Puisse Dieu vous garde, éclaire votre Route et vous aide à réaliser vos vœux les plus chers.

Ainsi que mes sincères remerciements mes chères amies en particulier mes trinômes de ce travail (Sirine, Aya, Maria) pour leurs patiences et leurs ténacités durant les bons et parfois les durs moments qu'on a passée ensemble. Pour Leurs générosités, leurs efforts pour notre travail. Puisse Dieu, le Très Hauts. Je vous souhaite un avenir plein de joie, de bonheur et de succès.

Je tiens également à remercies tous mes collègues d'études. Pour tous les moments qu'on a partagés et pour l'ambiance qu'on a vécue pendant ces cinq dernières années, Je n'oublierai jamais l'expérience que j'ai vécue avec eux.

À toutes personnes qui m'a aidé d'un mot, d'une idée ou d'un Encouragement d'un geste si petit soit-il. À tous ceux que je vais oublier, je m'en excuse et je vous remercie aussi.

Amira

*Louange à Dieu tout puissant, qui m'a permis de voir ce jour tant attendu .Tout d'abord, je tiens à remercier **Dieu** De m'avoir donné la force et le courage de mener à bien ce modeste travail. Je dédie ce travaille*

A ma très chère mère **ZINA**

Je suis fier parce que j'ai une mère comme toi, et je suis reconnaissant pour tout ce que tu m'as donné. Tu m'as contenu avec ton amour et ta tendresse. Je n'oublierai jamais tes prières continues pour moi, et que tu as cru en mes capacités et encouragé moi, ce qui a augmenté ma force. Je t'aime, ma mère, et que Dieu te protège pour moi et prolonge ta vie.

A mon très cher père **ABD EL Halim .H**

Pour ces encouragements, son soutien, surtout pour son amour et son sacrifice afin que rien n'entraine le déroulement de mes études

*A mes sœurs **ENAME & RAYEN*****

Merci pour m'avoir toujours supporté dans mes décisions. Merci pour tout votre amour et votre confiance, pour m'avoir aidé à ranger mon éternel désordre Je vous aime beaucoup

*A toute ma famille **HASSAINE****

*A toute ma famille **TADJER***

*Aucun langage ne saurait exprimer mon respect et ma considération pour votre soutien et encouragements. Je vous dédie ce travail en reconnaissance de l'amour que vous m'offrez quotidiennement et votre bonté exceptionnelle. Que Dieu le Tout Puissant vous garde et vous procure santé et bonheur**

*A Mes chère tante paternelle **Soumia & Fatima***

A Mes tante maternelle **Saida & Fatima*

*A mes cousines **Malak & Ayda** vous êtes pour moi des sœurs*

*A mes amies, **Aya, Amira et Sirine.***

*Nous avons vécu des moments inoubliables, et je suis heureuse de connaître des amies comme vous.
Je vous aime tellement*

Maria

Je remercie tout d'abord « Allah » le tout puissant de m'avoir donné, la patience et la volonté pour réaliser ce modeste travail

♥ *À mon père A. **Abed El Aziz*** ♥

Tu es la boussole qui a guidé mes pas et la force qui m'a soutenu tout au long de ma vie. Ton amour inconditionnel et tes conseils sages ont façonné la personne que je suis aujourd'hui. Merci d'avoir toujours été là pour moi, prêt à écouter et à me soutenir. Tu es mon héros et mon roc, et je suis incroyablement reconnaissant de t'avoir comme père. Cette dédicace est un témoignage de mon amour éternel et de ma gratitude infinie. Je t'aime plus que les mots ne peuvent le dire. Sans toi, je n'en serai sûrement pas là, j'espère que tu seras toujours fière de moi,

♥ *À ma merveilleuse **maman B. Ghania*** ♥

Tu es la source infinie d'amour, de soutien et de réconfort dans ma vie. Chaque jour, tu as été présente pour moi, m'insufflant ta force et ta douceur. Tu es ma confidente. Ta bienveillance et ton dévouement sont des trésors inestimables que je chéris chaque jour. Merci d'être la meilleure maman du monde.

♥ *À Mes chers **grands -parents*** ♥

Qui m'ont soutenu Jusqu'à la fin de mes études, qui m'ont aidée et entouré d'amour avec fierté

♥ *À Mes sœurs* ♥ ♥ *Mes frères* ♥

Alaa et Afnane, Mouhamed et Ahmed

Merci pour m'avoir toujours supporté dans mes décisions. Merci pour tout votre amour et votre confiance. Puisse Dieu vous garde, éclaire votre Route et vous aide à réaliser vos vœux les plus chers.

♥ *À Ma famille* ♥

Soumia, Lamia, Inas** et leurs enfants, ma cousine **Oumaima

Chaque moment partagé ensemble est précieux je suis profondément reconnaissante d'avoir une belle famille, aimante et attentionnée que vous, votre présence illumine ma vie et. Je vous porte dans mon cœur et je suis bénie de faire partie de cette belle famille. Merci pour tout votre amour

♥ *À Mes amies,* ♥

***Sirine, Houda, Rahma, Inas, Ikram, Ahlem, Aya, Khawla** Chacun de vous a apporté une couleur unique à ma vie, des moments de joie partagés, des éclats de rire inoubliables et des moments de complicité qui resteront gravés dans ma mémoire pour toujours. Je vous aime tellement*

♥ *Mes trinômes de ce travail (**Sirine, Maria, Amira**)* ♥

Nous avons vécu des moments inoubliables, et je suis heureuse de connaître des amies comme vous. Je vous souhaite un avenir plein de joie, de bonheur et de succès.

Aya

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction	1
--------------------	---

Partie 01 : Synthèse bibliographique

I. *Syzygium aromaticum*

1. Historique	2
2. Origine	2
3. Classification botanique giroflier	2
4. Description de la plante	3
5. Nomenclature de la plante giroflier	3
6. Culture et production	4
6.1. Culture	4
6.2. Production	4
7. Usage traditionnelle	5
8. Utilisation de clou de girofle.....	6
8.1. Domaine médicinale	6
8.2. Domaines culinaires	6
8.3. Domaines cosmétique	6
9. La toxicité de girofle	6

II. Les huiles essentielles

1. Définition	7
2. Répartition et localisation	7
2.2. Répartition	7
2.3. Localisation	7
3. Chimie des huiles essentielles	7
3.1. Les terpènes	8
3.2. Les composés aromatiques.....	8
4. Classification des huiles essentielles	8
5. Méthodes d'extraction des huiles essentielles	9

5.1. Hydrodistillation	9
5.2. Entrainement à la vapeur d'eau	10
5.3. Hydro-diffusion	11
5.4. Extraction par fluide supercritique	12
5.5. L'extraction assistée par micro-onde	12
5.6. Extraction par ultrasons ou sonication	13
5.7. L'enfleurage	13
6. Activités biologiques des huiles essentielles	13
6.1. Activité antibactérienne des HEs	13
7. Domaines d'utilisations	14
8. L'huile essentielle de clou de girofle	14
8.1. Définition	14
8.2. Propriétés physiques et Composition chimique	14
8.3. Domaines d'utilisations.....	15
8.4. Toxicologie	16
8.5. Conservation de l'huile essentielle de clou de girofle	16
8.6. Les activités biologiques de l'huile essentielle de <i>Syzygium aromaticum</i>	16
8.6.1. Activités antivirale	16
8.6.2. Activités antibactérienne	17
8.6.3. Activités anticancérogène.....	17
8.6.4. Activités anti-inflammatoire.....	17
8.6.5. Activités antifongique.....	17
8.6.6. Activités anti-oxydant.....	18

III. Les infections urinaires

1. Définition	19
2. Facteurs favorisant l'infection urinaire	19
1.1. Facteurs liés à la bactérie	19
1.2. Les facteurs liés à l'hôte.....	20
3. Différents types d'infections urinaires	20
4. Symptômes de l'infection urinaire	22
5. Traitement de l'infection urinaire	22
6. Principaux agents des infections urinaires	23
6.1. Etude des caractères généraux de quelques genres responsables des infections urinaires (IU)	
6.1.1. <i>E. coli</i>	23

6.1.2. Le genre <i>Klebsiella</i>	25
6.1.3. Le genre <i>Serratia</i>	26
6.1.4. Le genre <i>Proteus</i>	27
6.1.5. Le genre <i>Enterobacter</i>	29

Partie 2 : Etudes expérimentales

I. Matériel et méthodes

I. Matériel végétal	30
II. L'extraction d'huile essentielle	30
1. Méthodologie.....	30
1.1. Principe.....	30
1.2. Mode opératoire.....	31
2. Calcul du rendement en huile essentielle	32
3. Conservation de l'huile essentielle	32
III. L'étude analytique de l'huile essentielle	32
1. Propriétés organoleptiques de l'huile essentielle	32
2. Propriétés physico-chimiques de l'huile essentielle.....	33
a. L'indice de réfractons	33
b. L'indice de pH	33
IV. Recherche de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle extraite.....	33
1. Souches bactériennes test objet.....	33
2. Aromatogramme	34
1.1. Principe	34
1.2. Préparation des pré -cultures.....	34
1.3. Préparation d' inoculum.....	34
1.4. Ensemencement	35
1.5. Dépôt des disques.....	36
1.6. Incubation.....	36
1.7. Lecture	37

II. Résultats et Discussion

1. Extraction et rendement en huile essentielle	38
2. Caractéristiques organoleptiques de l'huile essentielle extraite	38
3. Propriétés physico-chimiques de l'huile essentielle.....	38

3.1. L'indice de réfraction	38
3.2. L'indice de pH	39
4. Recherche de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle extraite.....	39
1. Aromatogramme.....	39
Conclusion	43
Références bibliographiques.....	44

Résumé

Summary

ملخص

Liste des figures

N°	Titre	Page
1	Clous de girofle secs et frais	3
2	Feuilles de giroflier	3
3	Production de girofles en 2012 (toutes parties de la plante confondues) par pays en Tonne et en Dollar international	5
4	Localisation des principales régions de production de girofle (en rouge) dans le monde et estimation de leur production sur la période 2012_2018	5
5	Schéma du principe de la technique d'hydrodistillation	10
6	Distillation par entraînement à la vapeur d'eau	11
7	Schème de procédé d'hydro- diffusion	11
8	La structure chimique d'eugénol	15
9	Forme topographique de types d'infection urinaires	20
10	Observation microscopique de <i>E. coli</i>	24
11	Observation microscopique de <i>Klebsiella pneumonia</i>	25
12	Observation microscopique de <i>Serratia marcescens</i>	26
13	Observation microscopique de <i>Proteus Mirabilis</i>	28
14	Observation microscopique d' <i>Enterobacter aerogenes</i>	29
15	Matériel végétal utilisé lors des expériences <i>Syzygium aromaticum</i>	30
16	Montage de l'appareil d'hydrodistillation (laboratoire l'E.N.S.E. T Skikda)	31
17	L'extraction d'huile essentiel de <i>Syzygium aromaticum</i>	32
18	Les étapes de préparation de l'inoculum	35
19	Techniques d'ensemencement en milieu Muller-Hinton (MH)	36
20	Dépôt des disques imbibés d'HE	36
21	L'incubation des boites	37
22	Diamètres des zones d'inhibition de l'HE de <i>Syzygium aromaticum</i> testée sur les souches <i>E. coli</i> , <i>Klebsiella pneumonia</i> , <i>Enterobacter spp</i> , <i>Proteus spp</i> , <i>Serratia sp</i>	41

Liste des tableaux

N°	Titre	Page
1	Situation botanique de l'espèce <i>Syzygium aromaticum</i>	2
2	Récapitulatif des quantités, famille et propriétés des principaux composants de HE des clous de girofle	15
3	Termes utilisés pour les infections spécifiques des voies urinaires	21
4	Taxonomie <i>E. coli</i> selon Bergy's manual 2004	24
5	Taxonomie <i>Klebsiella</i> selon Bergy's manual 2004	25
6	Taxonomie <i>Serratia</i> selon Bergy's manual 2004	27
7	Taxonomie <i>Proteus</i> selon Bergy's manual 2004	28
8	Taxonomie <i>Enterobacter</i> selon Bergy's manual 2004	29
9	Les souches bactériennes tests-objet	34
10	Caractéristiques organoleptiques de l'huile essentielle de clou de girofle	38
11	Valeur obtenue de l'indice de réfraction	39
12	Valeur obtenue de l'indice de pH	39
13	Diamètres des zones d'inhibition de l'HE testées sur les souches.	40

Liste des Abréviation

ASB : Bactériurie asymptomatique

AFNOR : Association Française de Normalisation

AV : Avenue, Avant

BHA : Béta Hydroxy Acide

BMR : Bactérie multirésistante

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice

ETEC : *Escherichia coli* Enterotoxigenic

ECBE : Examen Cytobactériologique des expectorations

FAOstat : Données de l'Organisation des Nations unies pour l'alimentation et l'agriculture

EPH : Etablissement publique hospitalier

J.C: Jésus-Christ

HE : Huile Essentielle

HEs : Huiles Essentielles

HSV : Virus Herpes Simplex

IP : Intrapéritonéale

IVU : Infection des voies urinaires

IU : Infection urinaire

ITU : Infection du tractus urinaire

TPA : 12-O-Tetradecanoylphorbol-13-Acetate

TECBU : Examen Cytobactériologique des Urines

UFC : Unité forme de colonnes

UPEC : *E. coli* uropathogène

MH : Mueller-Hinton

GN : Gélose nutritifs

Introduction

L'infection des voies urinaires (IVU) est la plus fréquente et grave état de santé à la fois dans les milieux communautaires et hospitaliers dans le monde entier [1]. On estime que 150 millions d'infections urinaires surviennent chaque année à l'échelle mondiale [2]. Ces infections sont une pathologie fréquente, et souvent récidivante.

Les microorganismes les plus fréquemment mis en cause sont les bacilles à Gram négatif notamment *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis* et *Klebsiella pneumoniae* [3]; dont *E. coli* est responsable de plus de 80 % des infections urinaires d'origine communautaires [3].

La conduite de l'antibiothérapie et le comportement des patients sont le plus souvent à l'origine d'aggravations ou de rechutes. On note surtout l'apparition de résistances aux antibiotiques tels les quinolones généralement prescrites en première intention (ciprofloxacine). [1]

Au cours de ces dernières décennies, la sélection de souches multi résistantes aussi bien en milieu hospitalier qu'en milieu communautaire [4]. Face à ce problème, la nécessité de rechercher de nouveaux agents antibactériens est à l'ordre du jour, le recours aux molécules bioactives d'origine végétale ouvre une alternative intéressante à explorer [5]. Tout cela justifie le regain d'intérêt porté aux extraits de plantes aromatiques et médicinales.

Depuis l'antiquité l'homme utilisait de manière empirique des extraits végétaux entre autres, les huiles essentielles. Ces substances de composition chimique complexe et riche en composés actifs, agissent sur diverses cibles cellulaires. Ce qui contribue au règlement de la question grandissante des résistances bactériennes [6].

Parmi les plantes aromatiques qui renferment ces principes actifs *Syzygium aromaticum* (le clou de girofle). Dans la perspective d'usage de l'huile essentielle de cette plante en pratique médicale, nous nous sommes proposés de rechercher d'éventuelles aptitudes à inhiber la croissance des bactéries incriminées dans les infections urinaires.

Le présent travail est composé de deux parties : une synthèse bibliographique subdivisée en trois chapitres portant sur : la plante étudiée (*Syzygium aromaticum*), les huiles essentielles, et enfin sur les infections urinaires.

Dans la seconde partie, nous détaillerons les outils méthodologiques appliquées avant d'exposer les résultats obtenus. Cette étude expérimentale touche essentiellement deux axes principaux :

- Extraction de l'HE et son analyse physico-chimique.
- Etude qualitative de l'activité antibactérienne de l'HE extraite.

PARTIE 1

Synthèse bibliographique

Chapitre I

Syzygium aromaticum

1. Historique

Son nom français date du Moyen Âge et vient du latin *clarus* qui signifie « Clou ». Le clou de girofle est utilisé en Asie depuis plus de 2000 ans. En Chine, les courtisans de l'époque de la dynastie des Han devaient parfumer leur haleine avec des clous de girofle lorsqu'ils s'adressaient à l'empereur. L'utilisation du clou de girofle est plus récente en Europe (il fut introduit vers le siècle), où il ne connut vraiment son essor qu'au Moyen Age. Pendant un bon moment, cette épice fut aussi estimée que le poivre. Le clou de girofle permettait de masquer la saveur souvent indésirable des aliments altérés par des méthodes de conservation inefficaces. La culture du giroflier fut longtemps confinée presque exclusivement en Indonésie et elle était contrôlée par les Hollandais. Aujourd'hui, l'île de Zanzibar est le principal centre de production du giroflier [7].

2. Origine

Le girofle (*Syzygium aromaticum*) sont originaires situés dans la partie sud des Philippines et des îles Moluques [8]. Et maintenant largement cultivé au Brésil, en Haïti, en Inde, au Kenya, à Madagascar, en Malaisie, à Maurice, au Mexique, aux Seychelles, au Sri Lanka et en Tanzanie [9].

3. Classification botanique giroflier

Tableau 1 : Situation botanique de l'espèce *Syzygium aromaticum* [10].

Règne	Plantae
Sous-règne	Tracheobionta Embranchement: Magnoliophyta (= phané)
Sous-embranchement	Magnoliophytina (= angiospermes)
Classe	Magnoliopsida (= dicotylédones)
Ordre	Myrtales
Famille	<i>Myrtaceae</i>
Genre	<i>Syzygium</i>
Espèce	<i>S. aromaticum</i>

4. Description de la plante

Sujanapal et **Kunhikannan** décrivent *Syzygium aromaticum* comme un petit arbre à feuilles persistantes, 6 m de haut, couronne conique, feuilles 7-12 × 3-5 cm (Figure 2), elliptiques ou oblancéolées, base atténuée ou cunéiforme, apex acuminé, marge entière, glabre, coriace, ponctuée en dessous, nerfs latéraux nombreux, parallèles, obscurs, avec nerf intramarginal ; pétiole 10-20 mm de long, mince, glabre [11]. Les fleurs sont petites, en grappe cymeuse terminale, chaque pédoncule porte des fleurs à trois ou quatre tiges à l'extrémité, tandis que les sépales sont minuscules avec une projection triangulaire. Les fruits sont de forme typiquement olive. Les boutons floraux bruns, séchés et non ouverts sont appelés clou de girofle (Figure 1) , un nom dérivé du mot français clou signifiant clou [12]. Les fruits mûris se rencontrent quelque fois dans le commerce sous le nom d'anthofles de girofle ou mères de girofle. Les pédoncules qui portent les fleurs se trouvent aussi sous le nom de griffes de girofle [13].



Figure 1 : Clous de girofle secs et frais [14].



Figure 2 : Feuilles de giroflier [14].

5. Nomenclature de la plante giroflier

Comme beaucoup d'espèces, le giroflier a porté plusieurs noms scientifiques avant d'être nommé *Syzygium aromaticum* (L) : [15] [16] [17].

- Caryophyllus aromaticus*.
- *Eugenia caryophyllata*.
- *Eugenia caryophyllus*.
- *Eugenia aromatica*.
- *Jambosa caryophyllus*.
- Syzygium aromaticum*.

Actuellement, les noms *Syzygium aromaticum* et *Eugenia caryophyllus* sont tous les deux employés.

Elle est appelée en arabe qaranful : (قرنفل), en anglais : clove, clove tree, en français : Clou de girofle, arbre au clou [10].

6. Culture et production

6.1. Culture

Étant strictement une espèce tropicale, le clou de girofle nécessite un climat tropical chaud et humide avec une pluviométrie annuelle de 1 500 à 2 500 mm. Il pousse bien du niveau moyen de la mer jusqu'à une altitude de 1 000 m. Dans son habitat d'origine, on le trouve couramment dans les forêts et les forêts tropicales.

Il préfère les sols limoneux profonds bien drainés à haute teneur en humus et les limons noirs des régions semi-forestières et poussera également sur des sols latéritiques lâches et bien drainés [9].

Le giroflier est surtout cultivé pour ses clous qui sont les boutons floraux cueillis avant leur épanouissement. On cultive également le giroflier pour ses feuilles et ses griffes dont on extrait une essence très riche en eugénol [18].

6.2. Production

De nos jours, selon les Données de l'Organisation des Nations unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAOstat) le premier pays producteur de girofle en tonnes (toutes parties de la plante confondue) est l'Indonésie, suivie de Madagascar, de la République-Unie de Tanzanie (notamment les îles productrices Pemba et Zanzibar), du Sri Lanka et des îles Comores qui arrivent loin derrière en termes de quantité produite (Figure 3 ,4) [19].

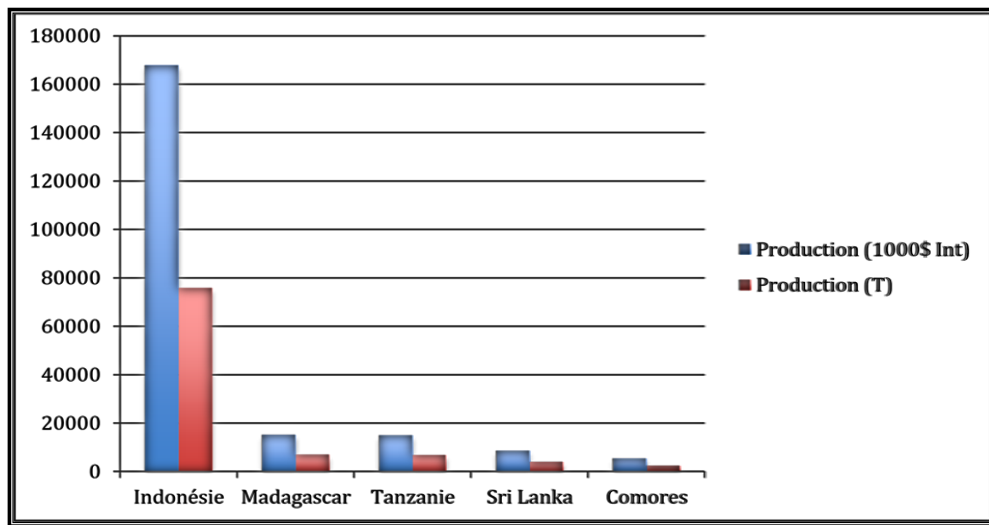


Figure 3 : Production de girofles en 2012 (toutes parties de la plante confondues) par pays en Tonne et en Dollar international [19].

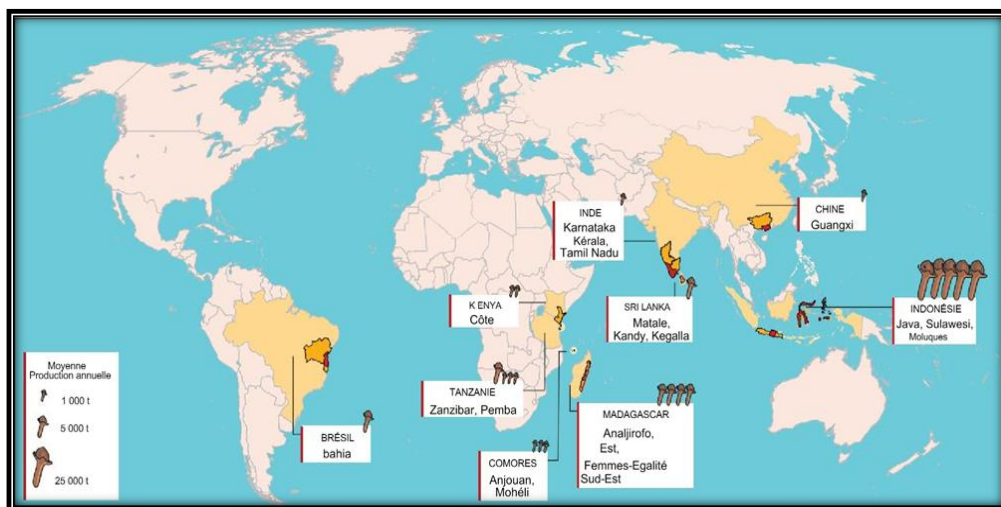


Figure 4 : Localisation des principales régions de production de girofle (en rouge) dans le monde et estimation de leur production sur la période 2012_2018 [20].

7. Usage traditionnelle

Traditionnellement, le clou de girofle était connu des Egyptiens et faisait partie des offrandes retrouvées dans les tombeaux des momies, mandarins chinois l'utilisaient depuis 250 avant J-C pour parfumer leur haleine avant de s'adresser à l'empereur.

Selon, l'indications traditionnelles du cahier N° 3 de l'Agence du médicament de 1998 :

- Par voie orale traditionnellement utilise dans le traitement des troubles digestifs tels que ballonnement épigastrique, lenteur a la digestion, éructations, flatules.

- Par voies locale pour le traitement des petites plaies après lavage abondant (à l'eau et au savon) et élimination des souillures et utilise comme antalgique (céphalées, douleurs dentaires), utilise en bain de bouche, pour l'hygiène buccale [8].

8. Utilisation du clou de girofle

- Les usages du girofle sont variés :

8.1. Domaine médicale

La plus ancienne utilisation médicale enregistrée du clou de girofle était en Chine, où il a été signalé pour diverses affections dès 240 av. Le clou de girofle a été pris au cours des siècles pour la diarrhée, les affections du foie, de l'estomac et des intestins, et comme stimulant pour les nerfs [21]. Également utilisé depuis très longtemps en dentisterie [22].

Le clou de girofle est connu pour posséder diverses activités antimicrobienne, antioxydants, antivirales, anticancéreuses, anti inflammatoires et anti-nociceptives [23]. Ils sont très appréciés en médecine comme carminatif et stimulant et on dit qu'ils sont un vennefuge naturel [24].

8.2. Domaines culinaires

Le clou est d'abord une épice utilisée dans de nombreuses cuisines orientales ou occidentales [22]. Ces clous entier et moulus sont utilisés pour rehausser la saveur des plates de viandes et de riz et largement utilisés dans les poudres de curry et les marsalas [24].

8.3. Domaines cosmétiques

Les produits obtenus, clous de girofle et huile essentielle, sont appréciés en France et dans le monde. L'essence de girofle a de multiples applications dans la savonnerie, la parfumerie... [25].

Le clou de girofle est un fameux remède naturel, très utilisé par les femmes indiennes afin d'assainir la peau et la rendre plus lumineuse. Utilisée comme ingrédient dans de nombreuses cosmétiques maison... [Web 1].

9. La toxicité de girofle

L'usage abusif du clou de girofle peut devenir toxique. Des grandes quantités doivent être évitées pendant la grossesse. Le clou de girofle peut être irritant pour les voies gastro-intestinales et devrait être évitée chez des personnes ayant des ulcères gastriques, des colites ou le syndrome du côlon irritable. Dans les surdoses, les clous de girofle peuvent aussi causer des vomissements, des nausées, la diarrhée et de fortes hémorragies digestives et peut également conduire à l'insuffisance rénale, des modifications de la fonction hépatique, la dyspnée, la perte de conscience, des hallucinations et même la mort [26].

Chapitre II

Les huiles essentielles

1. Définition

Le terme « huiles essentielles » (HE) a été inventé pour la première fois au 16ème siècle par le médecin suisse Paracelsus Von Hœnheim, qui a nommé le composant efficace d'un médicament, « Quinta essential » [27]. Également c'est un produit odorant généralement de composition complexe, obtenu à partir d'une matière première botaniquement définie soit par entraînement à la vapeur d'eau soit par distillation sèche soit par un procédé mécanique approprié sans chauffage [28].

Selon **Duquenois.P**, il n'existe pas de définition standard pour l'huile essentielle, « la notion d'huile essentielle peut varier avec le point de vue auquel se placent des personnes de formations professionnelles aussi dissemblables que des botanistes, des physico-chimistes, des industriels, des parfumeurs ou des pharmacologues » [29].

2. Répartition et localisation

2.1. Répartition

Les huiles essentielles n'existent quasiment que chez les végétaux supérieurs : il y aurait, selon Lawrence, 17 500 espèces aromatiques. Les genres capables d'élaborer les constituants qui composent les huiles essentielles sont répartis dans un nombre limité de familles ex : *Apiaceae*, *Asteraceae*, *Cupressaceae*, *Lamiaceae*, *Lauraceae*, *Myrtaceae*...etc.

Peuvent être stockées dans tous les organes végétaux (Fleurs, graines, racines, feuilles, fruits...) [30].

2.2. Localisation

La synthèse et l'accumulation des huiles essentielles sont généralement associées à la présence de structures histologiques spécialisées, souvent localisées sur ou proximité de la surface de la plante : cellules à huiles essentielles (*Lauraceae*, *Zingiberaceae*), poils sécréteurs (*Lamiaceae*...), Canaux sécréteurs (*Apiaceae*, *Asteraceae*) [30].

3. Chimie des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes pouvant contenir plus de 300 composés différents [31]. Une huile essentielle renferme majoritairement des terpènes volatils, issus de la condensation d'unités isopréniques et des dérivés aromatiques dérivés du phénylpropane [32].

Ces substances sont des molécules très volatiles appartenant pour la grande majorité à la famille des terpènes comme les monoterpènes (myrcène, β -pinène, γ -terpinène) et les sesquiterpènes (β -caryophyllène, α -humulène, β -bisabolène...etc) [33].

Une HE a une composition moléculaire complexe qui lui confère des vertus uniques. Elle ne contient ni protéines, ni lipides, ni glucides, ne renferme pas de minéraux ni des vitamines : elle n'a donc aucune valeur nutritionnelle [34].

3.1. Les terpènes

Les composés terpéniques sont issus d'une voie métabolique secondaire de l'acide mévalonique. Suivant le nombre entier d'unités pentacarbonés (C5) ni ramifiées, dérivées du 2- méthylbutadiène (isoprène), nous pouvons réaliser selon le nombre d'entités isoprènes en monoterpènes formés de deux isoprènes C10, les sesquiterpènes formés de trois isoprènes C15, les diterpènes, formés de quatre isoprènes C20. Les sesterpènes formés de cinq isoprènes C25, les triterpènes composés en C30, Les polyterpènes n peut- être 9 à 30 [35].

3.2. Les composés aromatiques

Les composés aromatiques biosynthétisées à partir de l'acide shikimique (isolé la première fois du Shikimi ou *Illicium anisatum* ou badiane japonaise), qui donnent des dérivés du phénylpropane (C6-C3), sont moins fréquents : un noyau aromatique est couplé à une chaîne de 3 carbones. Les terpènes agissent aussi sur la pénétration percutanée des phénylpropanoïdes [28].

Les composés aromatiques dérivés du phénylpropane sont beaucoup moins fréquents dans les huiles essentielles que les monoterpènes et sesquiterpènes. Citons l'acide cinnamique et l'aldéhyde cinnamique (HE de cannelle), l'eugénol (HE de girofle), l'anéthol et l'aldéhyde anisique (HE de badiane, d'anis, de fenouil), ainsi que le saffrole (HE de sassafras) [33].

4. Classification des huiles essentielles

En générale, les HE peuvent être classées en fonction de leur composition chimique, de l'arôme créé par l'huile, de la vitesse d'évaporation, de la taxonomie ou des familles auxquelles elles appartiennent, de leurs utilisations thérapeutiques, de leur consistance, de leur origine et de l'ordre alphabétique. La classification basée sur la consistance, par exemple peut être divisée en essence, baumes, et résines.

De plus, il existe trois classifications des HEs en fonction de leurs origines qui sont naturelles, artificielle et synthétiques. Les HEs naturelles sont extraits de la plante sans modifications physique ou chimiques, tandis que les huiles artificielles sont obtenues par enrichir l'essence avec des composants supplémentaires. Les HEs synthétiques, cependant sont obtenues en combinant de nombreuses substances chimiques ensemble [36].

5. Méthodes d'extraction des huiles essentielles

L'extraction de l'huile essentielle est nécessairement une opération complexe et difficile. Cette opération a pour but de capter les produits élaborés par le végétal car à l'intérieure de ses cellules contient des sécrétions naturelles qui sont extraits pour obtenir les huiles essentielles, et cela sans altérer la qualité.

De nombreuses techniques différentes sont utilisées pour l'extraction des substances aromatiques, qui se pratiquent en fonction de la partie du végétal choisie.

5.1. Hydrodistillation

L'hydrodistillation est une méthode traditionnelle d'élimination des huiles essentielles [37]. Utilise l'eau (vapeur) comme solvant d'extraction pour récupérer les composés volatils ou polaires des matières végétales. L'hydrodistillation est souvent réalisée à l'aide d'une configuration connue sous le nom d'appareil Clvenger ou d'une simple distillation à la vapeur (Figure 5) [38].

Il existe trois types d'hydrodistillation : la distillation de l'eau, la distillation eau- vapeur et la distillation à la vapeur [39].

Dans l'hydrodistillation, la matière végétale est d'abord emballée dans un compartiment alambic, puis de l'eau est ajoutée en quantité suffisante et enfin à l'ébullition. Alternativement, de la vapeur directe est injectée dans le matériel végétal. L'eau chaude et la vapeur agissent comme les principaux facteurs d'influence pour libérer les composés bioactifs des tissus végétaux. Le refroidissement indirect par l'eau condense le mélange de vapeur d'eau et d'huile. Le mélange condensé s'écoule du condenseur vers un séparateur, où l'huile et les composés bioactifs se séparent automatiquement de l'eau [40].

L'hydrodistillation à une température d'extraction élevée, certains composants volatils peuvent être perdus. Cet inconvénient limite son utilisation pour l'extraction de composés thermolabiles [41].

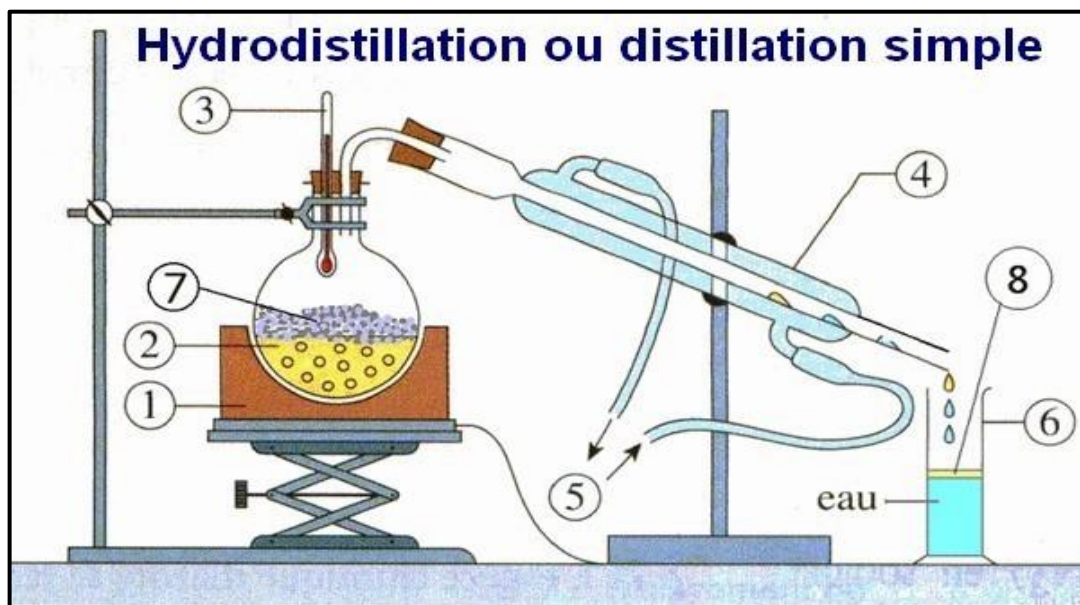


Figure 5 : Schéma du principe de la technique d'hydrodistillation [42].

- | | |
|--------------------|-------------------------------------|
| 1- Chauffe ballon. | 5- Entrée et sortie d'eau. |
| 2- Ballon. | 6- Erlenmeyer. |
| 3- Thermomètre. | 7- Matière à extraire de l'essence. |
| 4- Réfrigérant. | 8- La couche d'HE. |

5.2. Entraînement à la vapeur d'eau

Dans cette méthode l'eau est chauffée dans une chaudière pour produire de la vapeur sur chauffée, qui est transportée par un tuyau jusqu'au navire, la vapeur aide à libérer les molécules d'huile essentielle de la plante, en augmentant la température est la pression. Les molécules d'huile libérées par la plante se mélangent alors à la vapeur. Ce mélange monte à travers le distillateur et atteint le condenseur, ce dispositif permet au mélange de se refroidir et de passer en phase liquide. Enfin, le mélange liquide atteint le florentin, dans lequel l'huile et l'eau sont séparées. Cette eau est connue sous le nom d'hydrolat ou d'hydrosol et est précieuse dans plusieurs industries (Figure 6) [43].

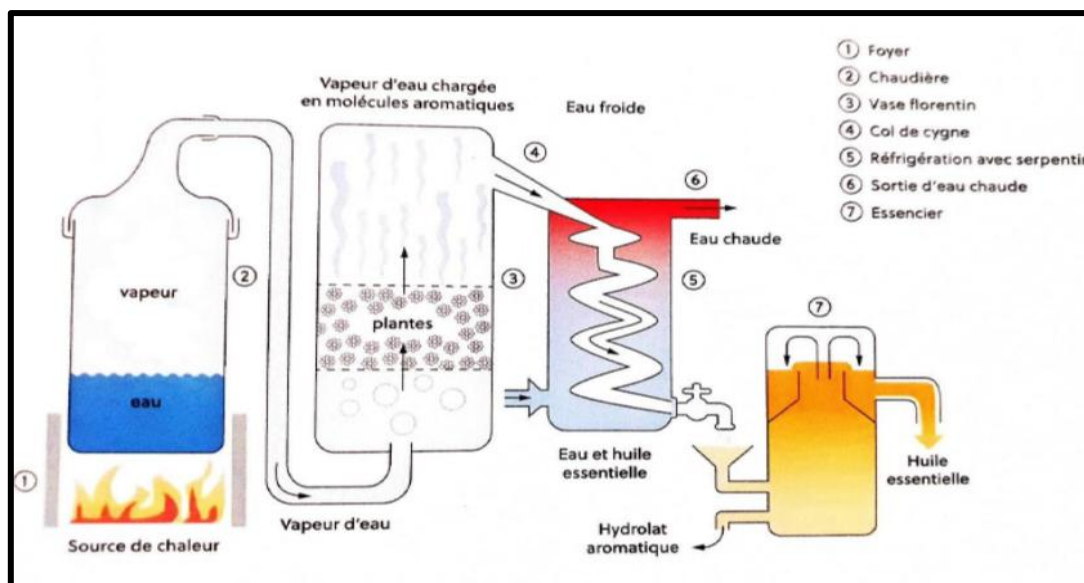


Figure 6 : Distillation par entraînement à la vapeur d'eau [44].

5.3. Hydro-diffusion

La diffusion d'huile essentielle et d'eau chaude à travers les membranes végétales est connue sous le nom d'hydro diffusion [45].

Est une méthode consistant à envoyer la vapeur d'eau de haut en bas (Figure 7) et non de bas en haut comme pour la distillation. Cette méthode a l'avantage d'être plus rapide et donc moins préjudiciable à la qualité des substances aromatiques. Cependant, la percolation possède l'inconvénient de charger les HEs en substances non volatiles. Il en résulte des « essences de percolation » et non des HEs à proprement parler [46].

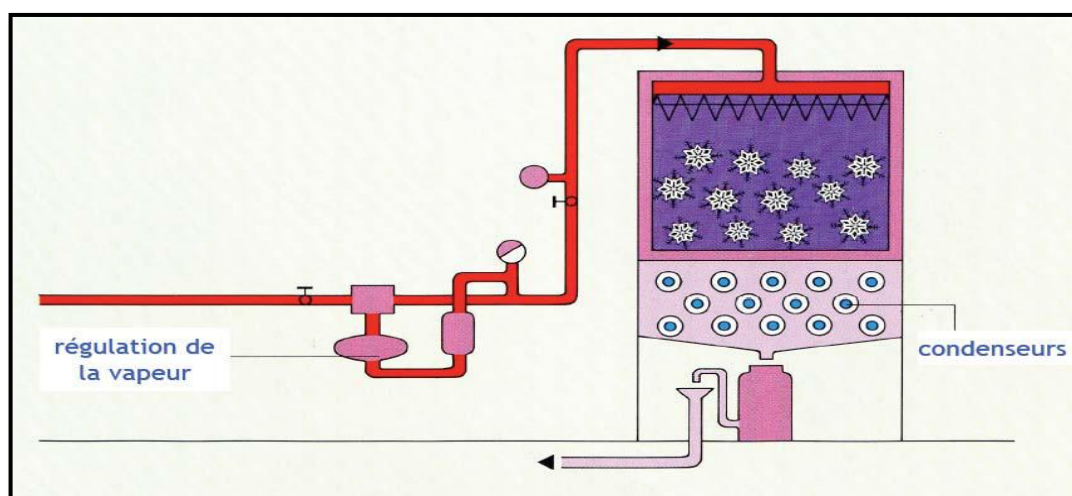


Figure 7 : Schème de procédé d'hydro- diffusion [47].

5.4. Extraction par fluide supercritique

Pendant de nombreuses années, l'un des méthodes les plus communes de séparation analytiques dans le domaine de l'environnement, des produits pharmaceutiques, alimentaires et pétroliers a été basées sur l'extraction des échantillons à l'aide d'hydrocarbures ou de solvants organiques chlorés au moyen d'un extracteur Soxhlet [48].

Dans ce système, le solvant est utilisé en boucle par interposition d'échangeurs de chaleur, d'un compresseur et d'un détenteur afin de porter le solvant à l'état désiré à chaque stade du processus. La séparation de l'extrait a lieu en phase gazeuse par simple détente [49].

L'extraction par fluide supercritique est la technologie la plus appropriée pour obtenir de bon rendement d'extraits propres associés à un temps d'extraction court, le potentiel d'extractions sélectifs en faisant varier la pression et la température est énorme [50].

Cette méthode très avantageuse est respectueuse de l'environnement par rapport aux autres méthodes conventionnelles d'extraction par solvants ou enzymatique pour la récupération de l'huile essentielle [51].

5.5. L'extraction assistée par micro-onde

L'extraction par solvant assistée par micro-ondes c'est un procédé qui consiste à appliquer les micro-ondes pendant le contact entre le solide traité (sec ou humide) et le solvant d'extraction transparent, totalement ou partiellement, ou micro-ondes. Si le paramétrage des micro-ondes est bien maîtrisé, il est possible d'atteindre en moins d'une minute des rendements d'extraction habituellement atteints après plusieurs heures d'extraction.

L'absorption sélective de l'énergie micro-ondes par le végétal engendre une augmentation brutale de la température à l'intérieur des cellules végétales [52].

La matrice solide est immergée dans un solvant chauffé par micro-ondes, le compartiment matrice /solvant est déterminé par la polarité du solvant (sensible ou peu sensible) si le solvant sensible aux micro-ondes alors la matrice est chauffée par conduction via le solvant qui une fois porté à l'ébullition va solubiliser le soluté. Ce procédé est identique à celui utilisé dans un procédé classique, le seul avantage est le temps de chauffage réduit [53].

Une autre extraction par micro-onde sans solvant basé sur un principe simple consiste en la distillation sèche assistée par micro-ondes d'une matrice végétale fraîche sans ajout d'eau ni de solvant organique. L'échauffement sélectif de la teneur en eau in situ du matériel végétal provoque le gonflement des tissus et l'éclatement des glandes et des réceptacles oléifères.

Ce procédé libère ainsi l'huile essentielle qui est évaporée par distillation azéotrope avec l'eau présent dans la matière végétale [54].

5.6. Extraction par ultrasons ou sonication

Les ultrasons génèrent des micro-cavitations qui désorganisent la structure des parois végétales, notamment les zones cristallines cellulose. Les ultrasons favorisent la diffusion et peuvent modifier l'ordre de distillation, des constituants des huiles essentielles. L'extraction par les ultrasons est une technique de choix, pour les solvants de faible point d'ébullition, à des températures d'extraction inférieures au point d'ébullition [55].

5.7. L'enfleurage

L'enfleurage est une méthode d'extraction conventionnelle qui remonte à l'antiquité, il a été utilisé principalement pour l'extraction d'huile essentielle des fleurs par exemple : le jasmin. Au cours de cette méthode, une graisse froide purifiée et inodore est étalée sur le matériel végétal par exemple des fleurs. Les odeurs sont dégagées par les fleurs et sont par conséquent dissoutes dans la graisse. De nouvelles fleurs remplacent les anciennes et le processus est répété pendant de très longue période jusqu'à ce que la saturation de la graisse soit atteinte. Ensuite, la graisse est collectée et extraite avec de l'alcool [56].

6. Activités biologiques des huiles essentielles

Les huiles essentielles (HEs) sont reconnues depuis longtemps comme possédant plusieurs activités biologiques différentes. Plusieurs de ces métabolites végétaux secondaires présentent des effets antimicrobiens marqués qui ont rendu leur utilisation comme antiseptique et/ou conservateur alimentaire bien connue depuis l'antiquité [57].

Elles sont extrêmement anti-infectieuses, antiseptiques et antivirales. Ce sont les seules alternatives aux antibiotiques, elles ont largement fait la preuve de leur efficacité dans ce domaine. Mais leurs aptitudes couvrent des domaines bien plus larges : elles sont antidouleurs, cicatrisantes, antihémorragiques, digestives, elles régulent l'immunité, les hormones, elles déstockent les graisses infiltrées ou renforcent les vaisseaux sanguins... À chaque huile essentielle son rôle et pour la plupart, ses multiples activités [58].

6.1. Activité antibactérienne des HEs

L'activité d'une huile essentielle dépend de sa composition aromatique. Sa complexité chimique est un atout majeur dans la lutte contre les germes pathogènes car ces derniers sont souvent dans l'incapacité de les décoder. Les huiles essentielles agissent de concert sur le terrain grâce à leur

activité énergétique. Elles désintoxiquent les organes, les stimulent pour qu'ils se défendent et participent à leur rééquilibrage. Elles renforcent le système immunitaire et les systèmes d'éliminations des toxines (poumons, reins, peau, foie) et facilitent la destruction des agents pathogènes [59].

Les huiles essentielles ont une double action contre les microbes ; elles peuvent les tuer (effets bactéricides) et elles en arrêtent la prolifération (effet bactériostatiques). Le plus puissantes pour cela sont celles qui contiennent des phénols (Ex : le thymol) [60].

7. Domaines d'utilisations

Les huiles essentielles constituent une matière première destinée à divers secteurs d'activités, comme l'industrie des cosmétiques, savonneries et parfums constitue le plus gros consommateur d'huiles essentielles, sont aussi utilisées dans l'industrie alimentaire comme moyen de conservation. En plus de l'effet thérapeutique des HEs considérés comme alternative très efficace pour certaines maladies (anti inflammatoire, antibactérienne, anti infectieuse...) [61].

8. L'huile essentielle de clou de girofle

8.1. Définition

L'huile de clou de girofle est une huile essentielle extraite du giroflier (*Syzygium aromaticum*), ses principaux composants actifs sont l'eugénol et le 4-allyl-2-méthoxyphénol. Il a été utilisé comme anesthésique local pour l'homme et possède également des propriétés antifongiques et antibactériennes [62].

8.2. Propriétés physiques et composition chimique

La densité de l'essence de girofle à + 15° varie de 1,045 à 1,070. L'odeur très forte, saveur brûlante [63].

La composition chimique de l'huile essentielle de clou de girofle de qualité pharmaceutique doit renfermer en moyenne (Tableau 2) :

- 75 à 88% D'eugénol.
- 4 à 15 % Acétate d'Eugényle.
- 5 à 14 % B-caryophyllène [64].

Tableau 2 : Récapitulatif des quantités, famille et propriétés des principaux composants de HE des clous de girofle [65].

Nom de molécule	Quantité	Famille chimique	Propriétés
Eugénol	75- 88%	Phénylpropanoïde (Phénols)	Anti-infectieux Anesthésiant Antiagrégant Plaquettaire
Acétate d'Eugényle	4 -15 %	Ester aromatique	Antispasmodique Musculotrope et Neurotrope Stimulant général
B-caryophyllène	5 -14 %	Sesquiterpènes	Calmant et anti- inflammatoires

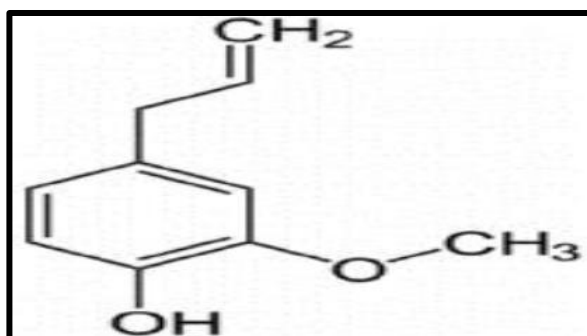


Figure 8 : La structure chimique d'eugénol [66].

8.3. Domaines d'utilisations

- ❖ L'huile de clou de girofle, ainsi que l'eugénol qu'elle contient, ont été traditionnellement utilisés dans les domaines dentaires pour leurs propriétés analgésiques topiques. En raison de ces propriétés, elle pourrait être considérée comme un traitement potentiel dans la gestion des infections buccales. Cela inclut des applications telles que les plâtres dentaires, les obturations [67], [68].
- ❖ L'huile de clou de girofle a été utilisée avec succès pour le mucus buccal et pharyngé enflammé et pour l'anesthésie topique en dentisterie. Le baume de clou de girofle contenant l'huile comme ingrédient actif a également été utilisé pour apaiser les douleurs causées par les rhumatismes [69].

- ❖ Les huiles de clous de girofle et de tiges sont largement utilisées comme composants de parfum dans les dentifrices, les savons, les détergents, les crèmes, les lotions et les parfums. Les niveaux d'utilisation maximum signalés pour les huiles de bourgeon et de tige sont, respectivement, de 0,15% et 0,25% dans les savons et de 0,7% et 1,0%, respectivement, dans les parfums. L'huile de giroflier est 7,8 principalement utilisée dans les savons et les parfums bon marché, et dans une bien moindre mesure que les autres huiles [70].

8.4. Toxicologie

Aucune étude de toxicité chronique sur le clou de girofle et l'huile essentiel de clou de girofle n'a été trouvée. Cependant, il existe une abondante littérature sur les constituant actifs du clou de girofle et de l'huile de girofle, en principale l'eugénol [71].

L'eugénol est un irritant primaire et peut provoquer une irritation cutanée locale, une dermatite allergique de contact, la formation d'ulcères et une nécrose tissulaire, ainsi qu'une irritation des yeux et des voies respiratoires. Des concentrations élevées peuvent entraîner des convulsions, une hépatotoxicité et un coma [72].

L'huile est toxique pour les cellules humaines, s'il est pris en quantités suffisants ou dosées [73]. L'huile de clou de girofle est maintenant considérée comme un sensibilisant très dangereux. Est un irritant du derme et des muqueuses il a provoqué des dermatites de contact des chéilites et des stomatites, principalement dues à l'eugénol, qui a également des propriétés sensibilisantes [74].

8.5. Conservation de l'huile essentielle du clou de girofle

Pour éviter la formation des produits d'oxydation, notamment les peroxydes, il est nécessaire de conserver les huiles essentielles :

- À l'abri de l'air, en présence d'un gaz inerte tel que l'azote.
- À l'abri de la lumière, dans des flacons propres et secs, métalliques (aluminium ou acier inoxydable) ou en verre teinté.
- À froid de préférence à + 4 C°.

Il faut éviter, d'une part, de mettre très peu d'huile essentielle dans le flacon et d'autre part, d'utiliser des emballages et des bouchons en matière plastique qui peuvent être sensible au contenu [75].

8.7. L'Activités biologiques de l'huile essentielle de *Syzygium aromaticum*

8.7.1. Activité antivirale

Une étude montre que l'extrait de *Syzygium aromaticum* avait une activité inhibitrice très actif contre le virus de l'hépatite C (inhibition 90% à 100 ug /ml) [76].

L'eugénine a été purifiée en tant que composé anti HSV également été isolée à partir d'un extrait de plant (*Syzygium aromaticum*) qui avait montré une activité anti-HSV, l'eugénine a également inhibé la croissance du HSV [77].

8.7.2. Activité antibactérienne

L'activité antibactérienne de différents extraits d'*E.Caryphyllata* a été démontrée contre des bactéries pathogènes dont *Campylobacter jejuni*, *Salmonella enteritidis*, *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*. Une étude récente a rapporté que les taux de croissance des souches de *Listeria monocytogenes* observées à 15°C et à 5°C étaient significativement réduits par un traitement avec 1 % et 2 % d'huile de girofle et de plus ont constaté que l'huile essentielle du fruit présentait une forte activité antibactérienne contre *Staphylococcus aureus*, tandis que l'huile de feuille inhibait fortement la croissance de *Bacillus cerueus*, avec une CMI de 39 ug/ml [78].

8.7.3. Activité anticancérigène

Les sesquiterpènes sont prometteurs en tant qu'agent anti cancérogènes potentiels [79]. L'eugénol présente une activité anticancéreuse contre le cancer de la peau, le cancer du sein, le mélanome, le cancer de la prostate, la leucémie et le cancer gastrique. L'eugénol est la principale composant pouvant interférer avec plusieurs molécules de signalisation cellulaire, dont le facteur nucléaire Kappa, ce facteur supprime l'apoptose et contrôle ainsi la croissance tumorale.

Une étude montre que la croissance dépend de l'ancrage du mélanome Malin et non d'indépendant l'ancrage a été supprimée par l'eugénol [80].

8.7.4. Activité anti-inflammatoire

L'eugénol est aussi un anti-inflammatoire, inhibiteur de la synthèse des prostaglandines et du chimiotactisme des leucocytes, œdème de la patte du rat (per os et IP) œdème de l'oreille induit par le 12-O-TPA (voie locale). A faible concentration (10⁻² 10⁻³ mm/L) [24].

8.7.5. Activité antifongique

A cet égard, les auteurs ont récemment rendu compte de l'application topique d'eugénol pour traiter avec succès la kératite fongique.

En 2009 ont rapporté que l'huile du clou de girofle réduit la quantité d'ergostérol spécifique de la membrane cellulaire fongique qui guérit la propagation de l'infection fongique. L'eugénol inhibe également la croissance des champignons filamenteux. Des levures en tant que champignons pathogènes pour l'homme et des espèces fongique nées de l'alimentation [81].

Clou de girofle essentiel ont rapporté que l'huile inhibe la croissance des champignons buccaux, y compris *Candida albicans* (*C. albicans*), *C. guilliermondii* et *Geotricum capitatum*, son activité contre les champignons *Candida* s'est avérée comparable à celle de l'agent antifongique amphotéricine B [82].

8.7.6. Activité anti-oxydant

L'huile essentielle de clou de girofle à la capacité antioxydants la plus élevés de toutes les huiles essentielles, peut être l'une des plus élevées connues pour un aliment ou un complément. Il a été inclus dans certains formule de « longévité » pour cette raison. Le clou de girofle et l'eugénol possèdent une forte activité antioxydante. Qui est comparable aux activités des antioxydants synthétiques, Béta Hydroxy Acide (BHA) et pyrogallol [83].

Chapitre III

Les infections urinaires

Les infections des voies urinaires (IVU) sont parmi les infections bactériennes les plus courantes chez l'homme, tant dans la communauté qu'en milieu hospitalier. Il s'agit d'un problème de santé grave qui touche des millions de personnes chaque année et qui est la principale cause de bactériémie à Gram négatif [84]. L'appareil urinaire se compose des reins, des uretères, de la vessie, de l'urètre et du méat urinaire. Il présente des différences chez l'homme et la femme. Chez l'homme, l'appareil urinaire est long avec un organe particulier, la prostate, laquelle peut être atteinte lors d'une infection urinaire (IU) et générer une prostatite. Chez la femme, l'appareil urinaire est plus court, ce qui favorise une plus grande fréquence des infections urinaires.

L'infection urinaire est d'origine bactérienne selon l'organe atteint, elle se traduit soit par une cystite (vessie), une pyélonéphrite (reins, uretère), ou une prostatite (prostate) [85].

1. Définition

Les infections du tractus urinaire (ITU) regroupent un ensemble hétérogène d'infections de l'un des constituants de l'arbre urinaire ou de ses annexes. Leur point commun est la présence de bactéries dans le tractus urinaire [86].

Elle se définit par la présence dans l'urine d'un germe à une concentration supérieure à 10^5 UFC/ml. Elle est généralement causée par un seul microorganisme, cette bactériurie est souvent, accompagnée d'une augmentation de la leucocyturie et parfois, associée à des signes cliniques d'infection urinaire [87].

Les infections urinaires (IU) peuvent être localisées dans les voies urinaires basses (cystite, urétrite, prostatite, épидидymite) ou hautes (pyélonéphrite ou pyélite) [88].

2. Facteurs favorisant l'infection urinaire

2.1. Facteurs liés à la bactérie

À la différence de ceux retrouvés dans la flore fécale normale, les *Escherichia coli* responsables de la plupart des infections urinaires se distinguent par des facteurs de virulence spécifiques comme :

- Les adhésines, favorisant leur adhérence aux cellules vaginales et uro-épithéliales.
- Leur résistance accrue à l'activité bactéricide du sérum.
- La production d'hémolysine, de facteurs cytotoxiques nécrosants, d'aéro-bactérine et de quantité plus importante d'antigène capsulaire K [89].

2.2. Facteurs liés à l'hôte

Ils sont surtout présentés par :

- Immunité altérée : l'utilisation croissante de médicaments immunosuppresseurs et la transplantation d'organes solides et de moelle osseuse ont augmenté le risque d'infection urinaire et d'urosepsie chez ces patients.
- Anomalies structurelles et fonctionnelles : la perturbation du flux normal d'urine entraîne une stase urinaire [90].

3. Différents types d'infections urinaires

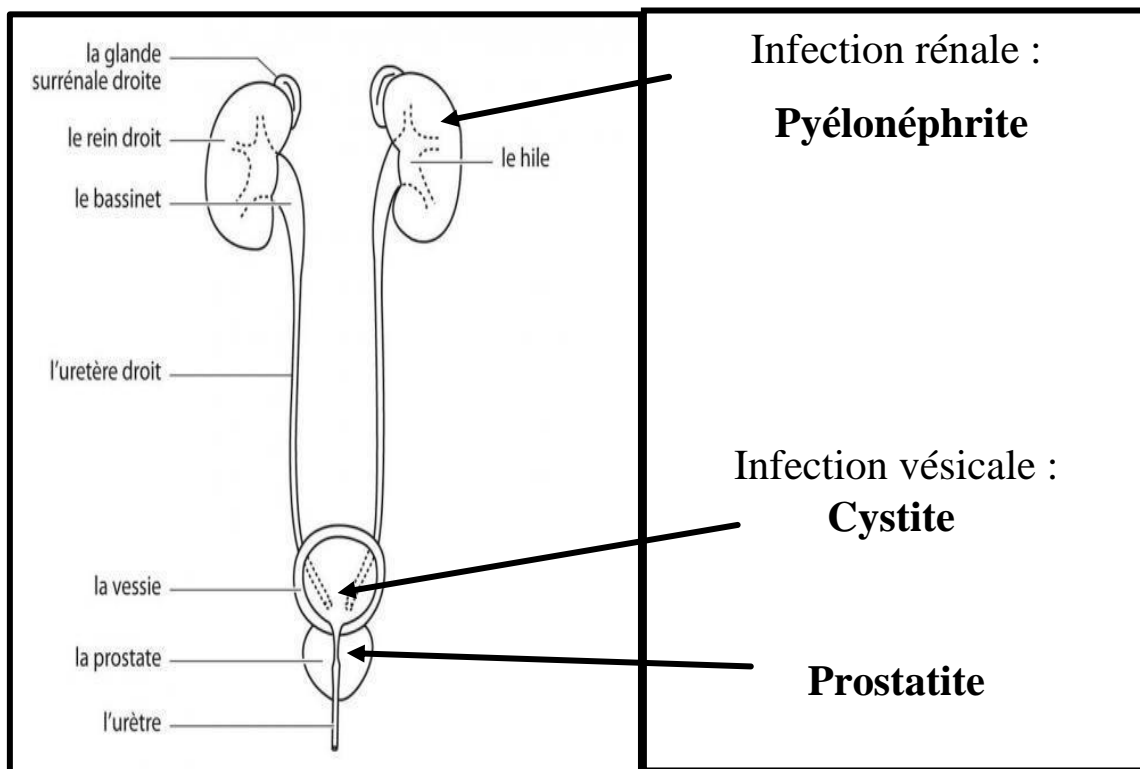


Figure 9 : Forme topographiques de types d'infection urinaires [91]

Tableau 3 : Termes utilisée pour les infections spécifiques des voies urinaires [92].

Infection urinaire	Infection microbienne (bactérienne, virale, fongique, etc.) qui affecte n'importe quelle partie des voies urinaires
Infection des voies urinaires basses	Infection de la vessie ou de l'urètre.
Infection urinaire haute	Bien que les voies urinaires supérieures soient composées des reins et les uretères, les voies urinaires supérieures infection affectant généralement les reins.
Pyélonéphrite	Infection affectant les reins.
Cystite	Infection affectant la vessie.
Urétrite	Infection affectant l'urètre. Les agents pathogènes responsables de l'urétrite comprennent <i>Chlamydia trachomatis</i> et <i>Neisseria gonorrhoeae</i> .
Cervicite	Infection affectant le col de l'utérus. Principalement due à des agents pathogènes responsables de maladies sexuellement transmissibles comme <i>Chlamydia trachomatis</i> et <i>Neisseria gonorrhoeae</i> .
Prostatite	Infection de prostate.
Abcès rénal	Infection du parenchyme rénal qui forme une collection purulente à l'intérieur ou autour du parenchyme rénal.
Bactériurie	Présence des bactéries dans les urines. N'indique pas nécessairement la présence d'une infection. N'a pas besoin d'être traité dans la plupart des cas, si le patient est asymptomatique.
Pyrurie	Présence de globules blancs dans les urines. Indique une inflammation, pas nécessairement d'infection.

4. Les symptômes de l'infection urinaire

Les symptômes des infections urinaires dépendent de l'organe affecté du système urinaire.

1) Les symptômes de l'infection des voies supérieures

- Vomissements
- Fièvre (signe que l'infection a atteint les reins)
- Tendresse dans les côtés et le haut du dos [93].

2) Les symptômes de l'infection des voies inférieures

Une IVU inférieure symptomatique (cystite) est diagnostiquée sur la base de la présence des symptômes tels que la dysurie, l'urgence, la fréquence, l'hématurie et l'inconfort sus-pubien en combinaison avec la bactériurie. L'incidence de la cystite pendant la grossesse est moins bien caractérisée que l'ASB mais est estimée à 1 % à 2 % [94].

5. Traitement de l'infection urinaire

L'objectif de l'antibiothérapie est d'obtenir un soulagement des symptômes, de prévenir la septicémie et de réduire le risque de complications [95].

❖ Le cas de la bactériurie asymptomatique et de la cystite aiguë

- Antibiothérapie per os, amoxicilline 1 gramme 3 fois/ mais un tiers des *Escherichia coli* sont résistants à la pénicilline A.
- Ainsi, pour certains auteurs céphalosporine de 3^e génération de type céfixime.
- Contrôle de TECBU 48 heures après l'arrêt du traitement, puis tous les mois jusqu'à l'accouchement [96].

❖ Le cas de la pyélonéphrite aiguë

- Hospitalisation et surveillance materno-foetale. Antipyrétiques (lutter contre la fièvre source de menace d'accouchement prématuré).
- Antibiothérapie par voie parentérale initialement, bactéricide, probabiliste, secondairement adaptée au résultat de l'antibiogramme, de type céphalosporine de 3^e génération, ceftriaxone, 1g/j en une seule injection. Possibilité d'associer dans les formes graves un aminoside pour une durée maximale de deux jours : Gentamicine" 3 mg/kg/j.
- Urographie intraveineuse (UIV) à réaliser à partir du 3 mois du post-partum à la recherche d'une malformation des voies urinaires [96].

❖ Le cas de prostatite

Il faut utiliser des produits à diffusion prostatique satisfaisante, durant au moins trois semaines avec, si possible, les premiers jours une association antibiotique.

- Si un staphylocoque est en cause, on utilise le cotrimoxazole ou les quinolones (attention aux restrictions d'usage de la péfloxacin).
- Si un entérocoque est isolé, les bêta-lactamines sont prescrites de manière préférentielle, en sachant que leur pénétration dans le tissu prostatique diminue après la phase aiguë [97].

6. Principaux Agents des infections urinaires

De nombreux micro-organismes différents peuvent infecter les voies urinaires et provoquer une infection, mais les agents les plus courants sont les *Entérobactéries*. *E. coli* est généralement l'organisme le plus répandu responsable des infections urinaires et représente 80 à 85 % du total des isolats, *Staphylococcus saprophyticus* étant la cause dans 5 à 10 %. Parmi les autres infections urinaires bactériennes, citons : *Klebsiella*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Enterococcus*, *Enterobacter spp...* etc des organismes tels que *Serratia* et *Pseudomonas* prennent une importance croissante dans les infections récurrentes et les infections associées aux obstructions urologiques [98].

6.1. Étude des caractères généraux de quelques genres responsables des infections urinaires (IU)

Les *Entérobactéries* sont une famille de bactéries qui englobent de nombreuses bactéries couramment isolées à partir de cultures cliniques, notamment *Escherichia coli*, *Klebsiella spp* et *Enterobacter spp*. Du point de vue de la résistance aux antimicrobiens, les *Entérobactéries* sont particulièrement importantes car elles sont une cause fréquente d'infections associées à la communauté et associées aux soins de santé [99].

Par définition les *Enterobacteriaceae* sont des bacilles à Gram négatif, le plus souvent courts (1 à 6 µm), droits, immobiles ou mobiles par une ciliature péritriche, de culture aisée, aéro-anaérobies facultatifs, fermentaires, oxydase négative, catalase positive (à l'exception de *Shigella dysenteriae* type 1), nitrate réductase positive (rares exceptions chez *Erwinia*) [100].

6.1.1. *E. coli*

Bactérie aéro-anaérobie facultative la plus abondante du microbiote digestif de l'homme (également présente chez les mammifères et les oiseaux), *E. Coli* est un pathogène opportuniste impliqué dans les infections intestinale et extra-intestinales, au premier plan desquelles se trouvent les infections urinaires [101].

➤ Habitats

Bactérie commensale du tube digestif de l'homme et des animaux (mammifères, oiseaux) et témoin de contamination fécale de l'environnement (eau de baignade, aliments) [101].

➤ Taxonomie

Tableau 4 : Taxonomie *E. coli* selon Bergy's manual 2004 [102].

Règne	Procaryotae
Domaine	Eubacteria
Phylum	Proteobacteria
Classe	Gammaproteobacteria
Ordre	Enterobacteriales
Famille	<i>Enterobacteriaceae</i>
Genre	<i>Escherichia</i>
Espèce	<i>Escherichia coli</i>

➤ Forme

Les bactéries *Escherichia coli* sont généralement des bacilles (Figure 10) à extrémité arrondie à gram négatif en forme des bâtonnets (longueur de 2,0 à 6,0 μm et largeur de 1,1 à 1,5 μm). La forme réelle de ces bactéries, cependant varie des cellules sphériques (Cocci) en passant par des tiges clonées ou filamenteuses. *Escherichia coli* ne forme pas de pores et est habituellement mobile par l'action de flagelles péritriches [103].

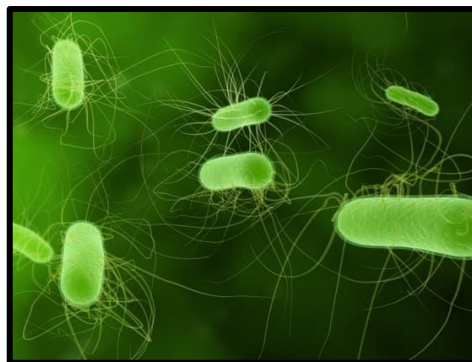


Figure 10 : Observation microscopique de *E. coli* [Web 2]

➤ Pouvoir pathogène

Les *E. coli* sont très répandus dans la microflore intestinale des individus en bonne santé et peuvent provoquer des maladies lorsqu'ils sont directement inoculés dans des sites extra-intestinaux. *E. coli* diarrhéique peut être divisé en six groupes : *E. coli* entérotoxigène (ETEC), *E. coli*

entéropathogène, *E. coli* entérohémorragique, *E. coli* entéroinvasif, *E. coli* à adhérence diffuse et *E. coli* entéroaggrégatif [104].

6.1.2. Le genre *Klebsiella*

Parmi les bacilles à Gram négatif ce genre est le deuxième pathogène couramment impliqué dans les bactériémies après *Escherichia coli* [105].

➤ Habitat

Klebsiella spp est omniprésente dans la nature et a été trouvée dans les eaux de surface, les eaux usées, le sol et les plantes, et colonise les muqueuses, surfaces de mammifères tels que les humains, les chevaux et les porcs [106].

➤ Forme

Klebsiella spp appartient aux bacilles à Gram négatif (Figure 11), anaérobies facultatifs, non mobiles et non flagellés. Ce sont des bactéries commensales du nasopharynx et du tube digestif [107].



Figure 11: Observation microscopique de *Klebsiella pneumoniae* [Web 3].

➤ Taxonomie

Tableau 5 : Taxonomie genre *Klebsiella* selon Bergy's manual 2004 [102].

Règne	Procaryotae
Domaine	Eubacteria
Phylum	Proteobacteria
Classe	Gammaproteobacteria
Ordre	Enterobacteriales
Famille	<i>Enterobacteriaceae</i>
Genre	<i>Klebsiella</i>

➤ Pouvoir pathogène

Les bactéries appartenant au genre *Klebsiella* sont souvent à l'origine d'infection nosocomiale chez l'homme, la grande majorité des infections à *Klebsiella* sont associées à l'hospitalisation et sont considérées comme des agents pathogènes opportunistes.

Klebsiella spp attaque principalement les personnes immunodéprimées qui sont hospitalisées et souffrants de maladies graves comme le diabète sucré ou l'obstruction chronique pulmonaire [108].

5.1.3. Le genre *Serratia*

Les espèces du genre *Serratia* sont des bactéries anaérobies facultatives, chimio-organotrophiques, ayant de faibles besoins nutritionnels [109].

➤ Habitat

Sont largement distribués dans l'environnement (eau, sol et plantes) et peuvent être retrouvés dans l'intestin des rongeurs et occasionnellement dans le tractus intestinal humain. *Serratia spp*, semblent coloniser le tractus intestinal du nouveau-né prématuré lorsqu'il est en soins intensifs, mais sont rarement trouvés chez le personnel ou les mères [110].

➤ Forme

Ce sont des bâtonnets Gram négatif (Figure 12) qui mesurent 0,9 à 2 μm de longueur et 0,5 à 0,8 μm de diamètre. Elles possèdent un flagelle péritriche qui leur permet de nager et de se déplacer en faisceau en forme d'hélice (avec différenciation) [109].



Figure 12 : Observation microscopique de *Serratia marcescens* [Web 4].

➤ Taxonomie

Tableau 6 : Taxonomie genre *Serratia* selon Bergy's manual 2004. [102]

Règne	Procaryotae
Domaine	Eubacteria
Phylum	Proteobacteria
Classe	Gammaproteobacteria
Ordre	Enterobacteriales
Famille	<i>Enterobacteriaceae</i>
Genre	<i>Serratia</i>

➤ Pouvoir pathogène

La plupart des infections causées par *Serratia spp* sont des infections nosocomiales. L'espèce la plus communément isolée est *S. marcescens* [111].

Serratia marcescens, est une espèce qui produit de la prodigiosine (pigment rouge non diffusible), elle est un agent pathogène opportuniste important, responsable d'infections nosocomiales.

D'autres espèces peu ou pas pathogènes sont connues : *Serratia odorifera*, *S. rubidaea* (isolée de noix de coco pendant leur transport et leur stockage, produisant le pigment rouge), *S. plymuthica*... [112].

6.1.4. Le genre *Proteus*

➤ Habitat

L'habitat de *Proteus* est largement distribué dans l'environnement. En tant qu'agent pathogène humain opportuniste, *Proteus* se trouve dans le tractus gastro- intestinal humain et animal, la peau et la muqueuse buccale, ainsi que dans les matières fécales, le sol, l'eau et les plantes [113].

➤ Forme

Les espèces de *Proteus* sont des bâtonnets droits courts (Figure 13) (1,5 à 2 µm) qui présentent un dimorphisme sous forme « nageantes » et « grouillantes », comme le font certains autres membres de la famille des *Enterobacteriaceae*. Les cellules nageuses prédominent dans les environnements liquides sous forme de cellules individuelles avec 4 à 10 flagelles péritriches [114].

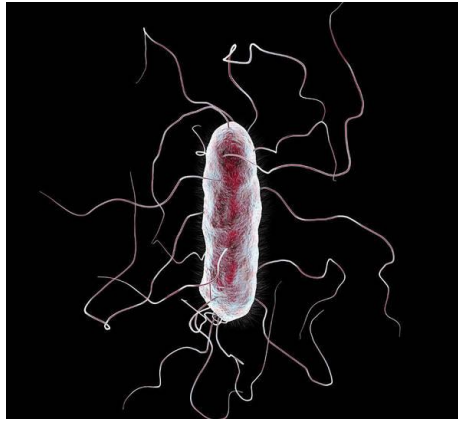


Figure 13 : Observation microscopique de *Proteus Mirabilis* [Web 5].

➤ Taxonomie

Tableau 7 : Taxonomie genre *Proteus* selon Bergy's manual 2004[102].

Règne	Procaryotae
Domaine	Eubacteria
Phylum	Proteobacteria
Classe	Gammaproteobacteria
Ordre	Enterobacteriales
Famille	<i>Enterobacteriaceae</i>
Genre	<i>Proteus</i>

➤ Pouvoir pathogène

Les *Proteus* en général constituent des bactéries uropathogènes majeures : infections non compliquées du tractus urinaire, infections chez des patients prédisposés (altérations structurales du tractus urinaire, diabète, acte chirurgical). Les *Proteus* sont également retrouvés fréquemment les septicémies, surtout chez les personnes âgées.

Les *Proteus* (surtout *P. mirabilis*) peuvent infecter la peau et les tissus (plaies, abcès divers). Ce genre est souvent impliqué dans des infections nosocomiales, deux tiers des infections à *Proteus* sont d'origine hospitalière, les infections urinaires sont les plus fréquentes [115].

6.1.5. Le genre *Enterobacter*

➤ Habitat

Le genre *Enterobacter* est associé à une variété d'habitats environnementaux, ces bactéries sont récupérées du sol et de l'eau et sont endophytes ou considérées comme des phytopathogènes pour diverses espèces végétales. De plus, *Enterobacter spp* sont aussi commensaux naturels du microbiote intestinal animal et humain [116].

➤ Forme

Les espèces du genre *Enterobacter* sont des bacilles droits (Figure 14) à Gram négatif de 0.6 à 1.0 µm de diamètre sur 1.2 à 3.0 µm de longueur, ils se présentent de manière isolée, groupée ou en courtes chainettes, mobiles par des flagelles péritriches (généralement de 4 à 6) et ils sont asporogènes comme toutes les *Entérobactéries* [117].

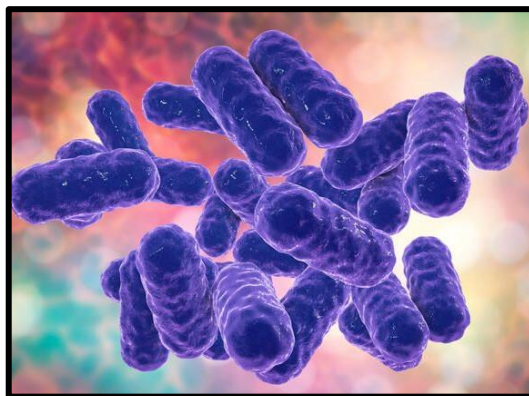


Figure 14 : Observation microscopique d'*Enterobacter aerogenes* [Web 6].

➤ Taxonomie

Tableau 8 : Taxonomie genre *Enterobacter* selon Bergy's manual 2004. [102]

Règne	Procaryotae
Domaine	Eubacteria
Phylum	Proteobacteria
Classe	Gammaproteobacteria
Ordre	Enterobacteriales
Famille	<i>Enterobacteriaceae</i>
Genre	<i>Enterobacter</i>

➤ Pouvoir pathogène

Les *Enterobacter* sont des pathogènes opportunistes responsables, en milieu hospitalier surtout d'infections urinaires, de bactériémies, de méningites ou de suppurations diverses [100].

PARTIE 2

Etudes expérimentales

Matériel et Méthodes

I. Matériel végétal

La plante choisie est *Syzygium aromaticum* (le clou de girofle) une plante aromatique et médicinale disponible sur le marché tout au long de l'année. Ce végétal est classé parmi les plantes les plus utilisées comme source d'épices et d'extraits à qualité médicinale intéressante. Nous avons acquis le végétal considéré chez un Herboriste dans la région de Skikda.



Figure 15 : Matériel végétal utilisé lors des expériences *Syzygium aromaticum*
[Photo personnelle].

II. Extraction de l'huile essentielle

La méthode de choix est l'hydrodistillation, vue qu'elle est la plus employée à l'échelle industrielle pour la production d'HE, la plus simple et la moins coûteuse avec une reproductibilité facilement contrôlable.

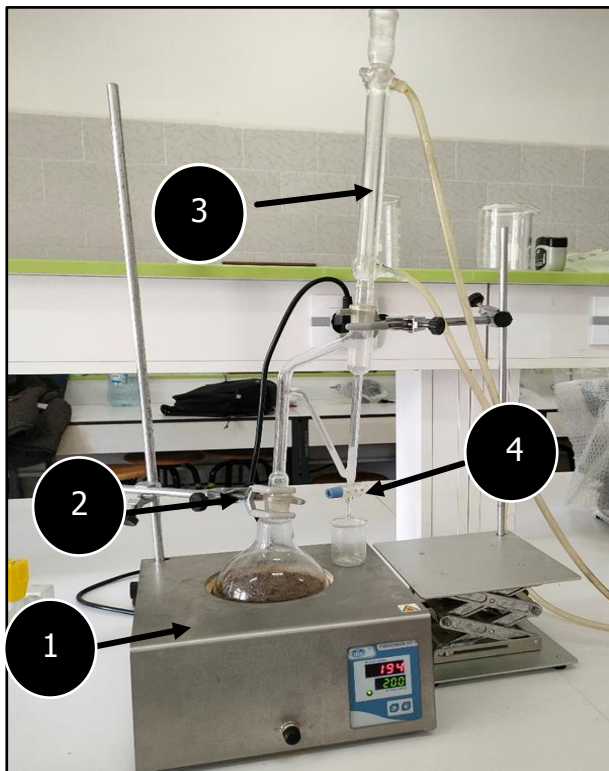
Ainsi, nous avons réalisé l'hydrodistillation à l'aide d'un appareil du type Clevenger au laboratoire de Botanique de l'E.N.S.E. T. Skikda.

1. Méthodologie

1.1.Principe

L'extraction de l'HE de clou de girofle a été faite par hydrodistillation en utilisant un appareil de type Clvenger XX (Figure 16). D'après Bruneton [118], cette méthode consiste à immerger directement le matériel végétal à traiter dans un ballon rempli d'eau qui est ensuite porté à ébullition grâce à un chauffe- ballon. La chaleur permet l'éclatement des cellules végétales et la libération des molécules odorantes qui y sont contenues. Les vapeurs sont condensées dans un réfrigérant.

La vapeur saturée en huile essentielle traverse un serpentin où elle se condense pour donner deux produits : hydrolat (distillat) et huile essentielle.



• **La légende :**

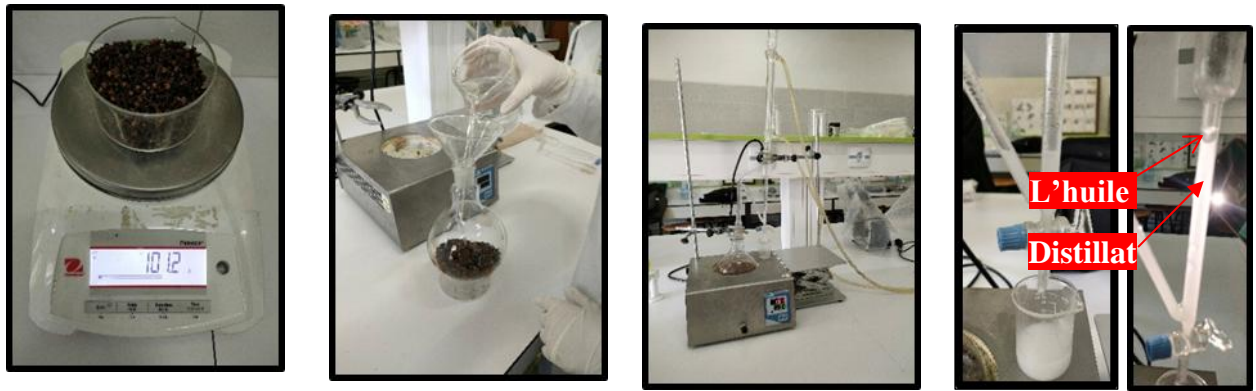
- 1-Chauffe ballon
- 2-Ballon + matériel végétale et l'eau distillé
- 3-Tube réfrigérant
- 4- éprouvette (distillat + huile essentielle)

Figure 16 : Montage de l'appareil d'hydrodistillation (laboratoire l'E.N.S.E. T Skikda)

[Photo personnelle].

1.2. Mode opératoire

- Pèse 100 g de clou de girofle.
- Introduire la quantité dans un ballon de 1000 ml, Après on ajoute 450 ml d'eau distillée.
- En chauffant, l'eau s'évapore entraînant avec elle les molécules aromatique.
- En passant, dans un réfrigérant, l'eau se condense rapidement et se retrouve dans l'ampoule de décantation qui permet la séparation immédiate de l'essence par sa densité.
- Après 2h30min d'extraction l'huile essentielle est récupérée [119].



Figures 17 : l'extraction d'huile essentielle de *Syzygium aromaticum*

[Photo personnelle].

2. Calcul du rendement en huile essentielle

Selon la norme AFNOR [120], le rendement en huile essentielle est défini comme étant le rapport entre la masse de l'huile essentielle obtenue après extraction est la masse de la matière végétale utiliser, il est exprimé en pourcentage et calculé par la formule suivante :

$$R\% = \frac{P_b}{P_a} \times 100$$

Sachant que :

- R : rendement de l'huile essentielle en (%).
- P_b : poids de l'huile essentielle récupérée en gramme.
- P_a : poids de la matière végétale sèche en gramme.

3. Conservation de l'huile essentielle

L'huile essentielle a été récupérée dans un récipient opaque, brun de préférence et a été conservée à l'abri de la lumière à une température de 4°C jusqu'au moment de l'utilisation.

III. Etude analytique de l'huile essentielle

Afin d'évaluer la qualité, nous avons réalisé une étude analytique, tout d'abord en déterminant les caractéristiques organoleptiques, les propriétés physico-chimiques. Nous avons réalisé l'étude analytique de HE extraite, au laboratoire de botanique de l'E.N.S.E.T. Skikda.

1. Propriétés organoleptiques de l'huile essentielle

Nous avons déterminé les propriétés organoleptiques de l'essence extraite, à savoir : la couleur, l'odeur et l'aspect.

2. Propriétés physico-chimiques de l'huile essentielle

Ces propriétés constituent un moyen de vérification et de contrôle de la qualité de l'HE. Nous avons conduit nos essais selon des protocoles précis et obéissant à des normes édictées par l'Organisation Mondiale (I.S.O), pour l'huile essentielle du clou de girofle c'est la norme qui est en vigueur.

2.1. L'indice de réfraction

L'indice de réfraction d'un milieu homogène est le pouvoir que possède ce milieu de dévier un rayon lumineux arrivant sur la surface. La mesure de l'indice de réfraction de l'huile essentielle s'effectue à l'aide d'un réfractomètre. Après l'étalonnage de l'appareil à l'aide de matériaux de référence certifiés, on place l'huile essentielle du clou de girofle dans la cellule de mesure jusqu'au trait signal. Au bout de 15 secondes (temps nécessaire pour que l'appareil soit stabilisé). Lire la valeur affichée sur l'appareil [121].

2.2. L'indice de pH

Le pH est l'abréviation du potentiel d'hydrogène qui mesure l'activité chimique des ions hydrogènes (H⁺) (appelés aussi couramment protons) en solution. Plus couramment, le pH mesure l'acidité ou la basicité d'une solution. Il s'agit d'un coefficient permettant de savoir si une solution est acide, basique ou neutre : elle est acide si son pH est inférieur à 7, neutre s'il est égal à 7 et basique s'il est supérieur à 7 [122].

IV. Recherche de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle extraite

Afin d'évaluer l'activité antibactérienne de notre extrait, nous avons choisi la méthode de diffusion en milieu solide, appelée aromagramme, méthode décrite par Vincent [123]. Cette méthode est la plus utilisée dans la littérature, car elle est relativement rapide, peu coûteuse facilement reproductible et ne nécessite pas un équipement de laboratoire sophistiqué.

1. Souches bactériennes test-objet

Cinq (5) souches bactériennes à Gram négatif identifiées et incriminées dans les infections urinaires, ont été gracieusement offertes par le laboratoire de l'EPH de Tamalous, le laboratoire d'analyse médicale "El Amane" de Tamalous et le laboratoire de microbiologie de l'Hôpital Dorban d'Annaba (Tableau 9).

Tableau 9 : Les souches bactériennes tests-objet

Genres/Espèces	Numéro de référence de souche	Provenance
<i>E. coli</i>	3966	Laboratoire de l'EPH de Tamalous
<i>E. coli</i>	4688	
<i>E. coli</i>	4145	
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	5435	
<i>Proteus spp</i>	5422	
<i>Enterobacter spp</i>	5470	
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	154	Laboratoire d'analyse médicale "El Amane" de Tamalous
<i>Serratia spp</i>		Laboratoire de microbiologie de l'Hôpital Dorban d'Annaba

2. Aromatogramme

L'aromatogramme est une technique inspirée de l'antibiogramme, disposant des souches bactériennes en présence d'extraits d'huile essentielle. L'effet antibactérien est déterminé en fonction des capacités d'inhibition de la croissance des bactéries par les huiles extraites [124].

2.1. Principe

Selon la société française de microbiologie **Pharmacopée Européenne**, la technique repose sur la diffusion de l'extrait sur le milieu solide dans une boîte de Pétri, après un certain temps de contact entre le produit et le microorganisme cible, l'apparition et l'importance du diamètre de la zone d'inhibition reflète l'impact de l'huile sur les souches bactériennes. Ainsi, ces dernières seront qualifiées de sensibles ou très sensibles, extrêmement sensibles, ou résistantes [125].

2.2. Préparation des pré cultures

L'activité antibactérienne doit être réalisée sur des souches bactériennes jeunes en phase de croissance exponentielle. La réactivation des souches bactérienne est effectuée par repiquage à la surface de la gélose nutritive pré coulée en boîte de Pétri, et ensuite incubée à 37C° pendant 18 à 24h.

2.3. Préparation de l'inoculum

Préparer des suspensions pour chaque espèce. A l'aide d'une anse de platine on prélève deux ou trois à cinq colonies pures et bien isolées qu'on décharge dans un tube contenant 5 à 10 ml d'eau

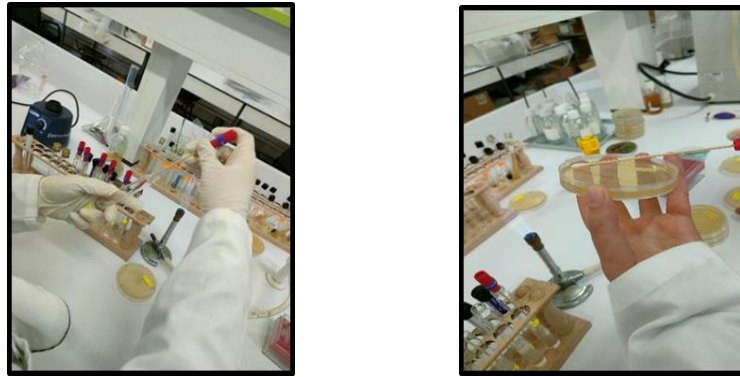
physiologique stérile. Agiter au vortex pendant quelques secondes. L'inoculum peut être ajuster en ajoutant, soit de la culture est trop faible, ou bien de l'eau physiologie stérile s'il est trop fort. L'inoculum doit être ensemencé dans les 15mn qui suivent sa préparation.



Figure 18 : Les étapes de préparation de l'inoculum [Photo personnelle].

1.4. Ensemencement

- Le milieu de culture utilisé est Muller-Hinton (MH), qui est le milieu le plus employé pour les tests de sensibilité aux agents antimicrobiens.
- D'abord on va commencer par le coulement de milieu dans les boites pétries à une épaisseur de 4 mm pour la solidification.
- Tremper un écouvillon stérile dans la suspension microbienne (il évite la contamination du manipulateur et de la paillasse).
- L'essorer en le passant fermement, en tournant sur la paroi interne du tube, afin de le décharger au maximum.
- Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, sèche, de haute en bas, en stries serrées.
- Répéter l'opération trois fois, en tournant la boîte de Pétri de 60° à chaque fois, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même. Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.



Figures 19 : Techniques d'ensemencement en milieu Muller-Hinton (MH) [Photo personnelle].

2.4. Dépôts de disque

A l'aide d'une pince stérile, deux disques stériles ont été déposés à la surface de la gélose ensemencée et séchée, l'un imbibé de 10 μ l d'huile essentielle pure et l'autre est un disque témoin vierge dépourvu de tout extrait.

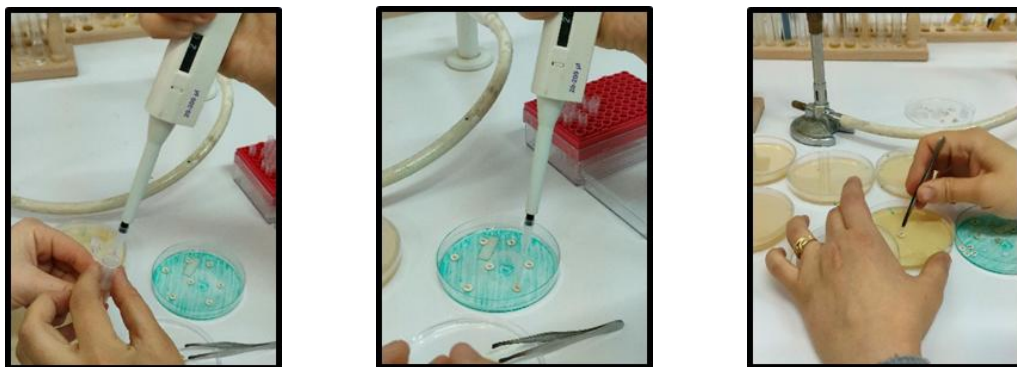


Figure 20 : Dépôt des disques imbibés d'HE [Photo personnelle].

2.5. L'incubation

La durée d'incubation des boîtes est de 24 h à 37°C. La lecture des résultats se fait par l'observation de la présence ou l'absence de la croissance microbienne.

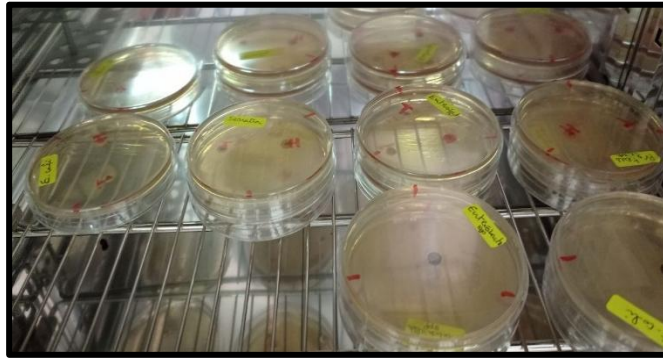


Figure 21 : L'incubation des boîtes [Photo personnelle].

2.6. Lecture

L'activité antibactérienne lorsqu'elle existe est estimée en mesurant les diamètres des zones d'inhibition autour des disques chargés d'HE, à l'aide d'un pied à coulisse. Ce qui classe ainsi les souches bactériennes dans l'une des catégories suivantes selon **Ponce** et ses **collaborateurs [126]** :

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

Résultats et Discussion

1. Extraction et rendement en huile essentielle

L'extraction de l'huile essentielle de clou de girofle (100g) par hydrodistillation, a donné un rendement de 1.9%.

En termes de valeurs, le rendement en HE de clou de girofle est significativement meilleur par rapport à celui obtenu par **A. López-Malo et al [127]**, dont le rendement est égal à 2,7 % par rapport au poids de la matière sèche (150 g).

D'autres résultats rapportés par **Walid Yeddes et ses collaborateurs [128]** sur l'HE de *Syzygium aromaticum* qui a généré un rendement moyen de 5,11 % de quantité de 500 g de clou de girofle.

Ces variations dans le rendement peuvent être attribuées à plusieurs facteurs en même temps d'une part à la quantité la drogue utilisée et à une perte d'huile dans la phase aqueuse du distillat (conditions d'hydrodistillation) d'autre part.

2. Caractéristiques organoleptiques de l'huile essentielle extraite

Les propriétés organoleptiques de l'HE extraite, sont résumées dans le tableau ci-dessous.

Tableau 10 : Caractéristiques organoleptiques de l'huile essentielle de clou de girofle.

	Aspect	Couleur	Odeur
Norme AFNOR limpide parfois, légèrement visqueux	Liquide mobile Limpide parfois, légèrement visqueux	Jaune très clair	Epicée Caractéristique de l'eugénol
Huile essentiel étudiée	Liquide mobile limpide	Jaune claire	Epicée

Alors, on remarque que notre huile essentielle extraite, présente des caractéristiques organoleptiques identiques à celles décrites par les normes d'AFNOR.

3. Propriétés physico-chimiques de l'huile essentielle

3.2. L'indice de réfraction :

La valeur d'indice de réfraction de notre essence est de 1.536 (Tableau 11).

Tableau 11 : Valeur obtenue de l'indice de réfraction.

	HE de <i>Syzygium aromaticum</i>	Normes AFNOR
Indice de réfraction	1.5361	[1.4830 - 1.510]

L'indice de réfraction est le rapport entre la célérité de la lumière dans le vide et la célérité de la lumière dans le milieu considéré. Ce rapport indique la capacité des HEs à réfléchir la lumière. La valeur de l'indice de réfraction (Tableau 11) de notre échantillon correspond aux normes AFNOR. Elle indique sa faible réfraction à la lumière.

3.3. L'indice de pH

Tableau 12 : Valeur obtenue de l'indice de pH.

	HE de <i>Syzygium aromaticum</i>	Normes AFNOR
pH	6	[5.5 - 7]

La valeur de pH obtenue rentre dans l'intervalle de la norme AFNOR.

4. Recherche de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle extraite

1. Aromatogramme

Les souches bactériennes test-objet mises à notre disposition appartenant à la famille des *Enterobacteriaceae*. L'effet antibactérien de notre essence a été évalué par mesure du diamètre de la zone d'inhibition autour de chaque disque.

En référence à la classification de **Ponce** et ses **collaborateurs [126]**, il ressort que toutes les souches sont sensibles à l'huile essentielle avec des diamètres allant de 11mm à 36mm. Ce qui permet de qualifier d'excellente l'activité de notre huile sur toutes les souches testées. Le tableau (tableau 13) résume les résultats obtenus.

Tableau 13 : Diamètres des zones d'inhibition de l'HE testées sur les souches.

Souches bactériennes		Diamètres des zones d'inhibition (mm)	Sensibilité
Gram (-)	<i>Escherichia coli</i> 1	26	(+++)
	<i>Escherichia coli</i> 2	22	(+++)
	<i>Escherichia coli</i> 3	25	(+++)
	<i>Klebsiella pneumoniae</i> 1	12	(+)
	<i>Klebsiella pneumoniae</i> 2	35	(+++)
	<i>Enterobacter spp</i>	11	(+)
	<i>Proteus spp</i>	36	(+++)
	<i>Serratia spp</i>	29	(+++)

- (+++) : Extrêmement sensible
- (++) : très sensible
- (+) : sensible

D'après les résultats obtenus (Tableau 13), l'huile essentielle de *Syzygium aromaticum* est beaucoup plus active sur la souche de *Proteus spp* et *Klebsiella pneumoniae* 2 (35mm- 36mm) ; par ailleurs une autre souche de *Klebsiella pneumoniae* 1 et *Enterobacter spp*, se sont montrées moins sensibles à l'HE extraite.

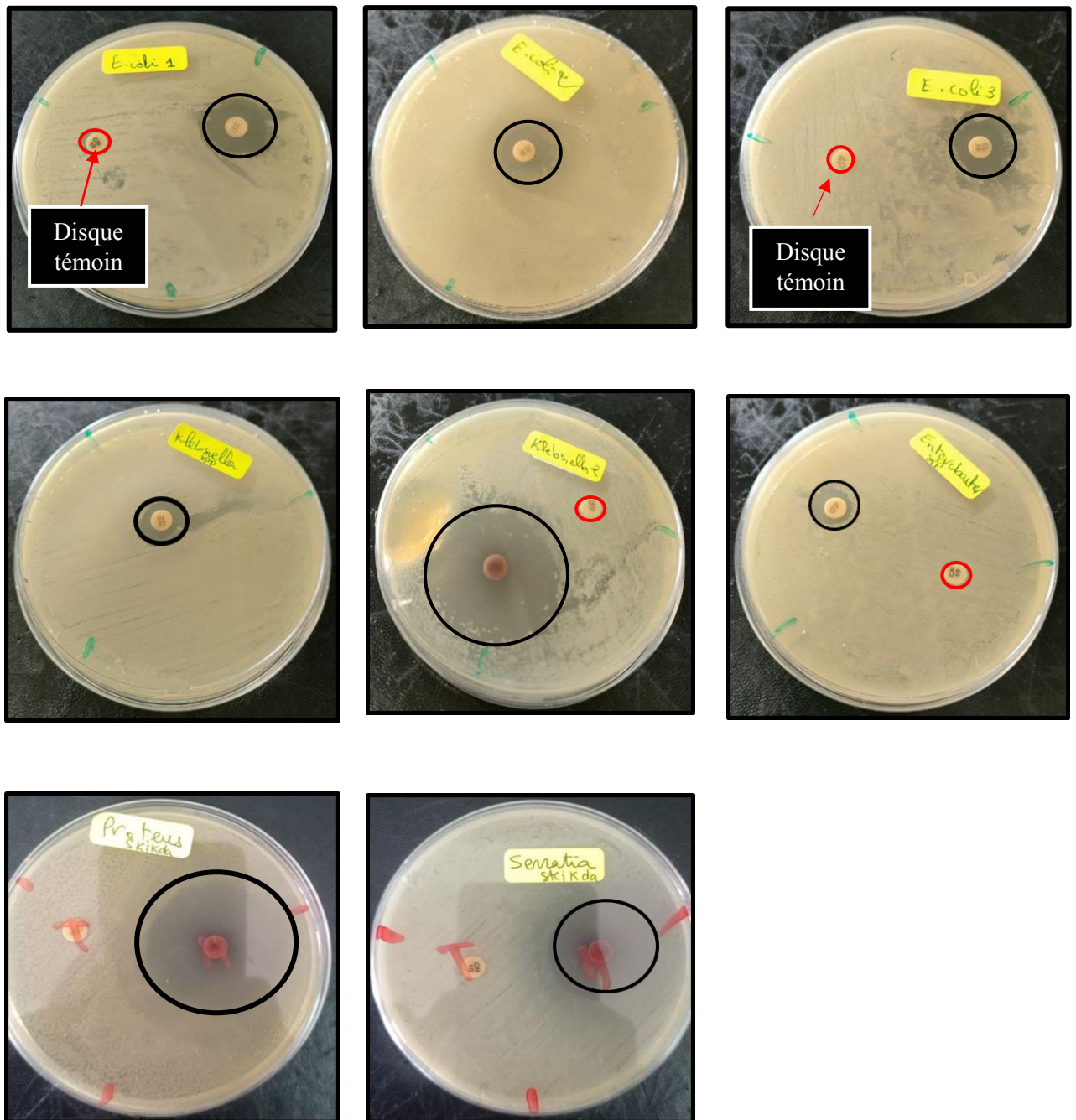


Photo 22 : Diamètres des zones d'inhibition de l'HE de *Syzygium aromaticum* testée sur les souches *E. coli* , *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter spp.*, *Proteus spp.*, *Serratia spp.*

Cependant certains auteurs rapportent une activité significative de l'extrait bioactif du clou de girofle sur 60 isolats dont 36 souches d'*E. coli* provenant de l'urine de patients atteints d'IVU avec des zones d'inhibitions comprise entre 14mm et 16mm [129].

D'autres travaux de Hassan A. et ses collaborateurs [130] ; ont également révélé un effet important du même extraie sur avec des zones d'inhibition de 25 mm et 20mm pour *E. coli* et *Serratia spp* respectivement.

Par ailleurs, la souche d'*Enterobacter spp* s'est révélée sensible à l'huile extraite du clou de girofle avec un diamètre allant de 8 à 17 mm [131].

Nos résultats concordent avec ceux obtenus par Sharmeen et al [132], L. Dhara, A. Tripathi [133] sur la souche de *K. pneumoniae*, qui s'est montrées sensible à l'HE de *Syzygium aromaticum* dont les diamètres des zones d'inhibition oscillent entre 20mm et 30mm.

De cela, on peut tirer que cette activité pourrait être attribuée à son composé majoritaire "l'eugénol". Chaieb et al [78] et Valero et Giner [134] ont montré que l'eugénol, composant majoritaire de l'huile essentielle de clou de girofle (88,58%) appartient à la famille des phénols.

Selon Gill et Holley [135], le mécanisme d'action d'eugénol se repose sur la perturbation de la membrane cytoplasmique, ce qui augmente sa perméabilité non spécifique.

D'autre part, selon Burt S.A [136] l'eugénol est caractérisé par son hydrophobicité responsable de sa pénétration dans la membrane cellulaire, la partie hydroxyle de l'eugénol lié aux protéines de la membrane, ce dernier ensuite bloque le fonctionnement de ces protéines. Conduisant à une altération de la membrane cytoplasmique par la modification de sa structure et sa fonction, comme il augmente la perméabilité non sélective et une perte de l'intégrité membranaire et par conséquent une fuite des intracellulaire aboutissant finalement à la mort cellulaire.

Il est connu dans la littérature que les bactéries à Gram-positif sont plus sensibles aux huiles essentielles et extraits végétaux que les bactéries Gram-négatif [137,138].

De cela, on peut tirer que cette activité est attribuée aux dérivés phénoliques (Eugénol) et que plus l'HE est riche en phénols meilleure est l'activité [139].

Conclusion

L'huile essentielle de *Syzygium aromaticum* (clou de girofle) présente plusieurs propriétés antibactériennes, ce qui fait d'elle une des solutions que l'on peut proposer pour soulever le défi de l'antibiorésistance.

L'huile essentielle obtenue par hydrodistillation a donné un rendement de 1.9%. Les propriétés organoleptiques, l'indice de réfraction et l'indice de pH de l'HE extraite correspondent aux normes AFNOR.

L'activité antibactérienne a été évaluée sur huit souches bactérienne test-objet isolées à partir d'infections urinaires. *Escherichia coli* (n=3), *Enterobacter spp* (n=1), *Serratia spp* (n=1), *Klebsiella pneumoniae* (n=2) et *Proteus spp* (n=1).

Cependant, ces souches sont sensibles à l'HE de *Syzygium aromaticum*, avec des diamètres des zones d'inhibition allant de 11 mm à 36 mm ce qui permet de qualifier d'excellente l'activité de notre huile sur toutes les souches testées.

L'activité de l'huile extraite sur la plupart des bactéries testées dans cette étude semble s'expliquer par la présence en forte teneur d'eugénol composant majoritaire du clou de girofle. Ce dernier fait partie de la famille des Phénols qui sont actifs sur les cellules bactériennes car solubles dans les milieux aqueux, ils provoquent d'importants dommages sur les parois bactériennes.

Par ailleurs, son effet important sur les pathogènes, constitue un atout quand à la perspective d'usage de cette substance comme molécule antibactérienne dans l'arsenal thérapeutique. Cependant, les HEs sont des éléments contribuant à la solution des problèmes de résistances et de la limite des synthèses chimiques de produits antimicrobiens. Ainsi, c'est un patrimoine à préserver, à développer et à valoriser, dans l'industrie agroalimentaire et pharmaceutique.

- [1] **Salisu. A., Iyasu. M. Y., et al., 2022.** Antimicrobial potential of *Syzygium aromaticum* (clove) extracts on multidrug-resistant (MDR) uropathogenic bacteria isolated from clinical specimens in Bauchi, Nigeria. *Journal of Advances in Medical and Pharmaceutical Sciences (JAMPS)*, 24(95522), p41-57.
- [2] **Stamm. E., Ragnar. N. S. 2001.** Urinary tract infection: Disease panorama and challenges. *Journal of Infectious Diseases*, p41-57.
- [3] **Rosarior. V. L., Lim. P. S., Wong. W. K., et al. 2021.** Antioxidant-rich clove extract, a strong antimicrobial agent against urinary tract infection-causing bacteria in vitro. *Tropical Life Sciences Research*, 32(2), p45-63.
- [4] **Organisation mondiale de la santé. Plan d'action mondial pour combattre la résistance aux antimicrobiens. Genève (Suisse) : OMS ; 2016 [en ligne].** Disponible sur : <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/249548/9789242509762-fre.pdf>.
- [5] **Zahir. I., Er-rahmany. A., et al. 2020.** Activités biologiques de *Tetraclinis articulata* : revue de synthèse. *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*, v89, p93.
- [6] **Bakli. S., 2020.** Activité antimicrobienne, antioxydante et anticoccidienne des extraits phénoliques de quelques plantes médicinales locales (Thèse de doctorat, Université Ferhat Abbas Sétif 1, Faculté des Sciences de la nature et de la vie), p1.
- [7] **Québec Amérique International. 1996.** L'encyclopédie visuelle des aliments : Herbes, épices et condiments. Québec Amérique, p483.
- [8] **Ghedira .K., Goetz .P. 2012.** "Phytothérapie anti-infectieuse : *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & Perry (*Myrtaceae*): Giroflier", Springer-Verlag France, Paris, p281–290.
- [9] **Lim.T. K., 2014.** "Edible medicinal and non-medicinal plants: *Syzygium aromaticum*", Springer Science Business Media Dordrecht, vol 8, Flowers, p461.
- [10] **Ghedira. K., Goetz. P., Le Jeune. R. 2010.** Phytothérapie: *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & Perry (*Myrtaceae*): Giroflier. Springer-Verlag France, vol 8, p 37–38.
- [11] **Gloria Aderonke Otunola. 2022.**"Culinary Spices in Food and Medicine: An Overview of *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. and L. M. Perry [*Myrtaceae*]," *Frontiers in Pharmacology*, vol 12(793200), p7.
- [12] **Mbaveng. A.T., Kuete .V. 2017.**"Medicinal Spices and Vegetables from Africa: Chapter 29 / *Syzygium aromaticum*", Elsevier Inc. All rights reserved, p611.

- [13] Girard.CH., Dupré.A.1894. Encyclopédie chimique : Analyse des matières alimentaires et recherche de leurs falsifications, p656.
- [14] Danthu.P., Penot.P., et al. 2014. "The clove tree of Madagascar : A success story with an unpredictable future". Bois et Forêts des Tropiques, 320(2), p83-96.
- [15] Faucon. M., 2012. Traité d'aromathérapie scientifique et médicale : fondements & aide à la prescription monographies : huiles essentielles, huiles végétales, hydrolats aromatiques. Sang et Terre. Paris, p879.
- [16] Perrier de la Bâthie. H., 1953. Flore de Madagascar et des Comores, 152ème famille *Myrtacées*. Firmin-Didot et Cie. Paris, pp 1-2.
- [17] Amshoff. G.J.H., Aymonin. G.G. 1966. *Myrtaceae Thymeleaceae*. Muséum national d'histoire naturelle, Paris, p3-4-16.
- [18] Razafimamonjison. G., Boulanger. R., et al. 2016. Recherche interdisciplinaire pour le développement durable et la biodiversité des espaces ruraux malgaches. Application à différentes thématiques de territoire : chapitre 2 pour l'optimisation de la qualité des produits du giroflier de Madagascar (clous et huiles essentielles) : étude des facteurs de leurs variabilités. Antananarivo : SCAC/PARRUR, Ed. MYE, p59.
- [19] FAO statistique agricoles (Données de l'Organisation des Nations unies pour l'alimentation et l'agriculture), 2012. Disponible sur : [<http://faostat3.fao.org>].
- [20] Comtrade de l'ONU. Base de données des statistiques du commerce international. [En ligne] Disponible sur : [<https://comtrade.un.org/>] .
- [21] Tanko.Y., Mohammed. A.2008. Anti-nociceptive and anti-inflammatory activities of ethanol extract of *Syzygium aromaticum* flower bud in wistar rats and mice. Afr. J. Trad. CAM .5 (2), 209 – 212.
- [22] Teuscher . E., Anton.R., Lobstein. A. 2005. In Plantes aromatiques : Girofle. TEC & DOC. Lavoisier, Cachan. pp 266-272.
- [23] El-Shouny. W.A., et al. 2019. *Syzygium aromaticum* L: Traditional herbal medicine against cag A and vac A toxin genes-producing drug resistant *Helicobacter pylori*. Journal of Traditional and Complementary Medicine, p1-5.
- [24] Mittal. M., Gupta. N., et al. 2014. Phytochemical evaluation and pharmacological activities of *Syzygium aromaticum*: a comprehensive review. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, 6(8), p 67.

- [25] **Leroy Jean-François. 1946.** "Le Giroflier et les Plantes à parfums." Revue internationale de botanique appliquée et d'agriculture tropicale, 26e année, bulletin n°286 bis, p426.
- [26] **Journal MIDI LIBRE .2009** .Epice de cuisine/origines et propriétés du clou de girofle [www.lemidi-dz.com] Disponible dans: http://www.lemidi-dz.com/index.php?operation=voir_article&id_article=magazine@art1@2009-12-22
- [27] **Edris.A.E., 2007.** "Pharmaceutical and therapeutic potentials of essential oils and their individual volatile constituents: a review." *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives* 21(4), p 308-323.
- [28] **Vigan.M., 2009.** Progrès en dermato-allergologie : les huiles essentielles : leur retour et leur toxicité. John Libbey Eurotext, p123.
- [29] **Duquenois.P., 1979.** Les médicaments aromatiques, leurs caractères, leur contrôle. Les actualités pharmaceutiques, 154, p 17-2.
- [30] **Bruneton.J., 2009.** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales, 4ème éd.Tec & Doc, Lavoisier, Paris. p570.
- [31] **Sell C.S., 2006.** The Chemistry of Fragrance. From Perfumer to Consumer. 2nd edition. The Royal Society of Chemistry. Cambridge. p329.
- [32] **Couic-Marinier.F., Lobstein.A., 2013.**Composition chimique des huiles essentielles. Actualités pharmaceutiques .52(525), p 22-25.
- [33] **Croteau.R., Kutchan.TM., Lewis.NG., 2000.** Chapter 24: Natural Products (Secondary Metabolites), *Biochemistry &Molecular Biology of Plants.* p 1251-1252.
- [34] **Couic-Marinier. F., Lobstein.A., 2013.** Les huiles essentielles gagnent du terrain. Actualités pharmaceutiques 52(525), p20-21.
- [35] **Hernandez-Ochoa L.R., 2005.** Substitution de solvants et matières actives de synthèse par combiné « Solvant/ Actif ». D'origine végétale. (Thèse de Doctorat de l'Institut National Polytechniques de Toulouse). France. p 32-34.
- [36] **Hany El- shemy., 2020.**Essential oils (oils of nature), Intech Open, p 52.
- [37] **Rassem.H.H., Nour. A. H., et al. 2016.** Techniques for extraction of essential oils from plants : a review. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences.*10(16), p 117-127.
- [38] **Ashraf.R., Ghufuran S., et al.2020.** "Cold pressed coriander (*Coriandrum sativum* L.) seed oil," in *Cold Pressed Oils*, Academic Press. pp345–356.

- [39] **Vankar. PS.,2004.** Huiles essentielles et parfums d'origine naturelle. Résonance .9 (4). p 30-41.
- [40] **Silva LV, Nelson DL., et al.2005.** Comparaison des méthodes d'hydrodistillation pour la désodorisation du curcuma. Food Res Int .38 (8_9), p1087_1096.
- [41] **Oreopoulou. A., Tsimogiannis .D., et al. 2019.** "Extraction of polyphenols from aromatic and medicinal plants : an overview of the methods and the effect of extraction parameters," Polyphenols in Plants, pp. 243–259.
- [42] **Mellal. Z., 2011.** Contribution à l'étude des propriétés antibactériennes et antioxydants de certaines huiles essentielles extraites des citrus. Application sur la sardine (sardine pilchardus), université Mouloude Mammeri de Tizi-Ouzou, p 9.
- [43] **Valderrama. F., Ruiz. F.,2018.** An optimal control approach to steam distillation of essential oils from aromatic plants, Computers and chemical Engineering). p6.
- [44] **Goudjil Mohamed. B., 2016.** Composition chimique activité antimicrobienne et antioxydante de trois plants aromatiques. (Thèse de doctorat. Université Kasdi Merbah, Ouargla). p25.
- [45] **Talati. A., 2017.** Extraction methods of natural essential oils. p 3.
- [46] **Velé. H., 2015.** Valorisation officinale des huiles essentielles autorisées dans les phytomédicaments, Thèse pour le diplôme d'état de docteur en Pharmacie, université Angers. p 46.
- [47] **Bousbia. N., 2011.** Extraction des huiles essentielles riches en antioxydants à partir de produit naturel et de co-produits agroalimentaires. (Thèse de doctorat. Chimie. Université D'avignon et des pays de Vaucluse). p16.
- [48] **Douglas. A., Skoog., 2003.** Chromatographie en fluide supercritiques et extraction : principes d'analyse instrumentale. Trad et rév. Scientifiques de la 5ème éd. Américaine : Deboeck-université, Paris, p 780.
- [49] **Lagunez Rivera. L., 2006.** Etude de l'extraction de métabolites secondaires de différentes matières végétales en réacteur chauffé par induction thermomagnétique directe. (Thèse de doctorat. Laboratoire de Chimie Agro – Industrielle). Toulouse. p40.
- [50] **de Souza. A.T., et al. 2008.** Supercritical extraction process and phase equilibrium of Candeia (*Eremanthuserythropappus*) oil using supercritical carbon dioxide. The Journal of Supercritical Fluids. 47(2). p 182-187.
- [51] **Xu. L., et al. 2021.** Recent advances on supercritical fluid extraction of essential oils, international journal of pharmacy and pharmacology,10(1). p1-16.

- [52] **Stratakos. A. C., Koidis. A., 2015.** Methods for extracting essential oils. In: Preedy. V., Editor. Essential oils in food preservation, flavor and safety. San Diego: Irish Academic Press. p930.
- [53] **Vercauteren. J., Cheze. C., Triaud. J., 1998.** Polyphenols 96- 18 th international conference, Bordeaux Institut national de la recherche agronomique (INRA), Paris. p7.
- [54] **Poux. M., Cognet. P., Gourdon. C., 2010.** Green process Engineering from concepts to industrial Applications, Laboratoire de Genie Chimique. CRC Press, Paris. p187.
- [55] **Li. Y., Fabiano-Tixier. A.S., et al. 2013.** Solvent free microwave extraction of bioactive compound provides a tool for green analytical chemistry, Trends in analytical chemistry, p47.
- [56] **Lamamra. M., 2018.** Activités biologiques et composition chimique des huiles essentielles d’*Ammiopsis aristidis* Coss (Syn. *Daucus aristidis* Coss.) et d’*Achilleasantolinoides* Lag. (Thèse de doctorat. Université de Sétif) p 34.
- [57] **Mancianti.F., Ebani.V. V., 2020.** Biological Activity of Essential Oils, licensee, *Molecules*.25, p678.
- [58] **Festy.D.,2014.** Ma Bible des huiles essentielles. Quotidien Malin, p16.
- [59] **Silvant. C., 2015.** L’aromathérapie : la nature au service de l’humanité. Publbook / Société écrivaines. Rue des volontaires.Paris -France, p35.
- [60] **Buronzo. M.A., 2008.** Grande guide des huiles essentielles. Hachette pratique, p 23.
- [61] **Bessah.R., Benyoussef. E.I., 2015,** La filière des huiles essentielles etat de l’art, impacts et enjeux socioéconomiques.*Revue des Energies Renouvelables* .18 (3),p513 – 528.
- [62] **Kheawfu.K., Pikulkaew.S., et al., 2018.** Development and characterization of clove oil nanoemulsions and self-microemulsifying drug delivery systems. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*. 46, p 330-338.
- [63] **Otto.M.A., 1909.** L’industrie des parfums d’après les théories de la chimie moderne : notations et formules, les parfums naturels, les parfums artificiels, H. Dunod et E. Pinat et E. Pinat, p329.
- [64] **Lobstein. A, Françoise C.M., et al. 2017.** Huile essentielle de clou de girofle. Elsevier Masson SaS. v56, p59.
- [65] **Samer Imene., et al. 2021.** Effet anti biofilms de l’huile essentielle des clous de girofle « *Syzygium aromaticum* ». Mémoire de master. Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou, p 29.

- [66] **Thakur. S., Choudhary. S., Kumari, I., et al.2017.** Clove (*Syzygium aromaticum*) – a review based upon its traditional therapeutic USES. International Journal of Current Research, v13, p16368-16375.
- [67] **Pramod.K., et al.2010.** Eugenol: A natural compound with versatile pharmacological actions. Natural Product Communications .5 (12),2000-2006.
- [68] **Priyadarshini.B.M., Antipina.M.N., et al .2018.** Formulation and characterisation of poly (lactic-co-glycolic acid) encapsulated clove oil nanoparticles for dental applications. IET Nanobiotechnology, 12,311-317.
- [69] **Nurdjannah. N., Yuliani. S., et al. 1997.** Pengolahan dan Diversifikasi hasil Cengkeh, in Kemala S. Monograf Tanaman Cengkeh. Balaipenelitian Tanaman Rempah dan Obat, Bogor, p150.
- [70] **Ikhlas. A., Khan. Eha., Abourashed. A., 2010.** Leug's encyclopedia of common natural ingredients, Jhonwiley & Sons, Inc. p 174-177.
- [71] **Baker, B. P., Grant, J. A., et al.2018.** Clove & Clove oil profite: Active Ingredient eligible for minimum risk pesticide use, New York state IPM Program, p5.
- [72] **Martini.N., 2015,** Cloves, Journal of primary health care, v7, p 163.
- [73] **Anonyme.,2010.** Herbicide risk assessment: Chapter 6-Clove oil (Eugenol), Marin Municipal Water District Vegetation Management Plan, p6-7.
- [74] **Lis-Balchin.M.,2006.** Aromatherapy science: A guide for healthcare professionals, pharmaceutical press, p 171.
- [75] **Kaloustian. J., Francis. H.M.,2012.** La connaissance des huiles essentielles : qualitologies et aromathérapies. Springer, France, Paris, p 26.
- [76] **Hussein. G., Miyashiro. H., Nakamura. N., et al. 2000.** Inhibitory effects of sudanese medicinal plant extracts on hepatitis C virus (HCV) Protease. Phytother Res v14.p510-516.
- [77] **Kurokawa. M., Houzumi. T., Basnet. P., et al.1998.** Purification and characterization of eugeniin as an anti-herpesvirus com-pound from Geum japonicum and *Syzygium aromaticum*, J Pharmacol Exp Ther. v284. p728-735.
- [78] **Chaieb. K., Hajlaoui. H., Zmantar. T., et al. 2007.** The Chemical Composition and Biological Activity of Clove Essential Oil, *Eugenia caryophyllata* (*Syziguim aromaticum* L. *Myrtaceae*). Phototherapy Research Res. v21. p501-506.
- [79] **Zheng. GQ., Kenney. PM., et al.1992.** Sesquiterpenes from clove (*Eugenia caryophyllatta*). J Nat Pod. v55. p999-1003.

- [80] **Nirmala. R., 2022.** Pharmaceutical properties of some common spices. Thanuj international publishers, p90.
- [81] **Shabir Ahmad. R., 2021.** Herbs and spices. Intechopen. p 127.
- [82] **Elizabeth. I., Chohan. O.M., 2021.** Culinary Herbs and Spices, Royal Society of chemistry, P 184.
- [83] **Bhageerathy Chempakam. T., Zachariah.J., et al. 2008.** Chemistry of spices, CABI, P 159.
- [84] **Tazebew.D., Getenet ;Beyeneet al. 2013.** Facteur de risque associés à l'infection des voies urinaires chez les femmes enceintes à l'hôpital de référence felegehiwot, bahir dar, Nord-Ouest de l'éthiopie, BioMed Central Research Notes, p1.
- [85] **Jean-Paul Belon. 2022.** Conseils à l'officine, Elsevier Health Sciences, p275.
- [86] **Lobel. B., Claude -J S., 2007.** Les infections urinaires, Springer- Verlag, France-Paris, p1.
- [87] **Zomahoun. C., 2004.** Evaluation de la sensibilité aux antibiotiques des bactéries isolées des infections urinaires au laboratoire de bactériologie du centre national hospitalier Universitaire – Hubert Koutoukou Maga de Cotonou (Benin). (Thèse de Doctorat en Pharmacie. Université de Mali, Faculté de médecine de pharmacie et d'odonto-stomatologie), p 107.
- [88] **Bréchet. A.C., Huttner. A., François. A., et al. 2013.** Infection urinaire service de médecine de premier recours, HuG, et service de maladies infectieuses HuG.p3.
- [89] **Bouvenot.G., Caulin.C.,2011.** Guide du bon usage du médicament, Médecine Science Publications, p861.
- [90] **Dasgupta. R., 2013,** Urinary tract infection, Springer, London, p 4-5.
- [91] **Tenke. P., 1987.**A review of uncomplicated urinary tract infections: Chapter 1 urinary tract infections. D.books. Springer.p5.
- [92] **Boutoille. 2011.** Infection urinaires, maladies infectieuses et tropicales IFSI Nantes, p19.
- [93] **Hilton.K., 2019.** Urinary tract infection treatment, healtaAmen, p4.
- [94] **Glaser. A. P., Schaeffer. A. J., 2015.** Urinary Tract Infection and Bacteriuria in Pregnancy. Urologic Clinics of North America, v42(4). p554.
- [95] **Pérez. R. P., Ortega. M.J.C., et al. 2019.** Recommendations on the diagnosis and treatment of urinary tract infection, A pediatri (borc); 90(6). 400.e1-400.e9.
- [96] **Jean-Paul Belon., Faure. S., Pillon. F., 2013.** Pathologies et thérapeutiques commentées : Enseignements spécifiques, intégrés et formation d'application, Elsevier Masson, p140.

- [97] Hygis. N., 1998. Hygiène hospitalière, Presses Universitaires de Lyon, p73.
- [98] Basseye. A., Anuli. S.J., et al. 2016. A review on the prevalence and predisposing factors responsible for urinary tract infection among adults. Euro. Exp.Bio., 6(4).7-11.
- [99] Van Duin. D., Doi. Y., 2017. The global epidemiology of carbapenemase producing *Enterobacteriaceae*, Virulence. v8(4). p460-469.
- [100] Cattoir. V., Denis. F.,Martin. C., et al. 2016. Bactériologie médicale Techniques usuelles, Elsevier Masson. p302- 319.
- [101] Lanotte. P., Pasquier. C., 2022. Bactériologie - Virologie L'enseignement en fiches. Elsevier Health Sciences, p 57.
- [102] Delarras. C., 2014. Pratique en microbiologie de laboratoire Recherche de bactéries et de levures-moisissures : chapitre 6 les *Enterobacteriaceae*, Lavoisier. pp233-239
- [103] Percival. S.L., 2013. microbiology of waterborne diseases, Elsevier science. p176.
- [104] Rodrigo. 2020. *E. coli* infections importance of early diagnosis and efficient treatment, intechopen, p 15-16.
- [105] Podschun. R., Ullmann. U.,1998. *Klebsiella spp.* as Nosocomial Pathogens: Epidemiology Taxonomy, Typing Methods, and Pathogenicity Factors. Clin Microbiol Rev, v11(4) p589-603.
- [106] Dongyou. L., 2009. Molecular Detection of Foodborne Pathogens Press, p392.
- [107] Golebiewska. J., Tarasewicz. A., et al. 2014. *Klebsiella spp* Urinary Tract Infections during first year after Renal Transplantation, Transplantation proceedings, v46. p2748-2751.
- [108] Podschun. K., Ullmann. U.,1998. *Klebsiella spp* As Nosocomial pathogens: Epidemiology, Taxonomy, Typing methods, and Pathogenicity factors, university of Kiel, Kiel, Germany.p589-603.
- [109] Anonyme ,2010. Fiche technique santé-sécurité : agents pathogènes *Serratia spp*, Agence de la santé publique du Canada.
- [110] Hawkey. P.M., Stephen. H., Gillespie, 2006. Principles and Practice of Clinical Bacteriology, Wiley, p383.
- [111] Paul. G. Engelkirk, Janet L., Duben-Engelkirk,2008. Laboratory Diagnosis of Infectious Diseases Essentials of Diagnostic Microbiology, Wolters Kluwer Health/Lippincott Williams & Wilkins , p308.
- [112] Delarras. C., 2010. Surveillance sanitaire et microbiologique des eaux, 2 éd, Lavoisier p89.

- [113] **Todd. E., Moy. G., Motarjemi. Y., 2013.** Encyclopedia of Food Safety. Elsevier science, v1. p 486.
- [114] **Hamilton. L.A., kamm. A. M., et al. 2018.** *Proteus spp.* As Putative Gastrointestinal Pathogens, clinical Microbiology reviews, v 31. p 1-19.
- [115] **Delmas. C., 2014.** Fiche technique : *Proteus vulgaris*. Centre Toulousain pour le Contrôle de qualité en Biologie clinique.
- [116] **Grimont. F. P., Grimont. A.D., 2006.** Chapter 3.3.9 The Genus *Enterobacter*, procaryotes, 6.p 179-214.
- [117] **Khenmochi, N., 2016.** Evaluation de l'antibiorésistance de genre *Enterobacter* aux Antibiotiques. (Thèse de doctorat : Microbiologie Appliquée. Annaba : Badji Mokhtar), p 6.
- [118] **Bruneton. J., 1999.** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales, 2ème éd. Ed. Tec & Doc, Lavoisier, Paris. p 1120.
- [119] **De Cliff. S., Harerimana. P. C., 2013.** Extraction de l'Huile Essentielle Complète des Fleurs de *Cananga Odorata* de la plaine de l'imbo : Vers la Vulgarisation d'une Nouvelle Filière de Plante Industrielle au Burundi. Revue de l'Université du Burundi-Série Sciences Exactes N° 28, S. De Cliff et PC Harerimana (Extraction de l'huile essentielle...) p 8-9.
- [120] **AFNOR. 1986.** Méthodes d'essai. Recueil des normes françaises.
- [121] **pharmacopée Européenne, 2004.** Addendum.4^e éd. Conseil de l'Europe.
- [122] **Hamadou. F., Touki. S., 2017.**Extraction, Caractérisation des huiles essentielles des épices : Girofle, Poivre Noir. Mémoire de master, Université Kasdi Merbah Ouargla, p 14.
- [123] **Vincent., M.C.1991.**L'aromatogramme, Encyclopédie de médecine naturelle Phytothérapie, aromathérapie. Paris, France.4(9), p 6.
- [124] **Aouni. M., Pelen. F., Soulimani. R., 2013.** Étude de l'activité antimicrobienne d'un mélange de 41 huiles essentielles et domaines d'application. Phytothérapie. 11(4). p.225-236.
- [125] **Pharmacopée Européenne. 2002.** Addendum 4. 2-4^e éd. Conseil de l'Europe.
- [126] **Ponce. A. G., Fritz. R., Del Valle. C., Roura. S. I., 2003.** Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic swiss Chard, LWT- Food Science and technology, v36. p 679-684.
- [127] **Aurelio-Lopez-Malo., Palou. E., et al. 2015.** Antifungal activity of essential oils of clove (*Syzygium aromaticum*) and/or mustard (*Brassica nigra*) in vapor phase against grey mold (*Botrytis cinerea*) in strawberries, Innovative Food Science and Emerging Technologies, p 1- 27.

- [128] **Yeddes. W., Mejri. I., et al. 2020.** Combined effect of essential oils from Clove (*Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & L.M. Perry), Thyme (*Thymus vulgaris* L.) and Lemon peel (*Citrus limon* (L.) Osbeck) on anti-bacterial, cytotoxic and anti-inflammatory activities. *Trends Phytochem. Res.* 6(1). p 11- 18.
- [129] **Băicuș. A., Mattuzzi. F.C., Paraschiv. A.M., Dinu. R.S., et al. 2022.** Antibacterial Activity of Clove, Oregano, Thyme, Eucalyptus, and Tea Tree Essential Oils against *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* strains. *Rev. Rom. Med. Lab.*v30. p 327–338.
- [130] **Hassan. A.H., Ibrahim. S. A., et al. 2014.** Antibacterial activities of *Cibbamon zelanicum* *Syzygium aromaticum* essential oil, *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, v 6. p 165- 168.
- [131] **Sameer. S., Faujdar., et al. 2020.** Antibacterial activity of *Syzygium aromaticum* (clove) against uropathogens producing ESBL, MBL, and AmpC beta-lactamase: Are we close to getting a new antibacterial agent. *Journal of Family Medicine and Primary Care.* v9. p 180- 186.
- [132] **Sharmeen. R., Hossain. Md.N., et al. 2012.** In-vitro antibacterial activity of herbal aqueous extract against multi-drug resistant *Klebsiella sp.* isolated from human clinical samples. *International Current Pharmaceutical Journal*, 1(6). p 133-137.
- [133] **Dhara. L., Tripathi. A., 2013.** Antimicrobial activity of eugenol and cinnamaldehyde against extended spectrum beta lactamase producing *Enterobacteriaceae* by in vitro and molecular docking analysis. *European Journal of Integrative Medicine* v5. p 527-536.
- [134] **Valero. M., Giner. M.J., 2006.** Effects of antimicrobial components of essential oil on growth of *Bacillus cereus* INRA L2104 in and the sensory qualities of carrot broth, *International journal of food Microbiology*, v106. p 90-94.
- [135] **Gill.A.O., Holley.R. A., 2006.** Disruption of *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* and *Lactobacillus sakei* cellular membranes by plant oil aromatics. *International Journal of food* v108.p 1-9.
- [136] **Brut. S.A., 2007.** Antibacterial activity of essential oils: potential applications in food, *International Journal of food*, v94. p 223-253.
- [137] **Smith. A., Palmer., et al. 1998.** Antimicrobial properties of plant essential oils and essences against five important food-borne pathogens. *Letters in Applied Microbiology*, v26. p118-122.

[138] Oussalah. M., Caillet. S., et al. 2007. Inhibitory effects of selected plant essential oils on the growth of four pathogenic bacteria : *E. coli* O157:H7, *Salmonella Typhimurium*, *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes*. Food control, v18. p 414-420.

[139] Brut. S.A., 2004. Essential oil: their antibacterial properties and potential applications in food – a review, International Journal of food Microbiology, v94. p 223-253 .

Web bibliographiques

[Web1] Benjamin, 8 janvier 2019, Le girofle pour la peau : Une utilisation atypique de l'épice d'une incroyable efficacité ! Disponible : <https://ileauxepices.com/blog/2019/01/08/comment-utiliser-les-clous-de-girofle-pour-assainir-la-peau/wp/17891/>

[Web2] https://www.larousse.fr/encyclopedie/images/Bact%C3%A9rie_Escherichia_Coli/1311737

[Web 3] <https://images.app.goo.gl/9U6UnAykULJW5mBe7>

[Web 4] <https://images.app.goo.gl/b3YdB5kPMKMBptCq6>

[Web 5] <https://sciencephotogallery.com/featured/proteus-mirabilis-bacterium-kateryna-konscience-photo-library.html?product=poster>

[Web 6] <https://images.app.goo.gl/ArzRSeKEchY7aBAr9>

Syzygium aromaticum (le clou de girofle) est une plante médicinale utilisée depuis des siècles pour ses propriétés thérapeutiques. Notre travail porte sur caractérisation de quelques paramètres physico-chimiques de l'huile essentielle extraite d'une part, et la recherche de son activité antibactérienne d'autre part.

L'extraction de l'huile essentielle des boutons floraux de *Syzygium aromaticum* par hydrodistillation a donné un rendement meilleur de 1.9%.

Les souches bactériennes incriminées dans les infections urinaires se sont montrées très sensibles à l'huile brute testée, avec des diamètres moyens des zones d'inhibitions variant de [11mm à 36mm], ce qui permet de qualifier d'excellente l'activité de notre huile sur les souches considérées.

Mots clés : *Syzygium aromaticum*, Extraction, Huile essentielle, Activités antibactérienne, Infections urinaires

Syzygium aromaticum (clove) is a medicinal plant used for centuries for its therapeutic properties. Our work focuses on the characterisation of some physico-chemical parameters of the extracted essential oil on the one hand, and the research of its antibacterial activity on the other hand.

The extraction of the essential oil from the flower buds of *Syzygium aromaticum* by hydrodistillation gave a better yield of 1.9%.

The bacterial strains incriminated in urinary tract infections were very sensitive to the tested crude oil, with average diameters of the inhibition zones varying from [11mm to 36mm], which makes it possible to qualify the activity of our oil on the considered strains as excellent.

Key words: *Syzygium aromaticum*, Extraction, Essential oil, Antibacterial activity, Urinary tract infections.

Syzygium aromaticum (القرنفل) هو نبات طبي تم استخدامه لعدة قرون لخصائصه العلاجية. يركز عملنا على توصيف بعض المعايير الفيزيائية والكيميائية للزيت العطري المستخرج من جهة، والبحث عن نشاطه المضاد للبكتيريا من جهة أخرى.

أعطى استخلاص الزيت العطري من براعم زهرة *Syzygium aromaticum* بالتقطير المائي أفضل عائد 1.9%. أظهرت السلالات البكتيرية المتورطة في التهابات المسالك البولية أنها حساسة جدًا للزيت الخام الذي تم اختباره، حيث يتراوح متوسط أطوار التثبيط من [11 مم إلى 36 مم]، مما يجعل من الممكن تأهيل نشاط زيتنا على السلالات المعنية.

الكلمات المفتاحية: استخراج، زيت عطري، أنشطة مضادة للبكتيريا، التهابات المسالك البولية، *Syzygium aromaticum*.